



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

“Informe de Trabajo Final presentado para optar al
Grado de Médico Veterinario”

Modalidad: Monografía

**ACIDOSIS RUMINAL EN SISTEMAS DE ALTA
PRODUCCIÓN: PRODUCCIÓN BOVINA DE LECHE**

Alumna: Pagliaricci, María Agustina
DNI: 36426291

Director: Orias, Fernando, Med. Vet. Ph. D.

Río Cuarto - Córdoba
Octubre - 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**Título: ACIDOSIS RUMINAL EN SISTEMAS DE
ALTA PRODUCCIÓN: PRODUCCIÓN BOVINA DE
LECHE**

Autor: Pagliaricci, María Agustina

DNI: 36426291

Director: Orias, Fernando, Med. Vet. Ph. D.

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la
Comisión Evaluadora:

Fecha de Presentación: ____/____/____.

Secretario Académico

AGRADECIMIENTOS

-Agradezco infinitamente a mi familia por su amor eterno, a mis padres Héctor y Raquel que me apoyaron, acompañaron y brindaron toda su experiencia para que yo pudiera realizar este trabajo. A mis hermanos Darío y Clara que siempre estuvieron, aún en la distancia, por sus consejos y por ayudarme a vencer mis miedos. A mi cuñada, Verónica por escucharme, darme fuerzas y palabras de aliento. Gracias por educarme como persona y nunca dejar que me rinda.

-A las amigas que me regalo la universidad, Daniela, Paula, Florencia, Carolina y Verónica por los largos días de estudio, las risas, los mates, las charlas y las salidas. A todos aquellos amigos que me dio la vida y transitaron el camino conmigo.

-Agradecerle a la Universidad Nacional de Río Cuarto por ser el espacio que me permitió crecer y conocer gente excelente. Me siento privilegiada por haber podido estudiar en una universidad pública.

-A los docentes, no docentes, graduados y a mis compañeros de carrera, por desafiarme, contenerme y formarme como profesional y persona.

-Agradecerle a las asignaturas de Patología General y Producción Bovina de Leche, por darme el lugar para descubrir mi veta docente y de investigación y conectarme con mi profesión desde otro lugar.

-A mi director, Fernando, por hacerse tiempo para acompañarme en el final de este largo recorrido. A José y Nicolás por sus aportes y consejos.

-A Dios, por la fortaleza, guiarme en cada paso y darme fe en los momentos difíciles.

INDICE

RESUMEN.....	IV
ABSTRACT	V
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	4
MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
RESULTADOS.....	6
1 CICLO PRODUCTIVO DE LA VACA LECHERA Y SU PERIODO CRITICO	6
1.1 Fase 1: periodo de seca.....	9
1.2 Fase 2: periodo de transición.....	9
1.3 Fase 3: periodo de vaca recién parida.....	10
1.4 Fase 4: Periodo de máxima producción de leche.....	11
2 FISIOLÓGÍA DIGESTIVA DE LOS RUMIANTES	13
2.1 Medio Retículo-Rumen	13
2.2. Bacterias ruminales.....	14
2.3 Protozoarios ruminales	16
2.4 Hongos.....	18
3 CARBOHIDRATOS Y SU METABOLISMO RUMINAL	19
3.1 Caracterización de los principales hidratos de carbono.....	19
3.2 Fermentación de carbohidratos en los rumiantes	24
4 ACIDOSIS RUMINAL.....	33
4.1 Acidosis Ruminal Aguda.....	33
4.2 Acidosis Ruminal Sub Aguda (SARA).....	34
5 FACTORES QUE AFECTAN EL PH RUMINAL	37
5.1 Tipo y cantidad de hidratos de carbono consumidos	37
5.2. Periodo de lactancia y Frecuencia de alimentación diaria.....	39
5.3 Tamaño de partícula y fibra efectiva.....	42
5.4 Regulación del pH ruminal.....	43
5.5 Absorción de los AGV del ambiente ruminal.....	44
5.6 Producción de lactato.....	46
5.7 Mecanismos fisiológicos para regular el pH ruminal. Sistema buffers endógenos.....	47
5.8 Atonía Ruminal.....	47
6 MÉTODOS PARA DIAGNOSTICAR SARA	49
6.1 Diagnóstico	49
6.2 Secuelas ocasionadas por episodios de SARA.....	52
7 PAUTAS Y MANEJO NUTRICIONAL PARA PREVENIR ACIDOSIS RUMINAL SUB AGUDA	56
7.1. Inadecuada capacidad buffer del rumen	56
7.2. Rol de los CNE en la fermentación ruminal.	61
7.3. Inadecuada adaptación ruminal a la inclusión de mayor cantidad de carbohidratos altamente fermentables en la dieta.....	65
7.4. Uso de aditivos para la prevención de la acidosis ruminal subaguda	67
CONCLUSIONES	70
BIBIOGRAFIA.....	72

INDICIE DE FIGURAS

FIG. 1 CURVAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE CONSUMO DE MATERIA SECA, Y VARIACIÓN DE PESO VIVO EN LAS DISTINTAS FASES DE LA LACTANCIA.	7
FIG. 2 VARIACIÓN DEL CONSUMO VOLUNTARIO (CV) EN RELACIÓN AL PARTO.	10
FIG. 3 GRUPOS DE RIESGO DE ACIDOSIS CLÍNICA / SUBCLÍNICA.....	12
FIG. 4 PRINCIPALES MONOSACÁRIDOS DE LAS PLANTAS. (FAHEY Y BERGER, 1993).....	19
FIG. 5 PRINCIPALES OLIGOSACÁRIDOS DE LAS PLANTAS Y LACTOSA (FAHEY Y BERGER, 1993).	20
FIG. 6 ESTRUCTURA 3D DE UN GRÁNULO DE ALMIDÓN (BLANCO, 2013).....	21
FIG. 7 IMAGEN 3D DE LA ESTRUCTURA DE CELULOSA (BLANCO, 2013).	22
FIG. 8 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ESTRUCTURA DE HEMICELULOSA.....	22
FIG. 9 ESTRUCTURA 3D DE LA ASOCIACIÓN ENTRE CELULOSA Y HEMICELULOSA (BLANCO, 2013).....	23
FIG. 10 ASOCIACIÓN DE LIGNINA CON OTRAS ESTRUCTURAS DE LA PARED CELULAR.	23
FIG. 11 PRINCIPALES POLISACÁRIDOS DE LAS PLANTAS (FAHEY Y BERGER, 1993).....	24
FIG. 12 CARBOHIDRATOS DE LA DIETA, FDN FIBRA DETERGENTE NEUTRA Y CNE CARBOHIDRATOS NO ESTRUCTURALES.	25
FIG. 13 RELACIÓN DEL pH DEL RUMEN CON LAS PROPORCIONES RUMINALES DE LOS ÁCIDOS ACÉTICO, PROPIÓNICO Y LÁCTICO. SEGÚN KAUFMANN ET AL. (1980).....	26
FIG. 14 ESQUEMA DE LA DIGESTIÓN Y FERMENTACIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO EN EL RUMEN.	28
FIG. 15 SÍNTESIS DEL PROPIÓNICO EN EL RUMEN.	29
FIG. 16 SÍNTESIS DEL ACETATO EN EL RUMEN.	30
FIG. 17 SÍNTESIS DE BUTIRATO EN EL RUMEN.	31
FIG. 18 EFECTOS DEL CONSUMO DE MATERIAL SECA SOBRE EL pH RUMINAL EN LA LACTANCIA TEMPRANA DE VACAS HOLSTEIN (OETZEL, 1997).	38
FIG. 19 RELACIÓN ENTRE BAJOS pH RUMINALES Y DÍAS EN LACTANCIA.....	39
FIG. 20 VARIACIÓN DEL pH RUMINAL POST INGESTA EN UN PERIODO DE 24HS. KRAUSE Y COMBS (2003)	40
FIG. 21 VARIACIÓN DEL pH RUMINAL POST INGESTA, EN VACAS EN LACTANCIA TEMPRANA ALIMENTADAS DOS VECES AL DÍA (LÍNEA PUNTEADA) Y SEIS VECES AL DÍA (LÍNEA SOLIDA). OETZEL Y NORDLUND (1998).....	41
FIG. 22 MECANISMOS DE ABSORCIÓN DE AGV EN RUMEN (RELLING Y MATTIOLI, 2002).....	45
FIG. 23 RELACIÓN ENTRE EL pH RUMINAL Y LA CONCENTRACIÓN DE GRASA EN LECHE (MERTENS, 1997).....	50
FIG. 24 PARED RUMINAL E HÍGADO DE UNA VACA NORMAL Y OTRA CON PARAQUERATOSIS CONSECUENCIA DE UN CUADRO DE ACIDOSIS	54
FIG. 25 RELACIÓN FORRAJE: CONCENTRADO EN DIETAS TÍPICAS DE VACAS LECHERAS EN LACTANCIA TEMPRANA.	63
FIG. 26 RIESGO DE BAJO pH RUMINAL (<5.5) POR DÍAS EN LACTANCIA (DEL) Y POR NÚMERO LACTANCIA (OETZEL ET AL., SIN PUBLICAR).	65

INDICE DE TABLAS

TABLA 1 PRODUCTOS DE LA FERMENTACIÓN DE UN MOL DE GLUCOSA EN EL RUMEN.	32
TABLA 2 COMPARACIÓN DE DIETAS Y pH RUMINAL EN NOVILLOS DE FEEDLOTS Y VACAS EN LACTANCIA.	37
TABLA 3 EFECTO DEL NIVEL DE CONCENTRADO DE LAS DIETAS SOBRE EL CONSUMO pH MEDIO Y pH MÍNIMO EN VACAS HOLSTEIN.	44
TABLA 4 RECOMENDACIONES PARA EL TAMAÑO DE PARTÍCULA DE FORRAJE Y TMR	58

RESUMEN

En la producción lechera argentina, los precios relativos entre el grano y la leche, junto con la intensificación de la producción, permitieron la obtención de una mayor cantidad de leche por vaca y por establecimiento, pero con la aparición de problemas metabólicos, entre ellos, la acidosis ruminal, definida como un período de moderada depresión del pH en el rumen (5-5.5), presentación poblacional y ocasionada por la ingestión de carbohidratos y acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV). Se planteó estudiar y analizar información sobre esta enfermedad, identificar factores de riesgo, describir la patogenia de la misma y evaluar las normas de manejo para disminuir su incidencia.

Para cumplir con estos objetivos se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica, que permitiera elaborar un documento que analizara y profundizara su origen, causas y herramientas tecnológicas disponibles para minimizar su incidencia. Las vacas lecheras presentan mayores riesgos de desarrollar Acidosis Ruminal Sub Aguda (SARA) durante el período de transición y en la lactancia temprana, siendo los factores predisponentes la formulación de la dieta, la adaptación de la flora ruminal a la dieta de alta producción y el suministro de la misma. Para ello, es imprescindible describir y comprender su fisiología digestiva e identificar los carbohidratos de la dieta y su metabolismo.

El pH ruminal es el indicador más importante de diagnóstico de SARA. Depende del tipo y cantidad de carbohidratos consumidos, etapa de la lactancia, fibra físicamente efectiva en la dieta, buffer endógenos, absorción de ácidos grasos volátiles, capacidad de regulación del pH, producción de lactatos y motilidad ruminal.

El diagnóstico de SARA es complejo, sus secuelas, depresión de consumo, laminitis e hígado graso son signos que se detectan a largo plazo y constituyen las causas de rechazo. Una vez identificados los grupos de riesgo se requiere ajustar las dietas en función de los carbohidratos no estructurales y la fibra, evaluar el uso de aditivos como buffer exógenos alcalinizantes y probióticos, promover la adaptación del rumen al consumo de carbohidratos altamente fermentables y generar estrategias de alimentación para evitar la selección favoreciendo el consumo.

ABSTRACT

In Argentina, the relative prices of grain and milk, along with the intensification of milk production, allowed the achieving of a greater quantity of milk per cow and establishment, but with the appearance of metabolic problems, among them rumen acidosis, which is defined as a period of moderate pH depression in the rumen (5-5.5), population appearance and is caused by the accumulation of volatile fatty acids (VFA). A study and analysis of the information on the disease was proposed, in order to identify risk factors, describe the pathogenesis of the disease and evaluate the managing procedures so as to reduce its incidence.

Bearing in mind the accomplishment of those objectives, a comprehensive bibliographical review was carried out, getting as a result the elaboration of a document that analyzes and expands into the origin, causes and technological tools available to minimize the incidence of rumen acidosis. Dairy cows are at higher risk of developing Subacute Ruminal Acidosis (SARA) during the transition period and in early lactation, with inclining factors: diet formulation, adaptation of the rumen flora to a high production diet and its supply. For that, it is essential to describe and understand their digestive physiology and to identify the carbohydrates of the diet and its metabolism.

Ruminal pH is the most important indicator of SARA. It depends on the type and quantity of carbohydrates consumed, stage of lactation, physically effective fiber in the diet, endogenous buffer, absorption of volatile fatty acids (VFA), ability to regulate pH, lactates production, and ruminal motility.

The diagnosis of SARA is complex, its consequences, consumption reduction, laminitis and fatty liver are signs that are detected in the long term and constitute the causes of rejection. Once the risk groups are identified it is necessary to adjust the diets based on non-structural carbohydrates and fiber, evaluate the use of additives such as exogenous buffer alkalizing and probiotics, promote the adaptation of the rumen to the consumption of highly fermentable carbohydrates and to generate strategies to avoid selection and thus favoring intake.

INTRODUCCION

A nivel mundial, la producción de leche fue de 583 millones de toneladas en el período 1999 – 2009, creciendo a una tasa del 2% anual. Por otro lado, el rodeo vacuno lechero tuvo una tasa de crecimiento anual promedio del 0,7, registrándose un total de 253 millones de cabezas (FAO, 2009). Estos datos explican que la producción de leche se incrementó por un aumento de la productividad por vaca (Sanchez et al., 2012). En la década de los noventa, la producción de leche en Argentina tuvo un comportamiento similar al descrito, con tasas de crecimiento promedio del 5 % anual (Castellanos et al., 2009), alcanzando 10,3 millones de litros en 1999 (Gutman et al., 2003).

Las reformas estructurales de los noventa implicaron la apertura de la economía, así como también procesos de privatización de empresas nacionales y desregulación comercial. En este contexto se facilitó la industrialización de los productos agropecuarios, generando una mayor concentración y extranjerización en el complejo lácteo (y en la industria alimentaria). Los cambios tecnológicos ocurridos a través de la mecanización del ordeño, nuevas técnicas de conservación de forrajes, mejora genética del rodeo, cría artificial, uso de pastoreo rotativo, entre otros, facilitaron a su vez este proceso. De este modo, la presencia de una marcada diferenciación entre productores se incrementa cada vez más, y es caracterizada por los volúmenes producidos, el tamaño de las explotaciones, las estrategias productivas, los niveles de endeudamiento y los niveles de productividad (Beltrame, 2010).

La última etapa de reestructuración del complejo lácteo argentino se inicia en el 2001, donde la profunda crisis política y económica generó nuevos cambios y transformaciones dentro de la lechería (Beltrame, 2010). Las modificaciones macroeconómicas y regulatorias (restricción crediticia, fin de la convertibilidad y posterior devaluación de la moneda, incertidumbre financiera, conclusión de contratos, etc.) que siguieron a la crisis, contribuyeron con la tendencia decreciente en la producción lechera que había comenzado a finales de 1999, con la contracción del mercado interno y externo, ocasionando fuertes caídas en la producción, expulsión de productores y un incremento de las tensiones intersectoriales (Gutman et al., 2003).

Para el año 2004, los precios relativos entre el grano y la leche se establecieron en un nivel más competitivo, esto significó que no necesariamente era más rentable invertir en soja en vez de lechería. En efecto, gran cantidad de establecimientos que sobrevivieron tras la crisis lograron revertir la desvalorización global de su producción obteniendo más cantidad de leche por vaca y por tambo. Consiguientemente, ya para el año 2005 la

producción de leche se incrementó aún más. El año record en relación a exportaciones fue el 2006, momento en el cual se alcanzaron records históricos para las exportaciones de lácteos argentinos. Sin embargo, esta situación encontraría un nuevo freno en los años posteriores como consecuencia de las retenciones a las exportaciones y el incremento de los costos de los insumos, como también por las condiciones climáticas que afectaron la producción (Isasi et al., 2006).

La cantidad de leche producida por vaca es el resultado de una serie de acciones combinadas donde las variaciones de producción responden a razones genéticas, manejo reproductivo, sanidad, confort animal y principalmente a la nutrición y tipo de dieta (Mde y Tyrrell, 1975).

Los requerimientos energéticos y proteicos de una vaca lechera, según el NRC 2001, dependen de las necesidades de mantenimiento, estado reproductivo, crecimiento, producción de leche y cantidad de energía de la misma. La selección se concentró en la elección de animales que superaran la media poblacional en producción de litros de leche, determinando que establecimientos que tenían vacas Holstein de 700kg que producían en promedio 18 kg de leche diarios y un consumo de 2.60% del peso vivo, actualmente se encuentran con el desafío de alimentar hatos que producen 30 kg de leche y consumen 3.5% de su peso vivo (NRC 2001).

Dentro del sistema agroalimentario Argentino, la producción de leche y la cadena láctea se han caracterizado por la diversidad productiva, tecnológica y de mercado. En las últimas décadas se han producido cambios profundos, con el objetivo de eficientizar la actividad económica y mejorar la rentabilidad, mediante la utilización de diversas herramientas tecnológicas y de manejo que provocaron un aumento tanto de las producciones individuales, como la cantidad de litros de leche por unidad de superficie (Gutman et al., 2003).

Para lograr incrementos en la producción de leche, el nutriente limitante además del agua es la energía, por lo que la alimentación base pastoril debió evolucionar a dietas con aporte de concentrados energéticos (Bath et al., 1978). La intensificación de los sistemas de producción de leche trajo aparejado problemas metabólicos, llamados enfermedades de la producción. Este complejo engloba hipocalcemia periparturienta, hígado graso, cetosis, laminitis y acidosis ruminal (Corbellini et al., 2007), siendo ésta última en particular, la que se abordará en el siguiente trabajo.

Garry y McConnell (2010) definen acidosis ruminal como una disfunción ruminal causada por el consumo excesivo de hidratos de carbono altamente fermentecibles, sin el apropiado acostumbramiento del ambiente ruminal. Esto provoca una caída del pH ruminal, que lleva a muerte bacteriana con liberación de endotoxinas. Esta situación puede provocar desde cuadros leves subagudos hasta cuadros clínicos agudos que podrían llevar a la muerte

del animal. Por lo que, las ganancias a corto plazo en la producción de leche a partir de la alimentación de dietas altas en granos son a menudo parcial o completamente contrarrestadas por los compromisos a largo plazo en la salud de la vaca (Krause y Oetzel, 2006).

Vacas que no han sido adaptadas a dietas con gran cantidad de granos son particularmente susceptibles a desarrollar la forma aguda de acidosis ruminal (Radostits et al, 1994). Probablemente por un escaso desarrollo de poblaciones bacterianas viables que utilicen ácido láctico (flora lactolítica) y la presencia de papilas ruminales cortas, que no son capaces de absorber la gran producción de ácidos grasos volátiles (AGV) (Dirksen et al., 1985). Otras situaciones en las que se puede desencadenar un cuadro de acidosis ruminal aguda es la reintroducción de dietas ricas en concentrados a vacas adaptadas pero después de periodos de privación de alimento (Garry, 2002; Radostits et al, 1994). Investigaciones realizadas por Owens et al. (1998) demostraron que es posible inducir acidosis ruminal aguda, privando de alimento a los animales por 12-24 horas y luego dándoles acceso libre a la misma dieta que venían consumiendo antes de la privación.

Estos cuadros son frecuentes en rodeos lecheros, en los cuales se podrían identificar como poblaciones de riesgos dos grupos. Primero, aquellas vacas lecheras recién paridas (entre 3 y 20 días en lactancia) debido a los factores relacionados al periparto. El segundo, aquellos individuos entre los 40 y 120 días de lactancia. Estas susceptibilidades están relacionadas principalmente con la ración y el suministro de las dietas que se utilizan en estos animales para que alcancen su pico de producción (Hutjens, 1999).

El compromiso en la vaca lechera por acidosis ruminal no se limita solamente a consecuencias económicas, sino que también afecta el bienestar de los animales, asociados a problemas pódales, conjuntamente con fallas reproductivas y baja producción láctea, representan las principales razones de rechazo por parte de los productores (Oetzel, 2007).

El eje del siguiente trabajo es la patología antes mencionada, acidosis ruminal, específicamente orientada a identificar y caracterizar los agentes actuantes en la misma, así como los factores que llevan a su desarrollo. A su vez dentro de la acidosis ruminal se hará hincapié en describir el cuadro subagudo, el cual representa mayor riesgo debido a su extensión poblacional, a diferencia del cuadro agudo que suele ser individual y afecta una porción menor del rodeo. El trabajo contará a su vez con la revisión de las técnicas de diagnóstico disponibles encontradas en la bibliografía consultada.

Como ya se ha mencionado, las consecuencias económicas, de bienestar animal y de sobrevivencia de los animales justifican la aplicación de diversas estrategias de manejo con el fin de reducir, prevenir o evitar el desarrollo de la patología. Dichas medidas de manejo serán evaluadas en este trabajo con el fin de valorizar su alcance y aplicación.

Objetivos

Estudiar y analizar la información sobre la acidosis ruminal en el ganado lechero.

Identificar los factores de riesgos que lleven a un bovino de leche a desarrollar los cuadros agudos y sub agudos de acidosis ruminal.

Describir la patogenia de la enfermedad en los individuos y discutir las posibles secuelas ocasionadas por el proceso mórbido y el impacto en la productividad futura de los animales afectados.

Evaluar las medidas de manejo para disminuir la incidencia de esta enfermedad en los rodeos lecheros.

MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología utilizada se ajustó a las normativas establecidas por la Facultad para la elaboración del informe final del Trabajo Final de Grado, modalidad Monografía, correspondiente a la carrera Medicina Veterinaria, apartado B.2.b y considerando los objetivos planteados en el presente trabajo. En la etapa de presentación y evaluación del proyecto de trabajo final de grado (TFG) se definió y delimitó con la mayor claridad posible el tema (problema), para lo cual se realizó una primera selección del material bibliográfico utilizada para la elaboración el mismo. Luego de su aprobación, se inició una exhaustiva búsqueda de bibliografía que permitiera la complementación, profundización y estructuración definitiva del TFG. Estas actividades se realizaron con la orientación y el asesoramiento permanente del profesor director del trabajo. Se respetó la antigüedad de la bibliografía utilizada de acuerdo a la normativa, sin embargo, se recurrió al uso de bibliografía con mayor antigüedad en casos muy puntuales vinculados a conceptos básicos de la nutrición animal, vigentes e imprescindibles en la adecuación del plano alimenticio de cualquier sistema de producción animal de altos requerimientos nutricionales. En general son capítulos de libros tradicionales cuyos autores poseen formación académico-científico, con una vasta y brillante trayectoria en el tema en la que se destaca la publicación de artículos en las más prestigiosas revistas a nivel internacional. Con relación al tema particular objeto del trabajo la bibliografía utilizada es de actualidad y respeta lo normado.

En cuanto a las revistas científicas consultadas se destaca el Journal of Dairy Science, representando un 25% del total de la bibliografía, con menor participación Food Animal Practice; Feed Science and Technology; Veterinary Journal; Animal Feed Science and Technology; FAO; Journal of Animal Science; National Research Council; American Association of Bovine Practitioners 40ª Conferencia anual; Trabajos de investigación y difusión científica del INTA, Cursos de posgrado en UUNN (UNRC y UNER); tesis doctoral Veterinaria UNAM México.

Los libros y capítulos de los mismos que se utilizaron para el trabajo son publicados por editoriales reconocidas: Wageningen Academic Publishers; McGraw Hill Interamericana; Garnqothy, Butterworths England; Elsevier Mosby; Chapman y Hall, Londres; O&B Books Oregon, USA; Astralib COP Buenos Aires, Argentina; W.B: Sanders Philadelphia; ACRIBIA España; EDULP La Plata, Argentina.

RESULTADOS

Los sistemas actuales en la Argentina sufren en mayor o menor medida trastornos metabólicos causados por el manejo de la alimentación, entre ellos la acidosis ruminal.

La comprensión, el análisis y la prevención de esta patología, requiere de la caracterización del ciclo productivo de la vaca lechera y los períodos críticos, comprender la fisiología digestiva de los rumiantes, caracterizar los carbohidratos y su metabolismo, factores que afectan el pH ruminal, definir las presentaciones de los distintos cuadros clínicos, diagnóstico, secuelas y manejo nutricional preventivo.

1 Ciclo productivo de la vaca lechera y su periodo crítico

La vaca lechera fue evolucionando a través del tiempo, tal es así, que antes una producción promedio se consideraba en 20kg de leche/vaca/día (NRC, 1989), mientras que hoy es común hablar de perfiles de producción de 30kg leche /vaca /día (NRC, 2001) o más. El desafío de la alimentación se fue complejizando, pero para comprender como produce un rodeo lechero, primero tenemos que entender que no son los valores promedios sino la variación de requerimientos a lo largo de la lactancia lo que nos marca la pauta de alimentación (Nocek 1995).

Los requerimientos energéticos, según el estado fisiológico, marcan las cantidades de energía neta de mantenimiento, de crecimiento, reproducción y lactancia, necesarias para cada momento en rumiantes. Para esto es importante conocer el ciclo productivo y los factores más importantes para la producción láctea.

El ciclo productivo o ciclo de gestación-lactancia de una vaca lechera puede ser dividido en: primer período de vaca seca (3-5 semanas), período preparatorio del parto (últimas 3 semanas de gestación), lactancia temprana (4 a 8 semanas en lactancia,) pico de lactancia (8 a 9 semanas), lactancia media (100-120 días) y final de lactancia (últimos 90-100 días). Cada uno ellos se caracterizan por diferentes cuadros hormonales e inmunológicos, distintos niveles de producción, capacidad de partición de nutrientes, capacidad de consumo (Nocek 1995).

Existen factores relacionados entre sí y claves para comprender las variaciones de requerimientos energéticos y proteicos, como también permiten establecer seis fases dentro del ciclo. Dichos factores son el nivel de producción de leche, el nivel de consumo de materia seca (CMS) y la variación de peso vivo (PV) (Fig. 1) (Hutjens 2003).

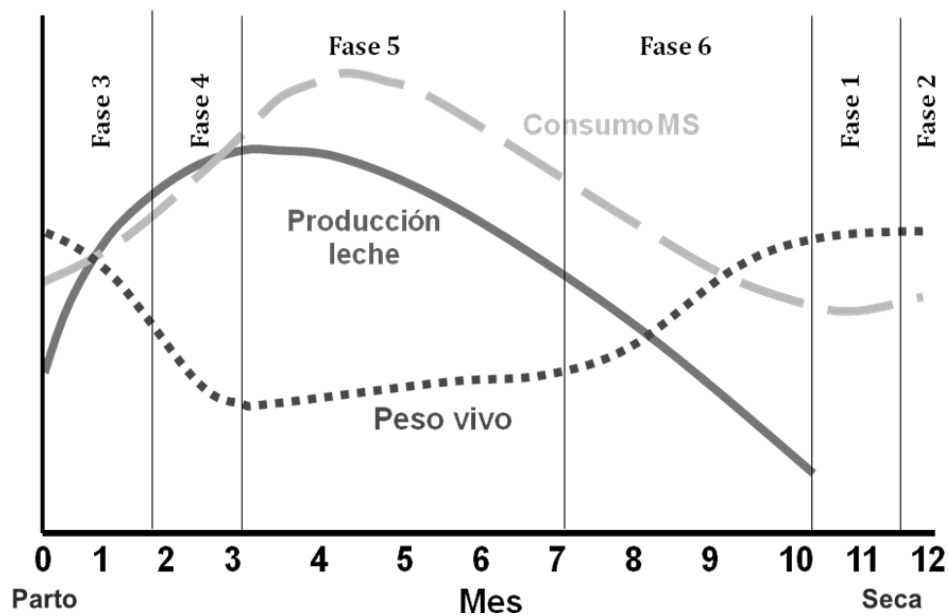


Fig. 1 Curvas de producción de leche, consumo de materia seca, y variación de peso vivo en las distintas fases de la lactancia.

El comienzo de la lactancia (Fig. 1) ocurre con el parto. La curva de lactancia representa la producción de leche a lo largo del ciclo productivo, el cual dura aproximadamente 305 días. La forma de esta curva depende del número y actividad de las células secretoras de la ubre. Desde un punto de vista productivo, la forma o comportamiento de la curva de lactancia es definida por la producción al inicio de la lactancia, la tasa de ascenso hasta el pico de lactancia y la tasa de descenso hasta el momento del secado (2 meses antes del parto) (Bretschneider et al., 2015).

El pico de lactancia es definido como el nivel más alto de producción de leche que una vaca alcanza dentro de los primeros 90 días después del parto existiendo una correlación positiva entre el pico y la subsecuente lactancia. Esto se traduce que por cada litro de leche incrementado en el pico, se logran aproximadamente 200 litros más en la lactancia. Inmediatamente luego del pico la producción de leche comienza a mermar hasta el final de la lactancia. La tasa de descenso en la secreción de leche a partir este evento se relaciona de forma inversa con el término persistencia. Mientras mayor sea la tasa de descenso menor será la persistencia en la lactancia y viceversa. Se puede definir a la persistencia de la curva de lactancia como la habilidad de la vaca para mantener niveles elevados de producción una vez ocurrido el pico (Bretschneider et al., 2015).

La producción de leche se encuentra influenciada por la edad o cantidad de lactancias, siendo la producción un 25% menos en la primera lactancia con respecto al resto de las lactancias (Hutjens 2003). El manejo nutricional (ej. Inadecuado balance en la dieta), el status sanitario (ej. mastitis, metritis, hipocalcemia) y/o el ambiente (ej. estrés térmico,

instalaciones inadecuadas, etc.) son otros factores que influyen la producción de los rodeos siendo el desbalance nutricional uno de los más relevantes (Bretschneider et al., 2015).

El comportamiento de la curva de producción de leche nos permite conocer la variación en los requerimientos de energía y proteína necesarios para las vacas en lactancia, teniendo esto en cuenta nos permite pautar el tipo y proporción de proteínas y fuentes energéticas de la dieta (Hutjens, 2003).

El consumo de materia seca (CMS) es fundamental para establecer la cantidad de nutrientes disponibles para la producción y salud animal (NRC, 2001). Son muchos los factores que afectan el consumo voluntario de MS. Algunas teorías individuales basadas en el llenado reticularuminal (Allen, 1996; Mertens, 1994), factores del feedback metabólico (Illius y Jessop, 1996; Mertens 1994), o el consumo de oxígeno (Ketelaars y Tolkamp, 1996) han sido propuestas para determinar y predecir el CMS voluntario. La regulación de CMS probablemente se encuentre regulada por el efecto aditivo de varios estímulos y no se explique por una sola teoría (Forbes, 1996). Además de la complejidad y la interacción de los factores físicos, metabólicos y quimiostáticos que regulan el CMS, la capacidad fisiológica y sensorial de las vacas debería considerarse como otro factor (Baumont, 1996).

Se ha debatido si la producción de leche es impulsada por la ingesta o la ingesta es impulsada por la producción de leche. Sobre la base de la teoría de la regulación de la ingesta de energía y otros (Baile y Forbes, 1974; Conrad et al., 1964; Mertens, 1987; NRC, 1989), las vacas parecen consumir alimentos para satisfacer las necesidades energéticas, por lo que la ingesta es impulsada por la producción de leche.

Los complejos estímulos y su falta de entendimiento hacen que la estimación precisa del CMS sea dificultosa. Actualmente la ecuación para estimar el consumo de materia seca incluye producción de leche corregida por grasa (4% grasa butirosa en kg/d), el peso metabólico ($PV^{0.75}$) (Rayburn y Fox, 1993) y una corrección por semanas en lactancia (Roseler et al., 1997). Lo que permite hacer predicciones con bastante exactitud las primeras 10 semanas, y luego el dato obtenido es ligeramente menor al real (NRC, 2001).

En el rodeo lechero, la producción de leche (gasto energético) generalmente alcanza su máximo entre 4 y 8 semanas después del parto, y el pico CMS (consumo de energía) se retrasa hasta 10 a 14 semanas después del parto (NRC, 1989).

Este aumento en la ingesta de energía en respuesta al gasto energético se ha demostrado claramente en numerosos estudios con somatotropina bovina, donde CMS sigue la producción de leche (Bauman, 1992; Etherton y Bauman, 1998).

La variación de peso vivo estará condicionada por el balance entre el nivel de ingestión de nutrientes y la demanda animal de los mismos, es decir informa sobre el estatus energético de las vacas. Es esperable en la lactancia temprana y alrededor del pico de lactancia una pérdida de 54,4kg a 90 kg donde no presentara grandes problemas reproductivos o

trastornos metabólicos siempre y cuando no superen los 0,90kg diarios de disminución de peso y la condición corporal (CC) previa al parto sea optima (3.5 CC) (Hutjens 2003).

Como consecuencia de que la energía que se excreta en leche supera la energía consumida, la vaca cursa con balance energético negativo los primeros 90 días en leche (DEL). Por lo tanto, para contrarrestar la deficiencia energética generada por la depresión del consumo que normalmente ocurre al comienzo de la lactancia, la vaca moviliza reservas corporales y por lo tanto pierde peso. Es importante remarcar que el balance energético negativo es un proceso inevitable aunque variable en magnitud según la calidad del manejo nutricional del rodeo, sobre todo durante el periodo de transición (desde los 21 días preparto a los 21 días post parto) y en los siguientes 70 DEL (Bretschneider et al., 2015).

Conociendo estas condiciones podemos entonces determinar los periodos de mayor riesgo de presentación de enfermedades de la producción. Generalmente las enfermedades metabólicas se relacionan con el periparto ya que los requerimientos energéticos y proteicos crecientes de la lactancia temprana, sumado a la depresión de consumo y los cambios bruscos en las dietas, colocan al animal en un estado de balance energético negativo, lo que quiere decir es que el consumo de nutrientes no llega a cubrir la demanda de los mismo. Para contrarrestar el bajo consumo que se presenta luego del parto la estrategia de manejo que se utiliza frecuentemente es la aplicación de dietas con mayor porcentaje de concentrados, pero cuando esta medida no es manejada de forma ordenada y con conocimientos puede aumentar el riesgo de desarrollar acidosis ruminal en estos rodeos.

1.1 Fase 1: periodo de seca

Empieza al momento del secado, 60 días previos al parto, y termina 21 días previos al mismo. Se puede denominar periodo de secado tradicional. Es la fase donde las vacas presentan menores requerimientos nutricionales pero su manejo y éxito de la alimentación determinaran la tendencia de la curva de lactancia siguiente. En este período ocurre además el final de gestación, la involución de la glándula mamaria y el comienzo del crecimiento exponencial del feto (Hutjens, 2003).

1.2 Fase 2: periodo de transición

Se desarrolla 21 días previos al parto. Es un periodo crucial para la adaptación ruminal previa a la lactancia y permite realizar medidas preventivas para desordenes metabólicos, las vacas lecheras se encuentran especialmente vulnerables a presentar diversos trastornos alrededor del parto. Por lo que se recomienda la inclusión progresiva de hidratos de carbono no estructurales en las semanas previas al parto, de esta forma se cambia la

composición de la flora ruminal, de una población de digestión pura de forraje a una población bacteriana mixta que digiere forraje y granos (Hutjens, 2003). A su vez se elongan las papilas y aumenta la superficie de absorción de AGV. Por otro lado, el consumo de materia seca se deprime los días antes del parto siendo mínima el día del parto, donde se observan valores por debajo del 15 a 30% con respecto al consumo en la fase de seca tradicional (Fig. 2) (Hutjens, 2003). En la Fig. 2, se puede observar como el consumo se deprime a medida que se acerca la fecha de parto y la tendencia de recuperación es lenta y lleva semanas en alcanzar el valor máximo. Si el consumo o composición de la dieta es deficiente en nutrientes puede verse al comienzo una gran pérdida de peso lo que aumenta el riesgo de desarrollar cetosis e incluso hígado graso en la siguiente fase (Hutjens, 2003).

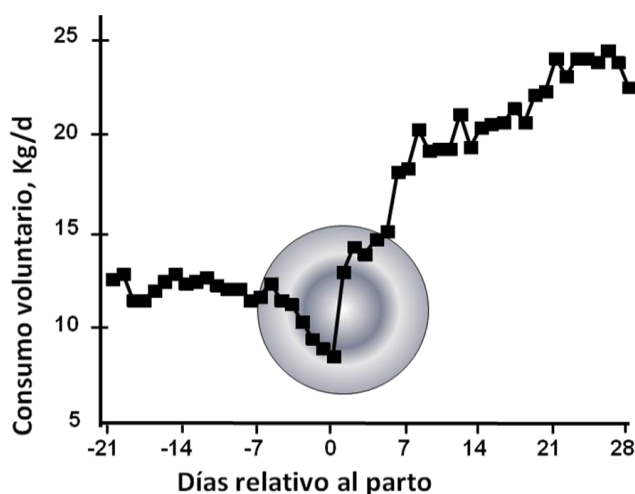


Fig. 2 Variación del consumo voluntario (CV) en relación al parto.

1.3 Fase 3: periodo de vaca recién parida

Una vez ocurrido el parto se inicia la fase 3 que concluye a los 30 a 45 días en lactancia. Esta etapa se caracteriza por un bajo consumo que no llega a cubrir las necesidades energéticas ni proteicas. En comienzo, la producción de leche presenta una tasa de ascenso, esto se debe al crecimiento alométrico de las células epitelioalveolares que comenzó en el periodo de transición y se extiende hasta el primer mes en lactancia, estas células son estimuladas por hormonas como Prolactina y Hormona de crecimiento, entre otras, que estimula la mitosis y producción de los componentes de la leche, favoreciendo a su vez la llegada de nutrientes que se trasportan por flujo sanguíneo desde el hígado, principalmente, a la glándula mamaria (Hutjens, 2003).

Reproductivamente, el puerperio que involucra la expulsión de placenta, involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica, llevan a las vacas a prepararse para una próxima gestación. Estos procesos llevan una gran demanda energética y sumado a la producción de

leche el balance energético se encuentra negativo (se gasta más energía de la que se ingiere) (Hutjens, 2003).

La demanda energética no satisfecha por parte de la vaca debido a los requerimientos energéticos y el consumo deprimido, desencadena un proceso de catabolismo en los tejidos, que podría explicar la pérdida de peso. Para contrarrestar esto las dietas de lactancia temprana suelen contener mayor proporción de granos pero cuando esta fuente de carbohidratos no estructurales (CNE) representa un porcentaje de MS mayor al 60% puede causar acidosis o disminuir el porcentaje de grasa en la leche (NRC, 2001). Para evitar esto el nivel de fibra en la ración no debería ser menos del 18% de la fibra detergente ácida (FDA) y 28% de la fibra detergente neutra (FDN) (NRC, 2001). El forraje debe proporcionar por lo menos 21% de unidades de FDN o alrededor del 75% del total de FDN en la ración. La forma física de la fibra también es importante. La digestión y rumia normal se mantendrán si el 20% del largo del forraje es de por lo menos 5cm de largo (Hutjens 2003).

Es importante vigilar la ingestión de alimentos, temperatura corporal, la motilidad ruminal, las descargas uterinas y realizar análisis de cetonas en orina o leche para evaluar el status energético (Hutjens, 2003) ya que en esta etapa se producen 80% de las enfermedades de la producción, como acidosis ruminal, metritis, mastitis, laminitis, cetosis y hipocalcemia periparturienta, entre otros (Corbellini, 2007).

El hecho de desarrollar trastornos metabólicos o enfermedades infecciosas pone en riesgo el comienzo y continuidad de una lactancia exitosa. Adicionalmente, las dietas post-parto suelen estar basadas en grandes cantidades de carbohidratos como el almidón y en valores mínimos de fibra efectiva. Los cambios fisiológicos bruscos y de requerimientos, dejan poco margen para una correcta adaptación de la flora ruminal contra los cambios significativos en la cantidad y tipo de carbohidratos fermentables (McGuffey, 2015). Por esto, las raciones de vacas recién paridas suelen ser intermedias entre la ración de vacas en transición y la ración de las de alta producción (Hutjens 2003).

1.4 Fase 4: Periodo de máxima producción de leche

La fase 4 ocurre aproximadamente entre los 45 a 90 días en lactancia, donde las vacas se encuentran produciendo leche a su máximo potencial (hasta llegar al pico de lactancia) y consumiendo dietas altas en concentrados energéticos y proteicos. Si bien durante este período el nivel de consumo va aumentando, así también lo hace la producción de leche y por lo tanto los requerimientos de nutrientes siguen siendo mayores que el consumo de los mismos. Esto se ve reflejado en la pérdida continua de peso que experimentan las vacas en esta etapa. El tipo de proteína y su nivel son críticos para alcanzar el pico de producción de leche. A su vez la inclusión de grasas en la ración se encuentra

restringida para evitar la mayor depresión del consumo de materia seca. El déficit energético y proteico sigue siendo importante y los riesgos de desarrollar desordenes metabólicos siguen siendo altos por lo que la alimentación debe seguir estando vigilada (Hutjens, 2003).

La prevalencia de acidosis ruminal subaguda en rodeos problemas puede llegar a ser entre un 20-25% de las vacas lecheras en confinamiento (Nordlund et al., 2004) y en sistemas de pastoreos (O’Grady et al., 2008) respectivamente. Vacas se encuentran con mayor riesgo de desarrollar acidosis ruminal subaguda (SARA) durante el periodo de transición (fase 2) y en la lactancia temprana (fase 3 y 4) (Donavan et al., 2004). La característica común para cada uno de estos periodos es un cambio significativo y repentino en la composición de las raciones que involucra un aumento en la proporción de granos en la ración total y una disminución en el contenido de fibra efectiva, estas contienen en la mayoría de los casos un 40% MS como carbohidratos no estructurales y menos del 30% MS como fibra detergente neutra (McGuffey, 2015).

En síntesis, cuando la vaca lechera se encuentra en las fases 3 y 4 de la lactancia tiene mayor riesgo de presentar SARA pero por razones diferentes (Fig. 3).

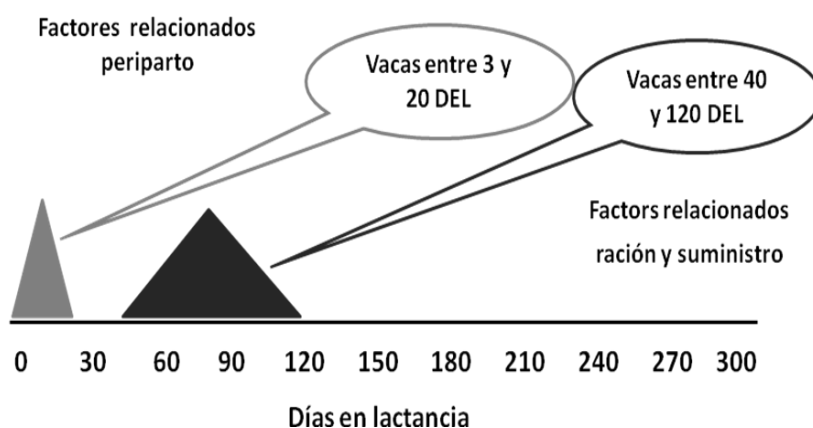


Fig. 3 Grupos de riesgo de acidosis clínica / subclínica

En la fase 3 el riesgo de SARA está relacionado con factores del periparto, como la adaptación de la flora ruminal a las dietas, la recuperación del nivel de consumo y el desarrollo de enfermedades relacionadas al parto. Mientras que en la fase 4, los factores que predisponen a la aparición de SARA están relacionados con composición de la ración y el suministro de la misma. La necesidad de expresar el mayor pico de producción lleva a formular dietas que le permitan recuperar el consumo y aportar mayor cantidad de nutrientes, sin rescindir de la calidad y cantidad de fibra que le permitan un nivel de rumia adecuado y estabilidad del ambiente ruminal.

2 Fisiología digestiva de los rumiantes

Los rumiantes se caracterizan por su capacidad para alimentarse de vegetales herbáceos (pastos o forraje). Esta característica se basa en la posibilidad de poder degradar y digerir los hidratos de carbono estructurales del forraje, como celulosa, hemicelulosa y pectina, muy poco digestibles para las especies de estómago simple o no-rumiantes. La degradación del alimento se realiza mayoritariamente por digestión fermentativa y no por acción de enzimas digestivas, ya que los procesos fermentativos los realizan diferentes tipos de microorganismos que el rumiante aloja en sus compartimientos estomacales (Relling y Mattioli, 2002).

La fermentación que se produce en el retículo-rumen, es un proceso digestivo por el cual las bacterias principalmente, degradan sustratos moleculares con una gran alteración de los mismos y de forma más lenta que la digestión glandular (Arruebo Loshertos, 1995).

Las especies microbiológicas que habitan el retículo-rumen son morfológica y funcionalmente diversas, e incluyen Eubacterias (bacterias), Archaea, Protozoarios y Hongos Quitridomicete (Hobson y Stewart, 1997).

2.1 Medio Retículo-Rumen

El medio retículo-rumen permite y regula el desarrollo de las poblaciones microbianas con el objetivo de asegurar el proceso fermentativo y la eliminación de productos del metabolismo microbiológico, manteniendo así la estabilidad del medio ruminal. Es un ecosistema abierto y continuo, al cual ingresan de forma permanente alimentos, pero que respeta un tiempo de retención para que los complejos sustratos de la dieta sean degradados y fermentados (Yokoyama y Johnson, 1993). Las condiciones que se deben mantener para la correcta fermentación y crecimiento microbiano 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. Un complejo sistema motor controlado por diversos receptores es el encargado de regular la motilidad de los compartimientos estomacales con el objetivo de mantener estas condiciones (Relling y Mattioli, 2002). En condiciones normales, la presión osmótica se mantiene próxima a la de la sangre para evitar el flujo excesivo de líquido desde la pared ruminal, la temperatura va de 39°C a 41°C y el pH de 5.5 a 7 por el balance entre la producción y absorción o pasaje de los ácidos producidos durante la fermentación, estos valores de pH se encuentran cercanos al óptimo de numerosos sistemas enzimáticos, mientras la anaerobiosis se mantiene por bajas concentraciones de oxígeno (potencial de reducción entre -250 y -450 milivoltios) para esto existen bacterias asociadas a la pared ruminal que consumen el

oxígeno que puede llegar a ingresar por la mucosa o por los alimentos (Relling y Mattioli, 2002). Estas condiciones son importantes ya que permiten el desarrollo de flora benéfica que realiza la degradación de los sustratos complejos mientras evita la proliferación de microorganismos perjudiciales para la salud del animal o que puedan alterar la correcta fermentación de los sustratos. A su vez, la anaerobiosis evita que se formen productos finales de fermentación tóxicos como aminos y amidas (Yokoyama y Johnson, 1993).

A continuación se describirán las características principales de los microorganismos presentes en este ambiente.

2.2. Bacterias ruminales

Las bacterias anaeróbicas, representan 10^{10} - 10^{11} células/gramo de contenido ruminal (Yokoyama y Johnson, 1993), y son predominantes en el ecosistema ruminal. Se pueden encontrar adheridas a partículas del alimento (ligadas), libres en el líquido ruminal (no ligadas) o asociadas a la pared ruminal (población epimural) (Baker y Dijkstra, 1999). Las bacterias asociadas a partículas atacan los sustratos no solubles (celulosa y hemicelulosa), mientras que aquellas que flotan en el líquido ruminal atacan la fracción soluble del alimento. Por último las bacterias epimurales se encargan de hidrolizar la urea y consumen el oxígeno que ingresa con el forraje o aquel que difunde por el epitelio (Van Lier y Regueiro, 2008). La variabilidad está dada por varios factores aunque los más importantes son: la composición de la dieta y la presencia o ausencia de protozoarios ciliados (Grudsky et al., 1983).

Los microorganismos predominantes son sacarolíticos debido a las concentraciones predominantes de hidratos de carbono como celulosa, almidones y otros polisacáridos, que se encuentran en la dieta de los rumiantes (Yokoyama y Johnson, 1993). De éstos se destacan dos grandes grupos: celulolíticas y amilolíticas (Hungate, 1966). Las primeras, son estrictamente anaerobias y muy sensibles a la acidez del medio ruminal, siendo que se multiplican mayormente cuando la dieta del animal es principalmente a base de forrajes y donde el pH se establece en valores próximos a 6,3-6,7. Sin embargo descienden sensiblemente en dietas ricas en concentrados con las que se alcancen niveles de pH inferiores a 6,0. Las bacterias amilolíticas son en general menos sensibles a los cambios del pH, manteniendo su actividad fermentativa en un mayor rango de pH (5,0-7,0), aunque la densidad está dada por la relación entre el aporte y tipo de almidón en la dieta, como así también el grado de disponibilidad según los métodos físicos de procesamiento de las dietas (Mould y Orskov, 1983).

La clasificación de las bacterias del rumen sigue un sistema que se basa en el tipo de sustrato que atacan las bacterias y los diferentes productos finales de la fermentación. El

fundamento de este procedimiento estriba en que se debe determinar la contribución de cada especie bacteriana en la utilización de los distintos componentes de la dieta, para determinar su papel en el proceso global de la fermentación del rumen (Yokoyama y Johnson, 1993).

Según este método se reconocen 8 grupos de bacterias diferentes basados en la utilización de celulosa, hemicelulosa, almidón, azúcares simples, ácidos intermedios, lípidos, proteínas y productores de metano. Para una clasificación más amplia podrían incluirse utilizadores de pectina y productores de amoníaco. Los principales problemas de esta clasificación implican la superposición, ya que la mayoría de las bacterias son capaces de fermentar varios sustratos distintos siendo complejo agruparlas correctamente (Yokoyama y Johnson, 1993).

2.2.1. *Bacterias celulolíticas*: Estas bacterias tienen la habilidad bioquímica de producir celulasas exógenas y endógenas, enzimas que pueden degradar la celulosa. La celulosa es un polisacárido estructural con una estructura fibrosa que forma múltiples puentes hidrógenos por lo que no es soluble y dificulta su degradación. También pueden utilizar celobiosa (disacárido) y otros carbohidratos. Especies celulolíticas de importancia son: *Bacteroides succinogens*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Clostridium lochheadii* y *Eubacterium cellulosolvens*.

2.2.2. *Bacterias hemicelulolíticas y pectinolíticas*: La hemicelulosa difiere de la celulosa en que contiene diferentes pentosas, hexosas y ácidos urónicos. La hemicelulosa es un importante constituyente de las plantas. Los organismos que son capaces de hidrolizar celulosa, habitualmente también pueden utilizar hemicelulosa. Sin embargo, algunas especies hemicelulolíticas no pueden utilizar la celulosa. Dentro de las especies que degradan hemicelulosa y pectina tenemos: *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lachnospira multíparus*, *Bacteroides ruminícola* y *Ruminococcus spp.*, *Treponema spp.*

2.2.3. *Bacterias amilolíticas*: Todas las bacterias celulolíticas son también capaces de digerir almidón, sin embargo algunos microorganismos amilolíticos no pueden utilizar celulosa. La mayoría presentan alfa-amilasas extracelulares. Especies importantes que digieren almidón son: *Bacteroides amylophilus*, *Succinomonas amylolíptica* y *Streptococcus bovis*.

2.2.4. *Bacterias que utilizan ácidos orgánicos*: Un gran número de bacterias utilizan ácido láctico, no obstante este ácido no está presente en cantidades apreciables en el rumen, excepto en condiciones que donde la concentración de azúcares es elevada. Algunas bacterias que utilizan lactato como *Megasphaera eldenii* y *Selenomonas ruminatium*. Otras bacterias utilizan ácido succínico, málico y fumárico, como así también utilizan ácido fórmico y ácido acético, pero probablemente no como fuentes primarias de energía. Ejemplo de bacterias que utilizan el succinato transformándolo en propionato *Selenomonas*

ruminantium, *Veillonella alcalescens*, *Anaerovibrio lipolytica* y *Propionibacterium spp.* Además, otras utilizadoras de ácidos son *Desulphovibrio* y *Selenomona lactilytica*.

2.2.5 Bacterias Proteolíticas: Un gran número de bacterias ruminales pueden utilizar aminoácidos como fuentes primarias para obtener energía. *Bacteroides amylophilus*, *Clostridium sporogenes* y *Bacillus licheniformis*, son tres especies que tienen reconocida capacidad proteolítica, aunque no parecen especies altamente especializadas que dependan únicamente de la proteína como fuentes de energía. Se pueden incluir también *Bacteroides ruminicola* (Crecen con mayor rapidez cuando en el medio hay di y tripeptidos), *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Streptococcus bovis*.

2.2.6 Bacterias productoras de amonio: Algunas especies bacterianas producen amonio a partir de distintas fuentes. Ej.: *Bacteroides ruminicola*, *Selenomona ruminantium*, *Megasphaera elsdenii* y algunos *Butyrivibrios*. Su metabolismo permite proveer de nitrógeno a las bacterias que fermentan hidratos de carbono más complejos.

2.2.8 Bacterias que producen metano: Al producirse acetato o butirato se forman desechos metabólicos que son utilizados por este grupo para la formación de metano. Son especiales ya que gracias a su acción fermentadora en el rumen promueven el crecimiento de otras especies bacterianas y permiten una fermentación más eficaz ya que mantienen bajas las concentraciones de hidrogeno gaseoso. Las principales formadoras de metano son *Methanobacterium ruminantium* y *Methanobacterium formicum*.

2.2.9 Bacterias lipolíticas: Hay bacterias que utilizan glicerol y lo fermentan. Otros microorganismos hidrogenan ácidos grasos insaturados, debido a las propiedades toxicas de estos sobre los microorganismos. Ejemplos de bacterias lipolíticas son: *Selenomona ruminantium* y *Anaerovibrio lypolítico*. Mientras que *Butyrividrio fibrisolvens*, *Trepomona briyantii*, *Eubacterium spp* y *Fusocillium spp* pueden hidrogenar parcialmente el ácido linolénico y linoleico.

2.3 Protozoarios ruminales

Los protozoarios se encuentran en un número de 10^5 - 10^6 células/ml del contenido ruminal. Existen dos grupos, los flagelados y los ciliados, siendo estos últimos los más abundantes. Representan el 50% de la biomasa ruminal total (dependiendo de las condiciones), y de mayor tamaño que las bacterias, incluso algunos pueden ser vistos a simple vista (20-200 micras). Las funciones que pueden desempeñar incluyen producción de amoniaco, pueden modificar la proporción de ácidos grasos volátiles en dietas ricas en granos y tienen capacidad de fagocitar bacterias gracias a sus enzimas y motilidad lo que también les permite secuestrarse. A su vez son capaces de ingerir moléculas de almidón que utilizan como reservas de energía. Estas dos características (motilidad y reservas) les

permiten escapar al pasaje del líquido ruminal a otros compartimientos lo que se denomina como secuestación (Yokoyama y Johnson, 1993).

Las especies que se logran identificar forman parte de las familias *Isotrichidae* donde los géneros que se destacan son *Isotrichia* y *Dasytricha* (son los predominantes) y de la familia *Ophryoscolecidae* siendo predominantes lo genero *Entodinium*, *Dipodinium*, *Epidinium* y *Ophyoscedex*. Todos los protozoarios antes mencionados son ciliados y tienen capacidad de utilizar como fuente de energía desde hidratos de carbono vegetales (celulosa, hemicelulosa, pectina, almidón y azúcares solubles), proteínas vegetales, hasta proteínas bacterianas, siendo sus metabolitos de fermentación principales el acetato, butirato, hidrogeno y amoniacó (Yokoyama y Johnson, 1993).

Mientras los protozoos normalmente son una porción representativa de la masa celular microbiana del rumen, su importancia relativa para el metabolismo y digestión ruminal es poco clara. El crecimiento in vitro de cultivos puros de protozoarios ruminales (carentes de bacterias) es difícil; realizar una defaunación química (eliminar los protozoos del ambiente ruminal) o por medio de las dietas no tiene un impacto global en el ambiente ruminal ya que las bacterias serían capaces de asumir el rol que antes cumplían los protozoos en los procesos fermentativos. Incluso en muchos casos podrían observarse resultados benéficos (Lindsay y Hogan, 1972) es por esto que se podría decir que no son esenciales (Yokoyama y Johnson, 1993).

La defaunación no afecta la digestión ruminal de forma significativa, pero puede influenciar en el balance de productos. Se ha observado en numerosos trabajos, donde se realizó la defaunación, un cambio en la proporción de AGV asociado con un cambio en la tasa de acetato, butirato y propionato, observándose un aumento en la producción de los mismos y especialmente del propionato (Sodiy Arce et al., 2004). La digestibilidad de la materia orgánica (MO) en el rumen no es afectada pero la digestibilidad en el resto del tracto digestivo se podría observar disminuida, por otro lado la digestibilidad del nitrógeno ruminal podría no ser afectada por la ausencia de protozoarios. Teóricamente, el reciclado de energía y proteína por fagocitosis de los protozoos a las bacterias debería disminuir la eficiencia del rumen, disminuir la producción de proteína microbiana e incrementar los productos como los ácidos grasos volátiles y la materia orgánica microbiológica (Sodiy Arce et al., 2004). Esto sugiere que los protozoarios en el rumen no cumplen ninguna función esencial para el rumiante (Yokoyama y Johnson, 1993). El tratamiento de defaunación ocasiona una reducción del pH del rumen y un incremento en la concentración de bacterias en el fluido del ruminal (Machmuler, 2003).

Dentro de los factores que afectan el número y composición de protozoarios en el rumen uno de los más importantes es la composición de la dieta. Dietas con mayor proporción de hidratos de carbono altamente fermentecibles, se reflejan principalmente en

una disminución del pH del medio ruminal, lo que causa una disminución e incluso puede eliminar totalmente la población de protozoarios (Grudsky et al., 1983).

También existen variaciones cíclicas diarias en la densidad de los ciliados, produciéndose un aumento de ésta, cuando la frecuencia de suministros de una ración es mayor. Al entregar la ración una sola vez al día, se produce una gran baja de pH con la consiguiente baja del número de ciliados (Grudsky et al., 1983). Aunque esto podría explicarse, a su vez, por su capacidad de secuestrarse y lo difícil de hacer una recolección de los protozoos cuando estos se encuentran atrincherados en el retículo o en el saco dorsal del rumen.

2.4 Hongos

Los hongos se encuentran en baja proporción (10^3 células/ml) y se reconocen zoosporos de hongos ficomicetos anaeróbicos y células vegetativas generalmente unidas al forraje. Pueden desarrollar funciones de digestión de fibra, ya que son capaces de degradar celulosa y xilanos. Se desconoce si los hongos son funcionalmente importantes para el rumen aunque se reconocen que tienen actividad de degradar fibra (Yokoyama y Johnson, 1993).

Debido a la importancia que los hidratos de carbono tienen en los procesos de fermentación ruminal y utilización por parte de los rumiantes para los procesos relacionados a la producción animal en el siguiente capítulo se realizara una descripción de los mismos.

3 Carbohidratos y su metabolismo ruminal

El metabolismo microbiano ruminal se regula fundamentalmente por la cantidad y la velocidad de fermentación de los hidratos de carbono, que a su vez depende de sus características físicas y químicas. La fermentación de los hidratos de carbono proporciona esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para el crecimiento microbiano (Stern et al., 1994).

3.1 Caracterización de los principales hidratos de carbono

Los carbohidratos se definen químicamente como un amplio grupo de hidroxialdeídos o hidroxicetonas y sus derivados. Según esto se pueden clasificar como monosacáridos y sus derivados, oligosacáridos (dos a diez unidades de sacáridos) y polisacáridos (celulosa, almidón, hemicelulosa y pectina).

3.1.1 Monosacáridos: componen un grupo que incluye arabinosa y xilosa, ambas forman parte de la estructura de la hemicelulosa. La glucosa, manosa, galactosa y la fructosa. Siendo la glucosa el principal componente de los carbohidratos encontrados en dieta de los rumiantes (Fig. 4) (Fahey y Berger, 1993).

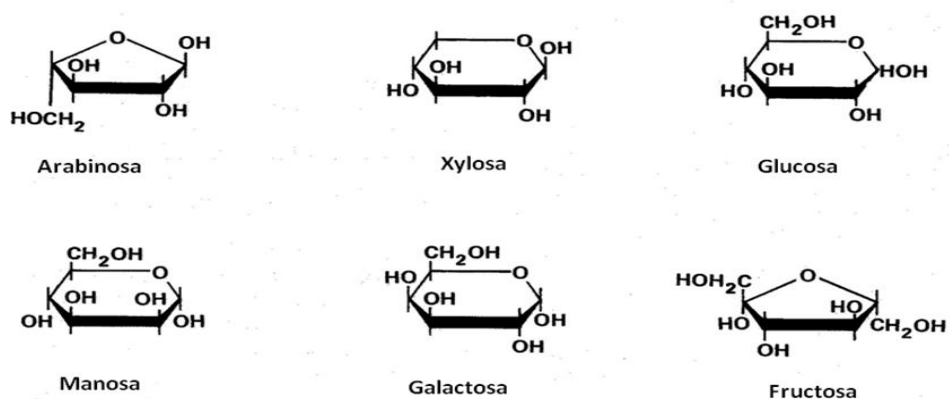


Fig. 4 Principales monosacáridos de las plantas. (Fahey y Berger, 1993)

3.1.2 Oligosacáridos: glúcidos que aparecen libres o combinados en productos naturales. Son de menor peso molecular que los polisacáridos y solamente proporcionan azúcares o derivados de la glucosa. Se encuentran formados por residuos de monosacáridos unidos en enlaces glucosídicos. Dentro de este grupo se pueden encontrar sacarosa, disacárido formada por glucosa y fructuosa; maltosa, disacárido que se obtiene de la degradación del almidón y glucógeno, formada por dos glucosas unidas mediante un enlace α -1,4; lactosa, disacárido formado por galactosa y glucosa unidas mediante enlaces β -1,4 siendo el osmol y azúcar de la leche; rafinosa se forma por 6-(α -D-gal)- α -D-glu- β -D-fru. Se

encuentra en pequeñas cantidades en la remolacha azucarada y en grandes cantidades en la harina de soja y en la semilla de algodón. La estaquiosa es un tetrasacárido encontrándose principalmente en la semilla de soja y consiste en galactosa-1,6 galactosa [1,6] glucosa [1,2]- β -D-fructosa. Estos dos últimos oligosacáridos mas la verbascosa (5C) solo son fermentados por microorganismos intestinales en especies no ruminates (Fig. 5) (Fahey y Berger, 1993).

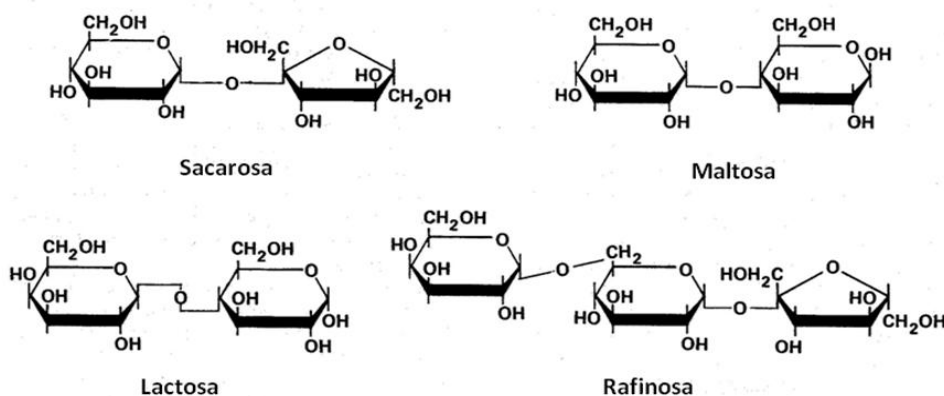


Fig. 5 Principales oligosacáridos de las plantas y lactosa (Fahey y Berger, 1993).

3.1.3 Polisacáridos no estructurales: en este grupo se encuentran el almidón (reserva energética vegetal) y el glucógeno (reservas energética animal). El almidón puede encontrarse naturalmente en los vegetales, formando parte de semillas, tubérculos, raíces, médula y hojas. El almidón tiene estructura de gránulos, y estos están formados por dos glucanos diferentes, amilosa que son cadenas lineales de α -D-glucosa unida mediante enlaces α -1,4 y amilopectina que consiste en cadenas cortas de unidades α -glucosas unidas en los carbonos 6 pero que, a diferencia de la amilosa, presenta ramificaciones que varían según la especie vegetal. Las ramificaciones están compuestas por cadenas lineales de 24 a 26 glucosas unidas entre sí por enlaces α -1,4 que se unen a la cadena central por uniones α -1,6. Las ramificaciones están separadas de la cadena central sobre la que se insertan por varias unidades de glucosa, de las ramificaciones primarias se desprenden, por enlaces α -1,6, otras secundarias y de éstas, ramas terciarias más cortas.

La mayoría de los almidones contiene entre 15-30% de amilosa, como el almidón del maíz que contiene el 22-28%. La mayoría de las bacterias que degradan almidón presentan α -amilasas, mientras que otras presentan β -amilasas capaces de degradar amilopectina pero no en su totalidad ya que deja de actuar después de que el 50% aproximadamente es degradado hasta maltosa. La amilopectina consta de una cadena larga formada por 25 a 30 unidades de glucosa con 50 a 70 ramificaciones unidas por enlaces α -1,6 glucosídico (Fahey y Berger, 1993).

La molécula de almidón presenta una estructura tridimensional de forma helicoidal, donde las cadenas lineales se encuentran en el interior mientras las ramificaciones se

proyectan al exterior (Fig. 6), esta estructura le da flexibilidad y, sumado a su capacidad de solubilizarse, permite que las bacterias ruminales accedan con mayor facilidad al sustrato resultando más rápida la degradación de este carbohidrato (Blanco, 2013).

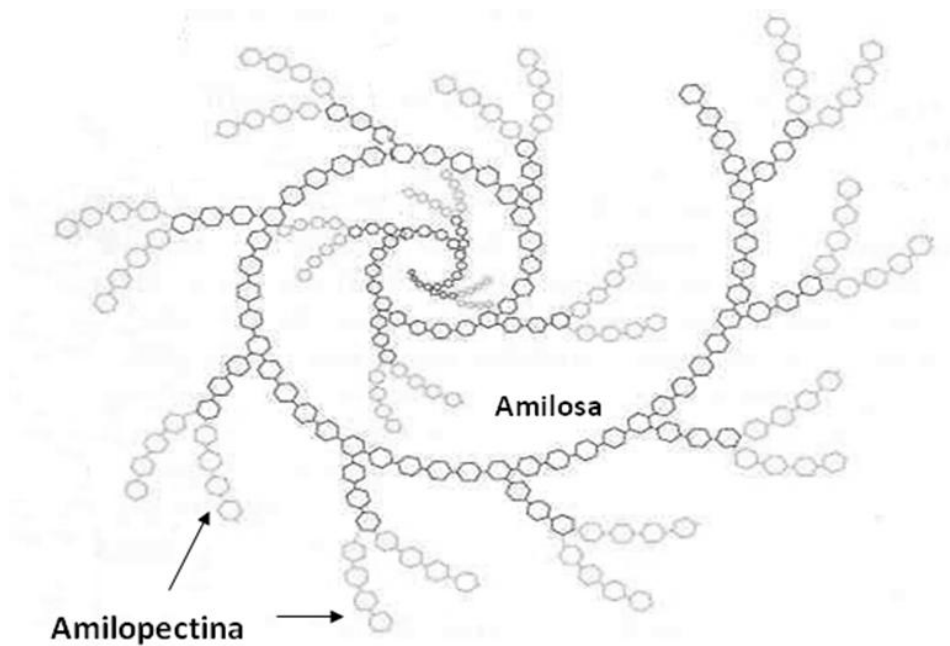


Fig. 6 Estructura 3D de un gránulo de almidón (Blanco, 2013).

2.1.4 Polisacáridos estructurales: los que se encuentran en la naturaleza son celulosa, hemicelulosa y pectina. Son constituyentes de la pared celular de las células vegetales. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante en la naturaleza, encontrándose de forma más pura en la semilla de algodón. La celulosa puede estar asociada con otros compuestos y ser menos resistente a la acción de los ácidos. Las paredes celulares de los vegetales se forman inicialmente con una membrana de pectina que va siendo sustituida gradualmente con depósitos de hemicelulosa, celulosa y lignina. La celulosa está constituida por residuos glucosa unidos mediante enlaces β -1,4 y no presenta ramificaciones (Fig. 11) (Fahey y Berger, 1993).

La estructura de la celulosa está compuesta por hebras que se agrupan paralelamente en haces que forman microfibrillas de gran resistencia física. A esta resistencia física contribuyen los numerosos puentes de hidrogeno existentes entre cadenas vecinas. A su vez, estas microfibrillas se encuentran inmersas en una matriz que contiene como se mencionó anteriormente otros componentes como la hemicelulosa, pectina y lignina, lo que le da mayor rigidez, insolubilidad y resistencia a la degradación bacteriana (Fig. 7) (Blanco, 2013).

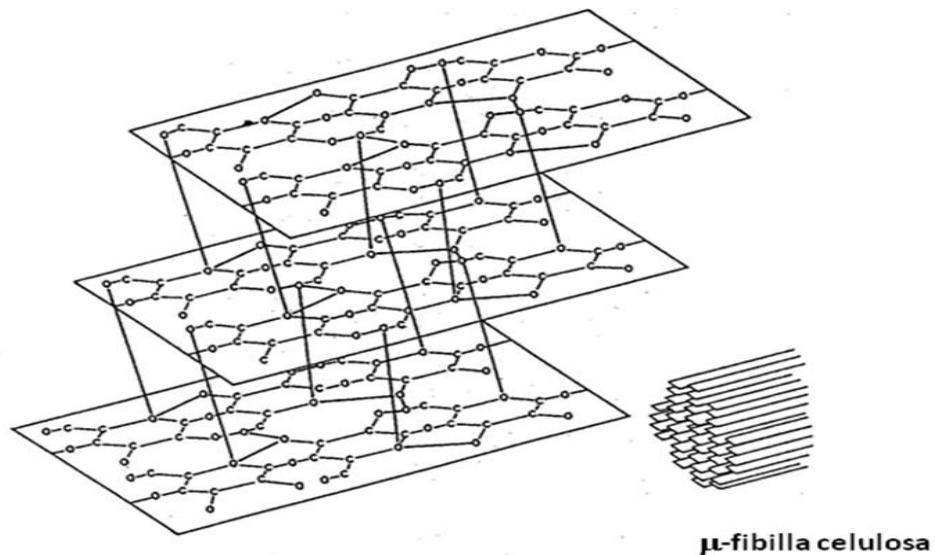


Fig. 7 Imagen 3D de la estructura de celulosa (Blanco, 2013).

La hemicelulosa es un compuesto heterogéneo de las paredes celulares de las plantas. Es insoluble en agua aunque puede ser extractado con solución alcalina y que, tras hidrólisis ácida, dan origen a azúcares y ácidos de azúcares (Fig. 8) (Fahey y Berger, 1993).

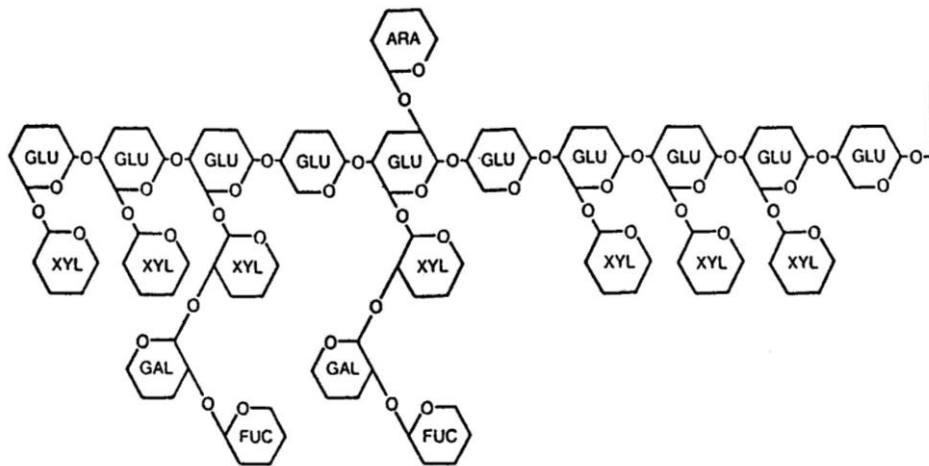


Fig. 8 Representación gráfica de la estructura de hemicelulosa.

La hemicelulosa está formada por una cadena base de aproximadamente 50 glucosas, similar a la celulosa, con múltiples ramificaciones de residuos galactosa, xilosa y fructosa (oligosacáridos). La cadena principal se une por enlaces de hidrógeno a la superficie de la microfibrilla de celulosa; Las ramificaciones establecen uniones cruzadas con esas microfibrillas y otros componentes de la matriz (pectinas), formando una red de moléculas fibrosas, responsables de la resistencia mecánica de las células vegetales (Fig.9) (Blanco, 2013).

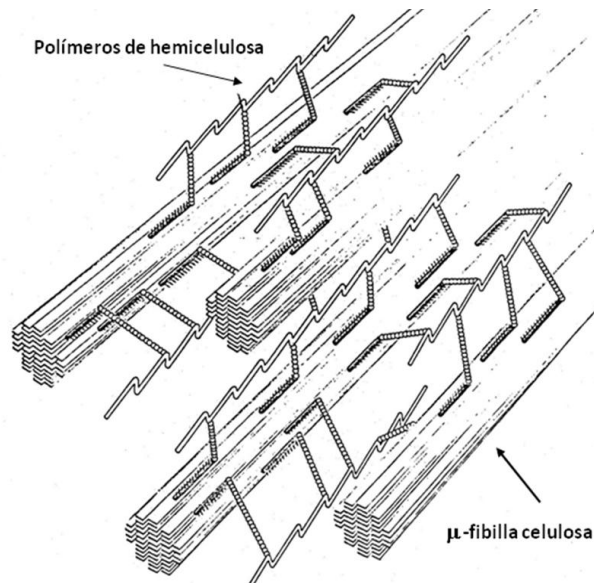


Fig. 9 Estructura 3D de la asociación entre celulosa y hemicelulosa (Blanco, 2013).

La hemicelulosa puede formar parte de los polisacáridos amorfos incrustados. Se sabe, se asocia a lignina con la que forman el material incrustante del engrosamiento secundario de la pared de la célula vegetal (Fig. 10). A su vez, puede contener tanto azúcares como ácidos urónicos (Fahey y Berger, 1993).

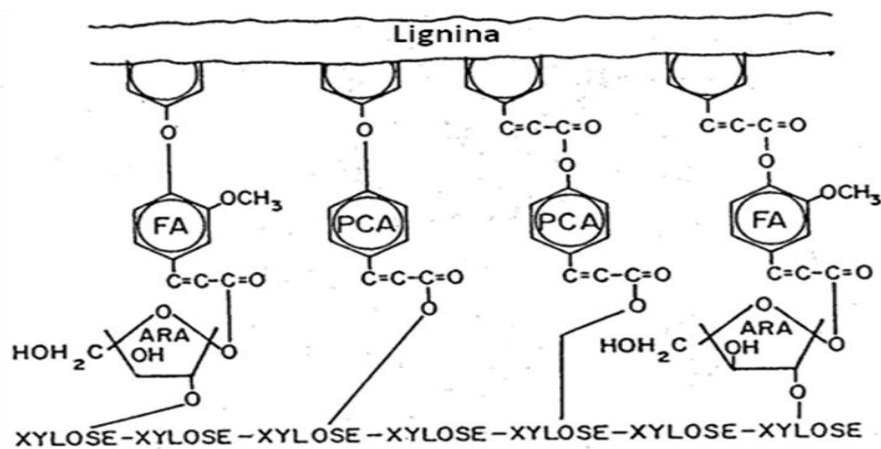


Fig. 10 Asociación de lignina con otras estructuras de la pared celular.

Las pectinas son carbohidratos coloidales de elevado peso molecular y forman parte de la fracción soluble también denominada “cemento intercelular” de la pared de las células vegetales. Constituidas por cadenas de ácido galacturónico (enlaces α -1,4) a cuyos extremos se unen cadenas cortas de monosacáridos. Estas moléculas con numerosas cargas negativas (restos carboxilos de ácidos urónicos) fijan cationes, principalmente calcio, y atraen ávidamente moléculas de agua (Fig 11) (Blanco, 2013).

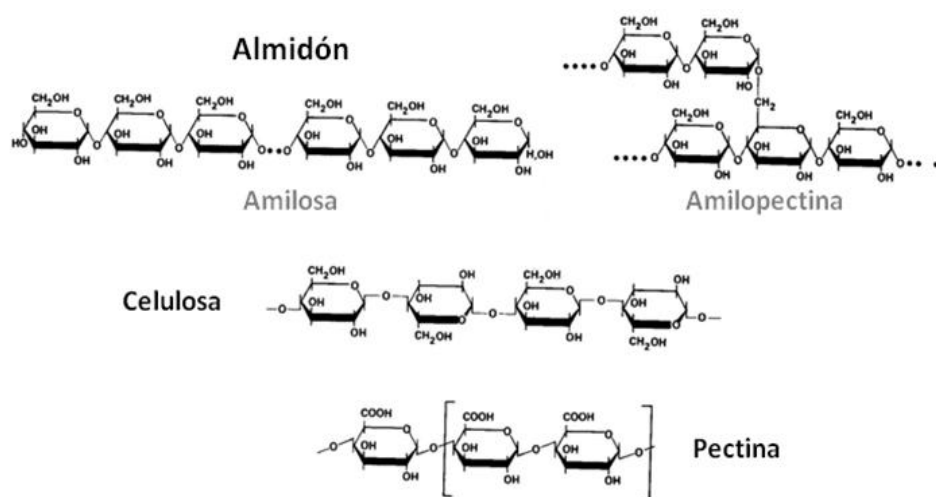


Fig. 11 Principales Polisacáridos de las Plantas (Fahey y Berger, 1993).

La lignina y los polisacáridos estructurales mencionados forman una red fibrosa que evitan el ingreso de agua, estas características hacen que su degradación por parte de las bacterias ruminales sea compleja y lenta, así como también lo es el crecimiento de la población microbiana que los ataca. Ya que los polisacáridos no estructurales tienen forma helicoidal, y se solubilizan en el líquido ruminal, la tasa de fermentación por parte de las bacterias es mayor; por ello, éstas tienen un crecimiento exponencial mayor que las que fermentan los hidratos de carbono estructurales.

3.2 Fermentación de carbohidratos en los rumiantes

Los carbohidratos desde el punto de vista estructural, se dividen en estructurales (constituyentes de la pared celular, como celulosa, hemicelulosa y pectina) y no estructurales (no forman parte de la pared celular), que se componen de azúcares simples, hidratos de carbono de reserva y ácidos orgánicos. Desde el punto de vista nutricional, más enfocado hacia su biodegradación, se pueden clasificar en fibrosos, asociados a la pared celular y no fibrosos (carbohidratos no estructurales, CNE) asociados a las reservas (Fig. 12). Así, las únicas diferencias entre éstas dos clasificaciones son la pectina, que siendo un carbohidrato estructural no se incluye dentro de la fibra detergente neutro (FDN), y la lignina, que sin ser un carbohidrato, se encuentra íntimamente ligado a la pared celular y se incluye dentro de la fracción de FDN (Van Soest, 1982).

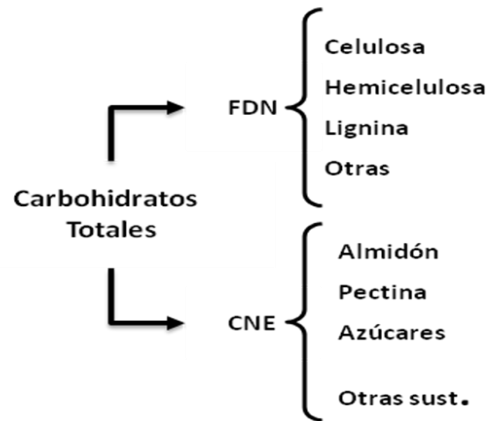


Fig. 12 Carbohidratos de la dieta, FDN fibra detergente neutra y CNE carbohidratos no estructurales.

3.2.1 Relación entre composición de carbohidratos en la dieta y la flora ruminal.

El tipo de glúcido predominante en la dieta condiciona el desarrollo del tipo de flora adecuada para su fermentación y el ajuste del pH a su rango ideal. Así, una ración rica en almidón es fermentada por una flora amilolítica que desarrolla mejor a un pH de 5.5 a 6.0, mientras que una ración compuesta por forraje con alto contenido de carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y pectinas) será fermentada por una flora celulolítica que desarrolla mejor a pH de 6 a 6.9 debido a que sus enzimas actúan mejor a pH más altos (Relling y Mattioli, 2002).

De ésta forma, los productos de la fermentación difieren según sea la composición de la dieta, porque los distintos microbios tienen mayor afinidad y preferencia para digerir carbohidratos específicos. Las dietas de base forrajera son ricas en celulosa, con un contenido intermedio de azúcares solubles y pobres en almidón. De allí, que sean más activas las bacterias celulolíticas. Con una digestión intensa de la celulosa por microbios celulolíticos y fermentación de los carbohidratos solubles por las bacterias sacarolíticas, la producción de acetato resulta elevada. Con dietas ricas en almidón, por el contrario, la población bacteriana es principalmente amilolítica. Los gérmenes amilolíticos compiten por los carbohidratos solubles y los productos de la hidrólisis del almidón y hemicelulosa, especialmente con un pH más bajo, producen mayor proporción de propionato aunque la producción de acético siempre es mayor (Fig. 13) (Owens y Goetsch 1993).

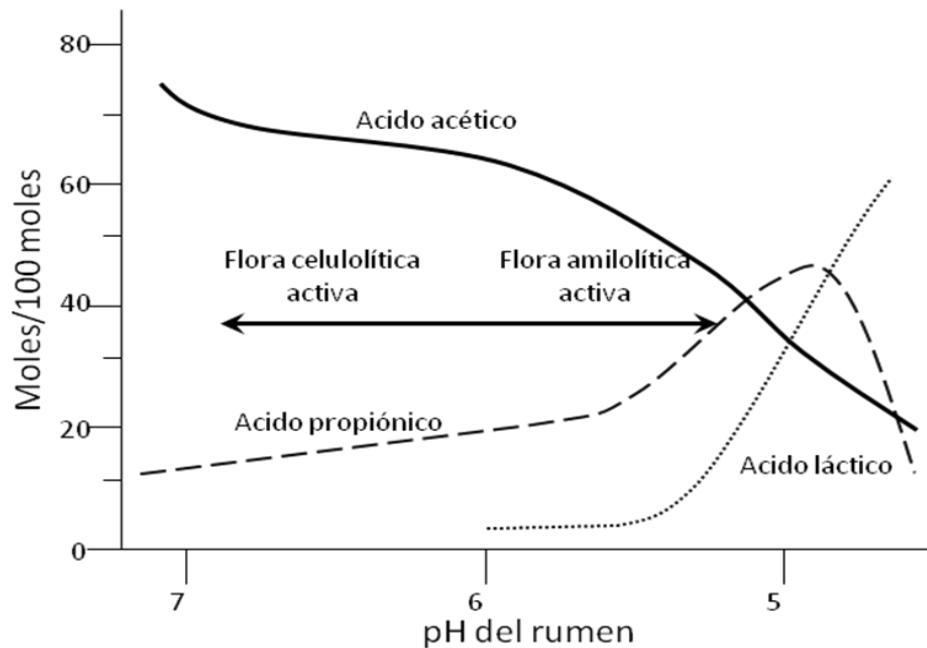


Fig. 13 Relación del pH del rumen con las proporciones ruminales de los ácidos acético, propiónico y láctico. Según Kaufmann et al. (1980).

A pesar de las grandes oscilaciones en las poblaciones microbianas y de las diferencias en el consumo de alimentos, las proporciones entre ácidos grasos volátiles en el rumen se mantienen notablemente estables, con proporciones molares (moles de acetato:propiónico:butirato) generalmente próximas a 65:25:10 con dietas a base de forrajes y 50:40:10 en dietas ricas en concentrados, dependiendo del pH (Owens y Goetsch 1993).

3.2.2 Degradación y metabolismo microbiano de los carbohidratos en el rumen.

El proceso de digestión de los CNE en el rumen comienza con la hidrólisis por enzimas extracelulares de origen microbiano. En el caso de los carbohidratos estructurales, el ataque requiere de una unión física de las bacterias a la superficie de la partícula vegetal. Así, por acción de las enzimas, se producen las rupturas de los enlaces glucosídicos y se liberan principalmente glucosa y oligosacáridos hacia el líquido ruminal (Fig. 14). Estos productos no son aprovechados por el rumiante, si no que, son rápidamente metabolizados por la microbiota ruminal, que absorben la glucosa y los otros azúcares y por glucólisis se forma entre otros metabolitos, nicotín adenín dinucleótido reducido (NADH+H), adenosín trifosfato (ATP) y piruvato. (Nava y Díaz, 2001).

La digestión fermentativa ocurre bajo condiciones anaeróbicas, por lo que el piruvato se utiliza como aceptor de electrones, sufriendo una reducción todavía mayor con el fin de proveer el material necesario para la regeneración del nicotín adenín dinucleótido

oxidado (NAD) y el retiro general del NADH+H, con una producción adicional de ATP. Este proceso transformador del piruvato da lugar a los productos terminales de la digestión de los carbohidratos, los llamados ácidos grasos de cadena corta (AGCC) o ácidos grasos volátiles (AGV) (Nava y Díaz, 2001).

La habilidad de un microorganismo ruminal para fermentar algún carbohidrato específico es dependiente de la presencia de la enzima requerida para poder utilizar estos carbohidratos. Numerosas enzimas han sido aisladas a partir de varias especies bacterianas del rumen, entre ellas, hemicelulasas, celulasas, amilasas, etc. Existen también enzimas hidrolíticas extracelulares, que ejercen su acción a cierta distancia de las colonias bacterianas que las produjeron (Grudsky et al., 1983).

La mayoría de las bacterias, utilizan uno o más tipos de los principales carbohidratos dietarios de los rumiantes como fuentes de energía para su crecimiento. Las que no utilizan estos carbohidratos, utilizan los productos glucosídicos más simples de aquellos o los principales productos finales del metabolismo. Por lo tanto es corriente que exista una considerable superposición de funciones entre las diversas especies bacterianas, como así también entre especies bacterianas y protozoarias (Grudsky et al., 1983).

Desde el punto de vista de la nutrición microbiana, existen dos grandes grupos que interactúan entre sí, los que primariamente fermentan los nutrientes del alimento y otro grupo, que de forma secundaria, fermentan los productos del primer grupo. La importancia de esta segunda población recae en la remoción de productos terminales y la recirculación de factores esenciales, como el NAD, de regreso a la primera población. A su vez, se pueden ver ejemplos como la interacción entre aquellas bacterias celulolíticas y las no celulolíticas. Otro ejemplo es la función de las bacterias metanogénicas que utilizan el hidrógeno tóxico en el ambiente ruminal y forman metano (Van Soest, 1982).

Podemos mencionar cuatro especies bacterianas encargadas de hidrolizar almidón: *Bacteroides amylophilus*, *Streptococcus Bovis*, *Succinimonas amylolytica* y *Succinivibrio dextrinosolvans*. La rapidez con la que hidrolizan el almidón hasta formar maltosa y algo de glucosa está intensamente afectada por la fuente de almidón y el tipo de tratamiento al cual fue sometido (Fig. 14). Una vez obtenida la glucosa, ésta es oxidada por las bacterias sacarolíticas como *Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrinosolvans* y *Selenomonas ruminantium* por medio del ciclo de Embden- Meyerhof hasta obtener piruvato (Fahey y Berger, 1993).

En el caso de la conversión de celulosa en glucosa y posteriormente en piruvato el proceso resulta de mayor complejidad. En éste proceso se involucran *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *Ruminococcus flavefaciens*. Las celulasas producidas por la especie *Ruminococcus* se cree que es extracelular, mientras *R. albus* degrada solamente celulosa amorfa y *R. flavefaciens* puede hidrolizar celulosa cristalina. A su vez,

éstas bacterias son capaces de producir una proteína no hidrolítica que estimularía la acción de la celulasa al permitirle fijarse a la celulosa. *Bacteroides succinogenes* es la bacteria celulolítica mas común cuando las dietas son ricas en celulosa cristalina y la actividad de sus celulasas parece mayor en comparación con las de *Ruminococci*, aunque la bacteria debe establecer contacto físico con la celulosa para hidrolizarla (Fahey y Berger, 1993).

Las mismas especies bacterianas que degradan la celulosa son degradadoras normalmente de hemicelulosa, no obstante, algunas como *B. succinogenes* no fermentan por sí mismas las pentosas liberadas. Por otro lado *B. succinogenes*, *B. ruminicola* y *B. fibrisolvens* se encargan de la hidrólisis de la pectina, ya que presentan, como mínimo, dos enzimas; una metilesterasa y una poligalacturonidasa. De la hidrólisis de la pectina se obtienen ácido galacturónico, ésteres metilados de ácido galacturónico y otros azúcares. Las pentosas obtenidas mediante la degradación de la hemicelulosa y la pectina son transformadas a glucosa. (Fig. 14) (Fahey y Berger, 1993).

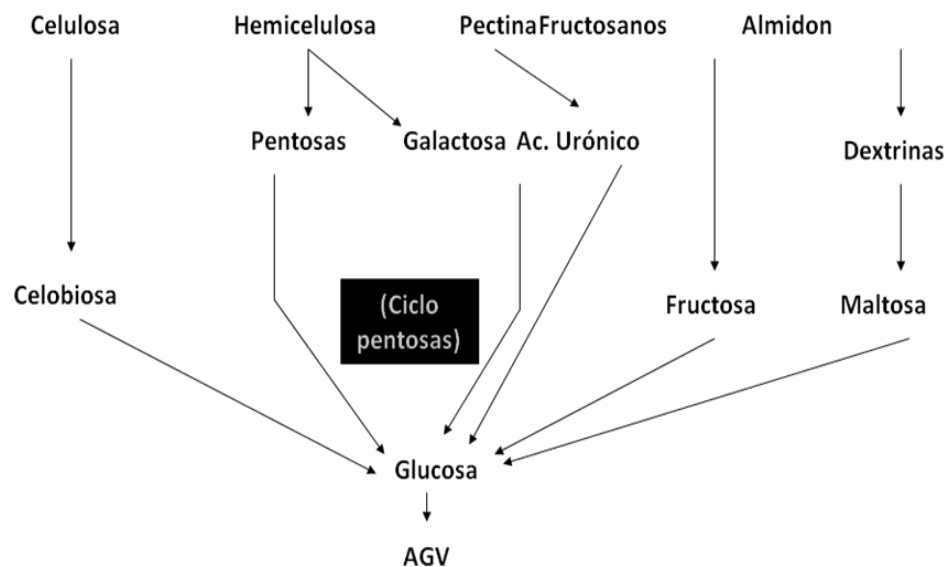


Fig. 14 Esquema de la digestión y fermentación de los hidratos de carbono en el rumen.

Una vez que se hidrolizan los polisacáridos se obtienen los disacáridos, monosacáridos y sus derivados, principalmente glucosa. Luego ésta es transformada por glucólisis a piruvato que es el compuesto intermedio a través del cual pasan todos los carbohidratos antes de ser transformados en AGV, dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄). El piruvato ingresa en diferentes vías metabólicas para la producción de energía bacteriana dependiendo del tipo de carbohidrato fermentado. De las especies bacterianas que intervengan y del ambiente ruminal durante la fermentación. Existen cepas individuales que pueden ser capaces de metabolizar el carbono solo a través de ciertas vías, los productos intermedios son recogidos y utilizados por otras cepas. Las bacterias ruminales no poseen un ciclo del ácido cítrico completo, poseen algunas de las enzimas, pero no están organizadas en

la membrana mitocondrial y a su vez no pueden oxidar el acetato a dióxido de carbono y agua. Incluso, ciertas porciones del ciclo (como de malato a succinato) tienden a operar en reverso comparado con los microorganismos aeróbicos (Van Soest, 1982).

La formación de oxaloacetato es un paso muy importante el cual puede ser obtenido por la fijación de un dióxido de carbono y fosfoenolpiruvato o, en menor medida, por transcarboxilación, dependiendo de la disponibilidad del metil-malonato. El metabolismo del oxaloacetato al succinato es la principal ruta para la formación del propionato desde el piruvato. Esta ruta se denomina ciclo del ácido dicarboxílico el cual contiene tres enzimas que catalizan la conversión del piruvato en propionato: fosfoenolpiruvato (PEP) carboxiquinasa, convierte el PEP más adenosín di fosfato (ADP), o guanidina di fosfato (GDP) más CO₂ en oxaloacetato (OAA) más ATP o GTP; piruvato carboxilasa, convierte el piruvato más CO₂ más ATP en OAA más ADP; y metilmalonil-CoA carboxitransferasa, que utiliza el metilmalonil-CoA como compuesto intermediario para transformar el succinato en propionato (Van Soest, 1982; Fahey y Berger, 1993). Otra vía alternativa para la producción del propionato, ocurre cuando el rumiante es alimentado con concentrados altos en CNE y es el ciclo del acrilato (identificado en *M. eldsdenii* y *B. ruminocola*). Bajo estas condiciones se favorece enormemente la producción de propionato (Van Soest, 1982), representando un tercio de la producción total de propionato producido. El ciclo del acrilato convierte el piruvato en lactato que luego se transforma en acrilil-CoA y posteriormente se reduce hasta propionil-CoA (Fig.15) (Fahey y Berger, 1993).

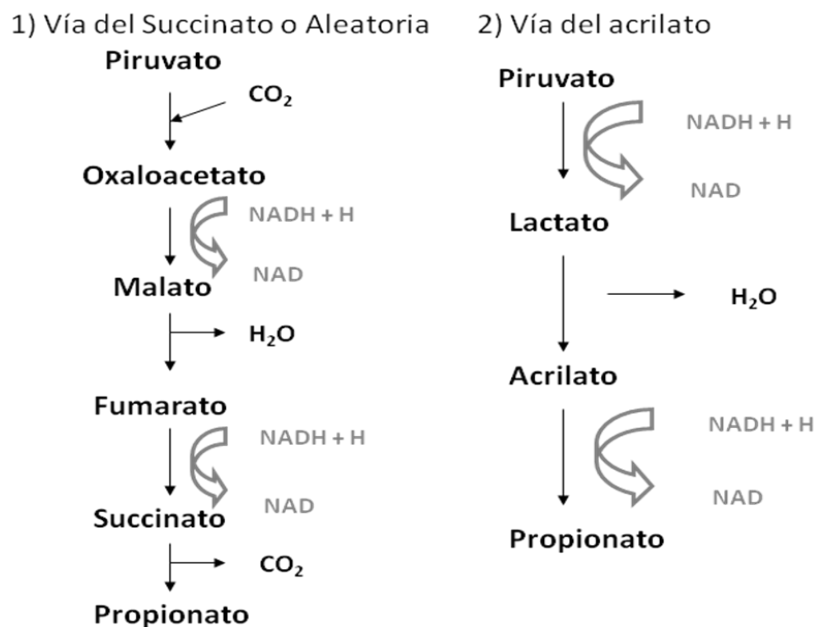


Fig. 15 Síntesis del propiónico en el rumen.

La vía del acrilato, toma importancia en la patogenia de la acidosis, ya que su actividad exacerbada frente a dietas ricas en carbohidratos no estructurales termina con un efecto global negativo al aumentar el lactato total en el rumen por acumulación de este producto intermedio.

El acetato puede producirse por dos vías, la más común es mediante el sistema piruvato-formato liasa que da origen a la formación de formato y acetil-CoA como productos intermedios. El formato es convertido posteriormente en CO₂ y H₂ por otras bacterias. La segunda vía es la piruvato-ferredoxina oxidoreductasa que da origen a ferredoxina reducida, CO₂ y acetoil-CoA, la cual ha sido observada en *Clostridium*, *Megasphaera eldenii* y *Veilonella alcaliensis*. Acetil-CoA es transformado en acetato más ATP mediante fosfotransacetilasa y acetoquinasa (Fig.16) (Fahey y Berger, 1993).

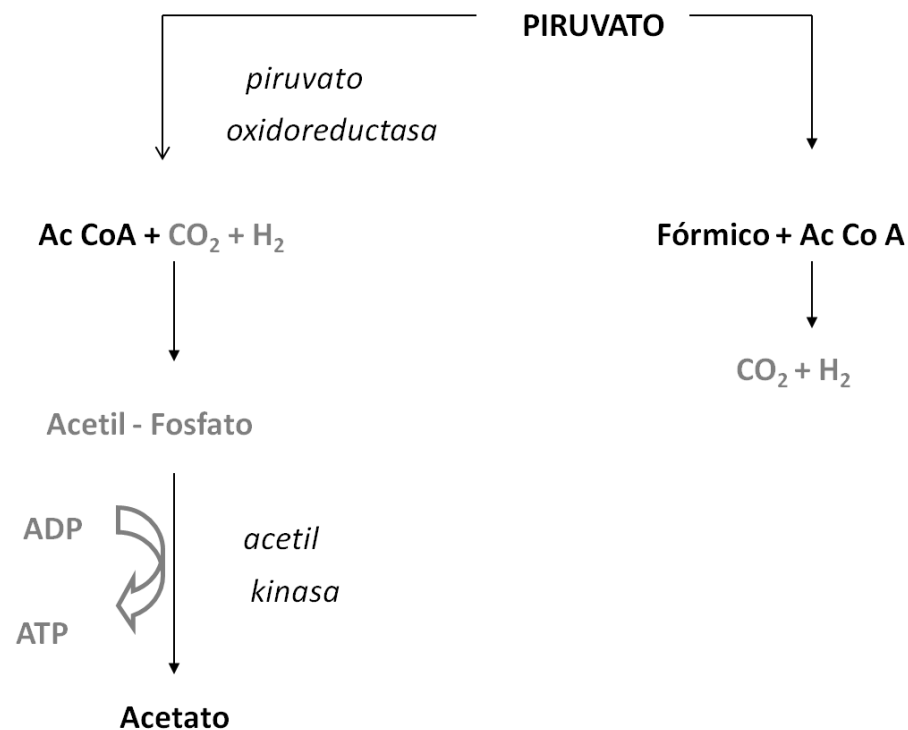


Fig. 16 Síntesis del acetato en el rumen.

Para la formación de butirato también se han descrito dos vías, la más común es la β-oxidación inversa, mientras que la otra vía combina el malonil-CoA con el acetil-CoA formando acetoacetil-CoA, que posteriormente es reducido a butirato mediante la vía crotonil-CoA. El Isobutirato se forma de la desanimación o deaminación y descarboxilación de la valina en el catabolismo proteico (Van Soest, 1982). No es muy claro el motivo por el cual el acetato se transforma en butirato, la principal finalidad puede ser la oxidación de cofactores reducidos en las bacterias, permitiendo así continuar con los procesos fermentativos (Fig.17) (Fahey y Berger, 1993).

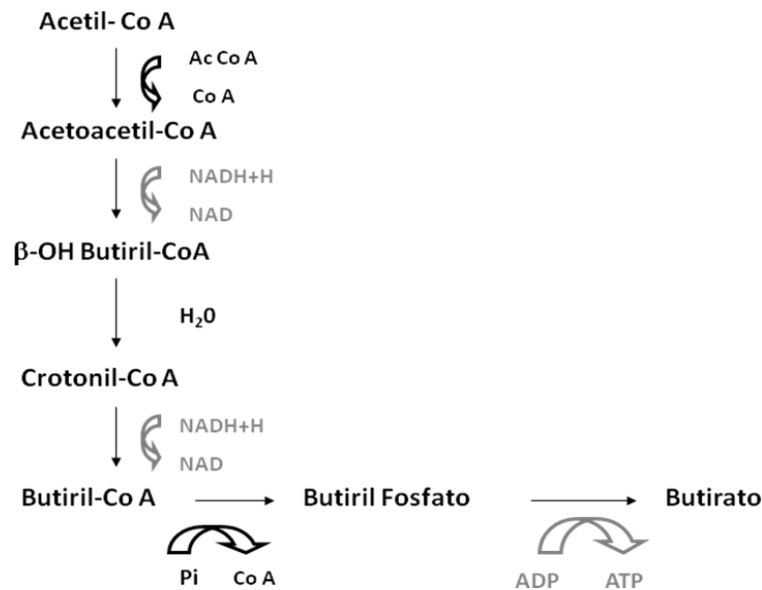


Fig. 17 Síntesis de butirato en el rumen.

La regulación de estos procesos fermentativos está dada por sus productos finales, de esta forma, la acumulación de acetato reduce la multiplicación microbiana con valores fisiológicos del pH ruminal (6-7), aunque para el caso de la acumulación del propionato y el butirato solamente cumplen esta función cuando sus concentraciones superan los niveles fisiológicos. Por lo que se puede concluir que los efectos de los AGV sobre la multiplicación bacteriana son mayores cuando el pH ruminal es bajo (Owens y Goetsch 1993).

Por otro lado la fermentación también puede ser influenciada por la energía disponible al modificar las reacciones de fermentación. Cuando un rumiante ingiere granos de cereales, la elevada disponibilidad de energía y la fermentación rápida determinan la producción de más H₂ metabólico que puede ser desviado a través de canales normales. Puede aumentar el número de bacterias metanogénicas para utilizar este excedente, aunque son muy sensibles al bajo pH ruminal (<6,0) y poco adaptables a cambios súbitos en la dieta. De allí, surge que el exceso de equivalentes reductores combinado con el pH determine que el piruvato sea reducido a lactato y propionato. Por lo que la inactividad de las bacterias metanógenas con un pH bajo es parcialmente responsable del cambio en las pautas de los ácidos grasos volátiles con el nivel de concentrados de la dieta (Owens y Goetsch, 1993).

El problema básico del metabolismo anaeróbico del rumen es la escasez de oxígeno y el exceso de enzimas reducidas que necesitan sumideros para disponer de hidrógeno. Los compuestos orgánicos producidos en el rumen pueden ser clasificados según su estado de oxidación, que se calcula como el número de átomos de oxígeno menos la mitad del número de átomos de hidrógeno. Aquellos productos de la fermentación que tengan un valor negativo de oxidación por carbono servirán como aceptores del hidrogeno (ej. metano)

mientras que los que presenten valores positivos de oxidación por carbono representan un costo de eliminación de carbonos (ej. dióxido de carbono) (Van Soest, 1982).

Dentro de los AGV el que presenta una relación más favorable, es el butírico ya que al tener 4 carbonos puede recibir más hidrógenos pero energéticamente no es favorable para las bacterias. Luego le sigue en capacidad de receptar hidrógenos el propiónico y luego el acetato (Van Soest, 1982).

Por cada molécula de glucosa (que tiene 6 carbonos) se puede generar 2 acetatos, o 2 propionatos o un butirato. Esto implica que en la formación de acetato y butirato se pierden dos carbonos, mientras en la formación de propionato no se pierde ninguno. Estos carbonos que se pierden van a formar los gases dióxido de carbono y metano (Tabla 1) (Van Soest, 1982)

Tabla 1 Productos de la fermentación de un mol de glucosa en el rumen.

Proceso	Producto	A	NA
Glucolisis	2 Piruvatos	2	-2
2 Piruvatos	2 Acetatos + 2 CO ₂	2	
2 CO ₂ o Fórmico	2 CH ₄	2	6
Acetato Total		6	4
2 Piruvato	2 Acetil-CoA + 2 CO ₂	-2	2
Acetil-Co A	Butirato	1	2
Butirato Total		3	-2
2 Piruvato	2 Propionato	0	4
Propionato Total		2	2

Se debe tener en cuenta que en raras ocasiones una bacteria formara un solo tipo de AGV a partir de un mol de glucosa y que la formación de éstos tres dependerá de un equilibrio metabólico bacteriano propio para cada especie en relación a las condiciones del medio ruminal.

Desde el punto de vista del rumiante, los productos finales más importantes son los AGV, los que son absorbidos a través de la pared ruminal a una velocidad similar a su velocidad de producción en condiciones fisiológicas los cuales se destinaran a la formación de glucosa y reservas energéticas (Grudsky et al., 1983).

4 Acidosis ruminal

El término “acidosis” es usado colectivamente en producción animal para describir disturbios digestivos del rumen y del intestino (Owens et al., 1998). Sin embargo, acidosis ruminal se utiliza para describir el cuadro de indigestión simple por contenido anómalo en el retículo-rumen, con disfunción bioquímica y de la fermentación microbiana (Garry y McConnell, 2010). Acidosis ruminal podría separarse en dos cuadros clínicos uno agudo y otro sub agudo. Ambos comparten similitudes con respecto a su etiología pero son dos cuadros clínicos muy distintos (Owens et al., 1998).

De todos los factores que afectan el medio ruminal, el pH es el más susceptible a variación, y la composición de la ración es el factor más determinante de los cambios. El pH normal-óptimo en el rumen oscila entre 6.2 y 7.0. El mantenimiento del pH ruminal es el resultado de la producción y la neutralización o eliminación de protones en el medio ruminal. Mientras las fermentaciones de hidratos de carbono no estructurales son energéticamente más eficientes, son también altamente acidogénicas, y su inclusión debe limitarse y/o contrarrestarse con hidratos de carbono fibrosos, ya que éstos aportan capacidad tamponante (buffer) al medio ruminal. Así mismo, la fibra limita la ingestión y su fermentación es energéticamente menos eficiente (Calsamiglia y Ferret, 2002).

4.1 Acidosis Ruminal Aguda

Denominada, también, acidosis láctica, ocurre principalmente por una sobrecarga de grano (almidones) siendo uno de los trastornos de fermentación microbiana más severos en el rumen y puede llevar a la muerte del animal en menos de 24 horas (Garry y McConnell, 2010). El componente determinante en este cuadro, no solo es la producción excesiva de ácido láctico, si no, la incapacidad de eliminar este compuesto. El proceso suele iniciarse con la fermentación rápida de hidratos de carbono no estructurales (HCNE) en animales no adaptados y el crecimiento de grupos bacterianos productores de ácido láctico (*Streptococcus bovis*). El desarrollo lento de las bacterias utilizadoras de ácido láctico favorece su acumulación. Cuando el ácido láctico se acumula, al ser un ácido más fuerte, se disocia más rápidamente y baja aun más el pH, el cual puede llegar a valores por debajo de 5.5. Las poblaciones microbianas utilizadoras de ácido láctico (*Megasphaera Eldesni*) y la población productora de ácido láctico (*S. bovis*) desaparecen, pero es sustituida por lactobacilus productores de ácido láctico. La acumulación de ácido láctico reduce más el pH, entrando en un círculo vicioso que conduce a la acidosis metabólica y a la aparición de síntomas clínicos (Calsamiglia y Ferret, 2002).

La progresión de la fisiopatogenia durante la acidosis ruminal aguda incluye altas concentraciones de ácido láctico ruminal, ruminitis hiperaguda, hiperosmolaridad ruminal, hidratación y acidosis metabólica (Owens et al., 1998; Radostits et al., 1994). Signos clínicos incluyen anorexia, dolor abdominal, taquicardia, taquipnea, diarrea letárgica, tambaleante (staggering), decúbito y muerte. (Garry, 2002; Radostits et al., 1994; Rebhun, 1995). La muerte sub aguda podría ser provocada por la lisis microbiana por disminución del pH, lo que provoca la liberación de toxinas que son absorbidas con facilidad a través de las lesiones del epitelio ruminal, llegan al torrente sanguíneo y pueden desencadenar un shock endotóxico.

Vacas que sobreviven los efectos sistémicos iniciales de la acidosis ruminal pueden presentar complicaciones por severas ruminitis micóticas (Radostits et al., 1994). En conclusión la lesión fundamental en la acidosis ruminal aguda es la acidosis sistémica y el principal riesgo para la salud es la muerte aguda.

4.2 Acidosis Ruminal Sub Aguda (SARA)

Definida como períodos de moderada depresión del pH ruminal (5-5.5), con una duración del cuadro por semanas sin llegar a ser crónico, ya que cuando se recupera el nivel de consumo y disminuye la producción láctea, disminuye la proporción de CNE ofrecida en la ración (Garret et al., 1999; Nordlund et al., 1995). El ácido láctico no se acumula considerablemente en el fluido ruminal de las vacas lecheras afectadas con SARA (Oetzel et al., 1999); sin embargo, picos transitorios de lactato ruminal arriba de 20mM/dl pueden detectarse si las mediciones de lactato ruminal se realizan frecuentemente durante el día (Kennelly et al., 1999). La depresión del pH ruminal en el ganado lechero con SARA es debido aparentemente por la acumulación total de ácidos grasos volátiles (AGV) y no por la acumulación de ácido láctico (Oetzel et al., 1999). La información en Feedlots de carne apoya esta conclusión (Brittton y Stock, 1987). Definir el síndrome clínico que resulta de un bajo pH ruminal como subagudo sigue la clasificación propuesta originalmente por Radostits et al. (1994).

Si bien la acidosis ruminal aguda y sub aguda se deben a prácticas alimentarias con cantidades excesivas de concentrados, con bajos niveles de forrajes fibrosos, SARA procede de una ingesta continua de estos forrajes durante un periodo prolongado, más que a la exposición súbita sin una adaptación adecuada. Por otro lado, en el ganado lechero se habla de SARA y no de acidosis crónica, probablemente por encontrarse expuesto a períodos breves de bajo pH ruminal, normalmente entre el parto y aproximadamente 5 meses después del parto. Fuera de este período, el riesgo de sufrir SARA es muy bajo (Garry y McConnell, 2010; Oetzel, 2000). Otros autores definen esta condición como acidosis ruminal crónica o

subaguda indistintamente (Garry, 2002; Owens et al., 1998; Rebhun, 1995). Oetzel (2000) considera inapropiado el término subclínico para caracterizar a los cuadros de SARA ya que el rodeo exhibe signos clínicos específicos, aunque la manifestación de estos signos ocurra semanas o meses después de las lesiones ocasionadas por el bajo pH ruminal.

La población microbiana ruminal puede adaptarse a raciones altas en granos, encontrándose grandes cantidades de organismos que usan y producen lactato. El efecto global de la adaptación se produce con un aumento de la población fermentadora de almidón y glucosa y la merma de la población celulolítica lo que se traduce en una rápida fermentación de los alimentos ingeridos. Esto ocurre por la mayor disponibilidad de almidón que es el sustrato de preferencia de las bacterias amilolíticas, las cuales tienen tasas de crecimiento mayores a las celulolíticas y están mejor adaptadas a desarrollarse en ambientes con bajos pH, como ya se mencionó anteriormente. El ácido láctico no se acumula, ya que es metabolizado adicionalmente por las bacterias. La velocidad de fermentación produce en su lugar concentraciones elevadas de AGV's, con el resultado de un líquido ruminal moderadamente ácido con valores de pH comprendidos normalmente entre 5 y 5.5. El tamaño de partícula de este tipo de raciones y su elevada tasa de fermentación tampoco favorecen la producción de saliva, uno de los principales buffer ruminales, debido a la disminución conjunta de la tasa de masticación y de rumia (Garry y McConnell, 2010).

Junto con las altas concentraciones de AGV's y el bajo pH, tiene lugar un cambio en las proporciones de AGV en el líquido ruminal. Mientras las proporciones de ácido butírico y propiónico aumentan, disminuyen las de acetato, a su vez, los primeros estimulan la proliferación del epitelio de las papilas ruminales (Garry y McConnell, 2010). A diferencia de las células abomasales, las células de las papilas ruminales carecen de un mucus protector y son vulnerables al pH bajo, lo que ocasiona una rumenitis, que cuando el proceso se exagera, puede progresar a paraqueratosis (epitelio excesivamente queratinizado), erosión e incluso ulceración del epitelio ruminal (Garry, 2002). Este cambio se asocia con una disminución de la absorción de los AGV y aumento de la susceptibilidad a traumatismos e inflamación (Garry y McConnell, 2010). El daño epitelial y el bajo pH parecen responsables de la inflamación de los tejidos profundos de la pared ruminal y a su vez permiten la penetración de bacterias con diseminación al hígado. Se pueden producir formaciones de abscesos hepáticos en un gran número de los animales afectados, aunque no presenten signos clínicos, suelen mostrar productividad reducida (Garry y McConnell, 2010). Si las bacterias no colonizan el hígado, o si la infección hepática se propaga por vía sanguínea, se pueden encontrar infecciones en pulmones, válvulas cardíacas, riñones o articulaciones (Norlund et al., 1995; Nocek, 1997).

El diagnóstico de SARA es de tipo poblacional. El rodeo puede presentar disminución del apetito e hipomotilidad ruminal. Las altas concentraciones ruminales de

AGV's pueden inhibir la motilidad ruminal al estimular los receptores inhibidores del epitelio. La ingesta finamente triturada también induce a menos motilidad ruminal activa al carecer de volumen físico. La población bacteriana que es metabólicamente muy activa presenta poca diversidad, es decir, hay un menor número de especies y a su vez la población protozoaria se deprime por el bajo pH. Como resultado se encuentra un entorno microbiano menos estable y más susceptibles a cambios en la dieta (Garry y McConnell, 2010).

Se han atribuido otras dolencias patológicas a SARA, entre ellas, laminitis crónica y necrosis cerebro-cortical. Estas dolencias pueden incluirse por parte de algunos sub productos tóxicos de la fermentación ruminal acida como endotoxinas y sulfuro de hidrógeno (Garry y McConnell, 2010). La asociación de SARA con problemas podales ocurre con la evolución en el tiempo del cuadro, así como de un compromiso sistémico (Nocek, 1997), pero el mecanismo preciso por el cual SARA aumenta el riesgo de laminitis no ha sido correctamente caracterizado en bovinos. Podría estar relacionado con trastornos vasculares, asociado con un aumento de histamina que produce vasodilatación y estasis sanguínea (hipoxia y anoxia) que puede llevar a necrosis del tejido. Pero la información de algunas investigaciones apoyan el concepto general de que la laminitis es el resultado de la fermentación anormal de carbohidratos en el intestino posterior en vez de la acidosis ruminal por si sola (Oetzel, 2007).

5 Factores que afectan el pH ruminal

5.1 Tipo y cantidad de hidratos de carbono consumidos

El pH ruminal cae debajo de los niveles fisiológicos cuando los rumiantes consumen excesivas cantidades de carbohidratos rápidamente fermentables (no fibrosos) sin una adecuada adaptación. La capacidad inherente de cada vaca para amortiguar y absorber los ácidos determina cuánto caerá el pH ruminal después de una comida que contiene grandes cantidades de carbohidratos fermentables (Oetzel, 2007).

Los riesgos que presentan el ganado lechero y los animales de feedlots de desarrollar acidosis ruminal son similares. Si bien los primeros suelen alimentarse con dietas que presentan mayor cantidad de forraje y fibra comparadas con las dietas suministradas en un feedlot, esto es contrarrestado por los mayores consumos de materia seca que se observan en las vacas lecheras. De Brabander y col. (1999) encontraron que el incremento del consumo de material seco está asociado con altos requerimientos de estructuras físicas en la dieta, siendo similar el consumo de carbohidratos no estructurales entre las dos clases de rodeos (Tabla 2). La prevalencia de acidosis ruminal en los rodeos lecheros es la misma, probablemente, que en los rodeos de Feedlots (Oetzel 2007).

Tabla 2 Comparación de dietas y pH ruminal en novillos de Feedlots y vacas en lactancia.

Ítems	Novillos en Feedlot^s	Vacas en lactancia^b
Animales experimentales, peso Kg	Novillos Holstein, ~450Kg.	Vacas Holstein, ~640Kg.
Estado de alimentación o lactancia	Ganancia compensatoria	Lactancia temprana
Diseño del estudio	2x2 diseño crossover	4x4 cuadrado latino
pH ruminal promedio diario ^c	6	5.9
Forraje en dieta, %	26.3	52.9
Consumo diario de MS, Kg	13.1	21.3
Fibra detergente neutro, %	20.0	28.9
Carbohidratos no estructurales, ^d %	58.3	36.9
Carbohidratos no estructurales, Kg/día	7.7	7.9

^a información adaptada de (Prentice et al., 2000). ^b Información adaptada de (Oetzel y Nordlund, 1998). ^c pH ruminal fue medido una vez por minuto a través de un electrodo ruminal permanente y promediado diariamente. ^d Carbohidratos no estructurales son el resultado de restarle al 100% el % proteína cruda, %FDN, % extracto etéreo y % de cenizas.

En la tabla 2 se puede observar que el consumo de una vaca lechera es de casi 9kg/MS por encima del consumo de un novillo de feedlot esto se puede explicar en parte por el mayor tamaño corporal del bovino de leche, sin embargo se observa que el pH de los novillos es igual aunque el porcentaje de carbohidratos no estructurales es mayor. Si analizamos los consumos de carbohidratos no estructurales en Kg/día vemos que las vacas lecheras consumen más o menos igual cantidad que los novillos, lo que explicaría que las vacas lecheras tengan tasas de riesgos similares de SARA que los novillos, aunque la fibra detergente neutra sea mayor. No sería la proporción de CNE en la dieta, sino la cantidad total lo que se consideraría como factor de riesgo para la disminución del pH.

El consumo diario de carbohidratos fermentables depende tanto del total de consumo de materia seca como de la densidad de los carbohidratos no estructurales en la dieta. Consumos elevados en vacas lecheras, están asociados con bajos pH ruminales (Fig. 18). Esto sugiere que la acidosis ruminal se vuelve un problema común, a medida que el progreso genético y el mejor manejo en la alimentación permiten al rodeo aumentar su ingesta (Oetzel y Nordlund, 1998).

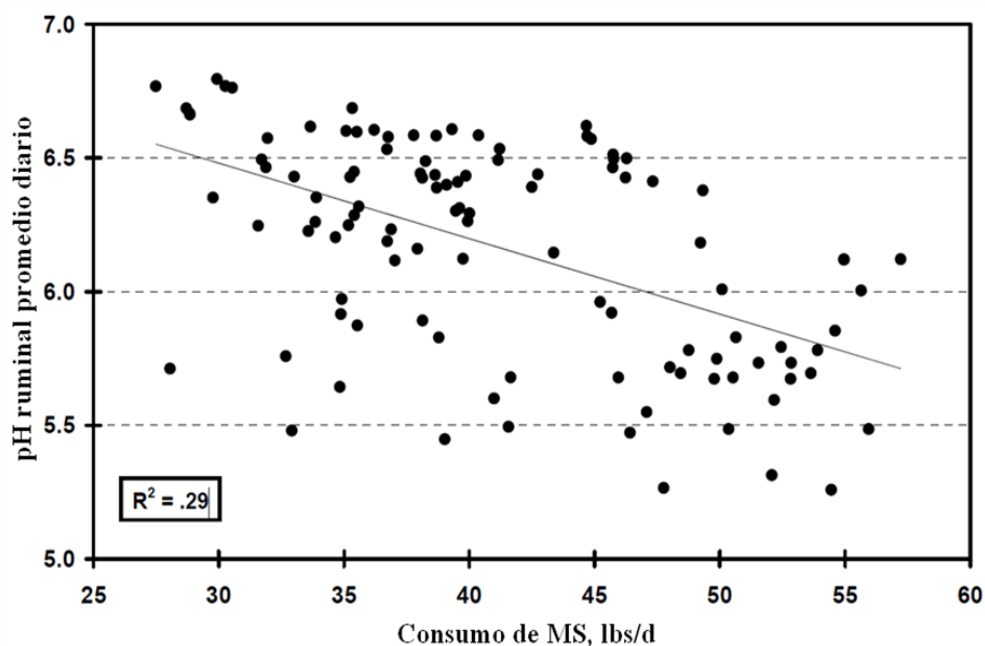


Fig. 18 Efectos del consumo de material seca sobre el pH ruminal en la lactancia temprana de vacas Holstein (Oetzel, 1997).

Información clínica de los rodeos de investigación de la universidad Wisconsin-Madison también concluyeron que el consumo total de materia seca es el mayor determinante del pH ruminal.

5.2. Periodo de lactancia y Frecuencia de alimentación diaria

Con el progreso en días en lactancia (DEL), se observa un aumento en el riesgo de presentar un bajo pH ruminal (Fig.19). Este patrón obedece, seguramente, al patrón de aumento de ingesta de materia seca esperado por vacas hasta el tercer mes en lactancia aproximadamente y por las características de composición de las dietas para lograr mayores producciones (Krause y Oetzel 2006).

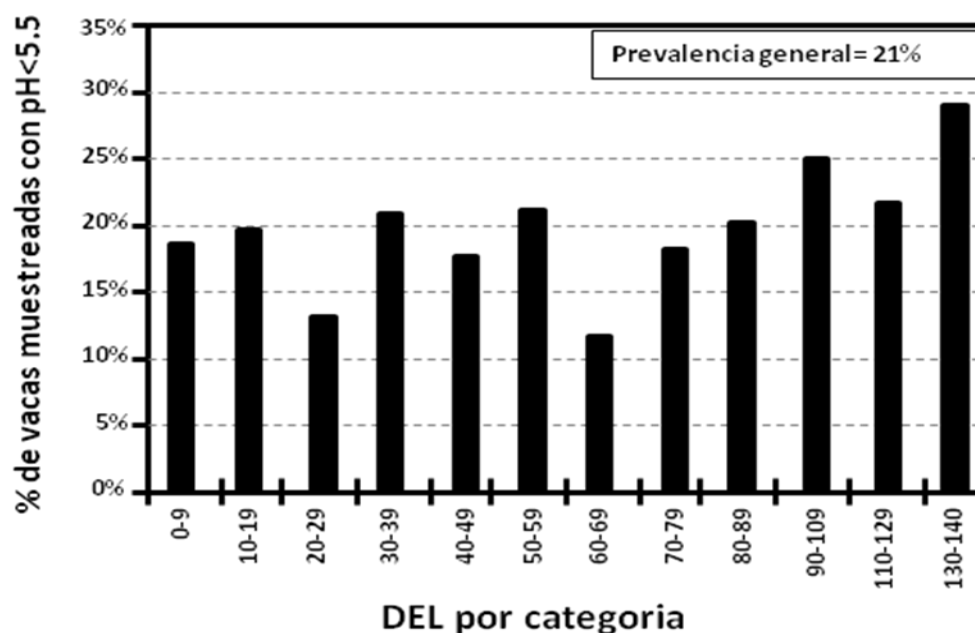


Fig. 19 Relación entre bajos pH ruminales y días en lactancia.

El estudio consistió en determinar un pH ruminal de riesgo (<5.5), medirlo y relacionarlo con los días en lactancia (DEL) de 766 vacas en 61 rodeos. Muestras fueron recolectadas por ruminocentesis 6-10 hs post ingesta en vacas lecheras comerciales de Wisconsin, USA, (Oetzel et. al. Información sin publicar). El punto más bajo de pH usualmente se alcanza entre 6 y 8 hs después de alimentar al rodeo con TMR versus 2-4 hs post ingesta en rodeos alimentados por TMR (ración totalmente mezclada).

De la figura 19 se destaca que la presencia de un pH ruminal menor de 5.5 se relacionaría con la presentación de acidosis ruminal especialmente el cuadro subagudo. Se observan tres momentos en los cuales la presencia de vacas con $\text{pH} < 5.5$ es mayor, uno es a los 30-40 DEL donde la prevalencia de animales con $\text{pH} < 5.5$ es mayor al 20%, otros son a los 90-110 DEL y 130-140 DEL, donde la prevalencia de vacas con $\text{pH} < 5.5$ fue de 25% y 30 % respectivamente para cada período. Hay que tener en cuenta que el hecho del pH ruminal bajo en un momento, especialmente luego de la ingesta no puede explicar todo el

cuadro clínico, siendo muchas veces el tiempo en el cual el pH se mantiene por debajo de los niveles óptimos más relevante que valor menor obtenido (Oetzel, 2007).

Durante el transcurso del día el pH ruminal varía considerablemente, y es el resultado principalmente de la cantidad de carbohidratos fermentecibles que se consuman en cada comida. Pueden tener variaciones de 0,5 a 1,0 de unidades de pH en períodos de 24 hs (Dado y Allen, 1993; Nocek et al., 2002). Esto representa un cambio 5 a 10 veces la concentración del ion hidrógeno en el rumen (el pH es la inversa logarítmica de la concentración de hidrogeno).

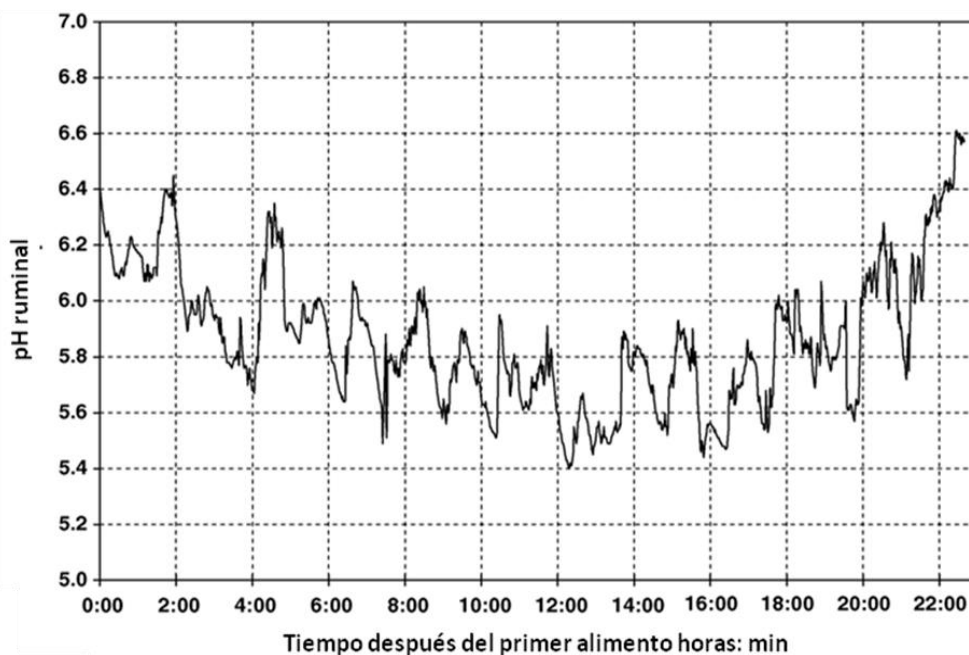


Fig. 20 Variación del pH ruminal post ingesta en un periodo de 24hs. Krause y Combs (2003)

En la Fig. 20 muestra la variación diaria de pH ruminal en vacas de lactancia media, alimentadas con maíz seco y partido y silaje de alfalfa finamente picado (2.7mm) con una relación 61:39 en dos comidas con un intervalo de 12 horas. El promedio de pH ruminal en el día fue de 5,7 con un desvió estándar de 0.25 y un rango de 5.4 a 6.6 (Krause y Combs 2003).

Las investigaciones plantearon que el problema de bajo pH podría solucionarse alimentando más veces por día (seis tomas en vez de dos veces, Fig. 21). Contrariamente a lo que se pensaba, esta medida de manejo, agrava el problema ya que aumenta el consumo de materia seca y puede bajar aun más el pH (Oetzel and Nordlund, 1998).

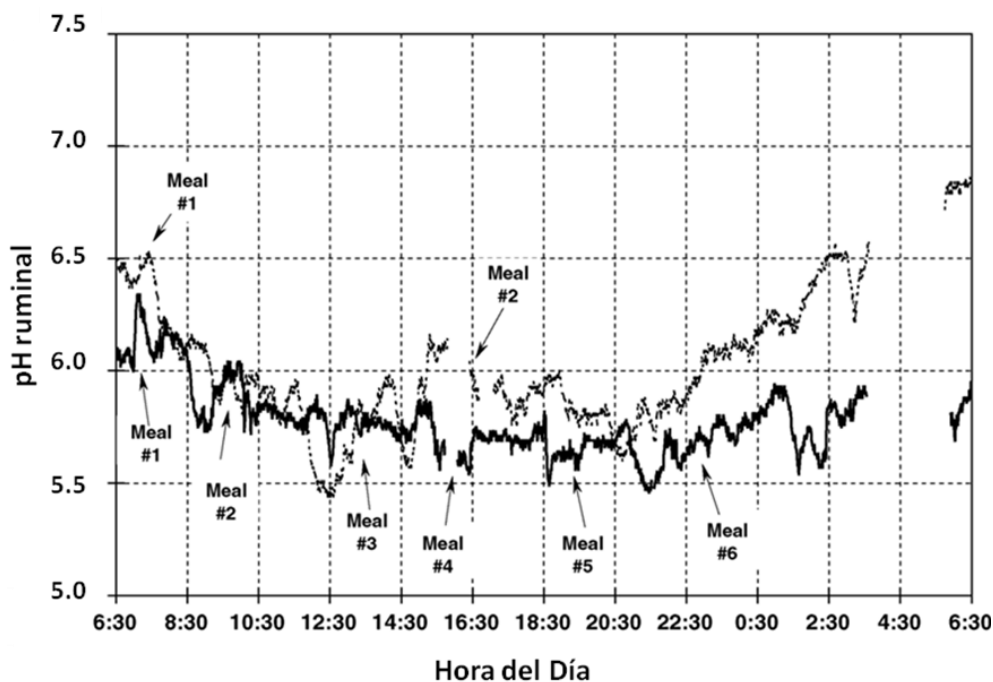


Fig. 21 Variación del pH ruminal post ingesta, en vacas en lactancia temprana alimentadas dos veces al día (línea punteada) y seis veces al día (línea sólida). Oetzel y Nordlund (1998).

En la Fig. 21 tomaron medidas de pH ruminal en un período 24 hs a vacas alimentadas dos veces al día y se repitió la experiencia en las mismas vacas alimentadas seis veces al día. El pH ruminal promedio obtenido fue de 6 en las vacas alimentadas en dos tomas, mientras que fue de 5.7 en las mediciones de las vacas alimentadas seis veces. Con respecto al consumo de materia seca observaron un aumento de 17.4 a 21.3 kg /MS/d cuando se incremento el numero de comidas (Oetzel y Nordlund, sin publicar 1998).

La cantidad de ingestas diarias y el intervalo entre cada una de ellas producen variaciones en los rangos de pH ruminal. Cuando se supera las 2 comidas diarias el tiempo que el pH ruminal se encuentra por debajo de los valores fisiológicos aumenta.

Las enormes fluctuaciones en las mediciones del pH ruminal luego de la ingesta dificultan la evaluación del mismo, aún en trabajos de investigación. La recolección continua de mediciones de pH ruminal a través de la introducción de electrodos, provee la mayor información posible acerca de los cambios post ingesta del pH. Woodford y Murphy (1988) reportan que diferentes dietas pueden resultar en pH ruminal medio similar pero con diferentes áreas dentro de los valores de pH.

5.3 Tamaño de partícula y fibra efectiva

Krause y col. (2002) encontraron que factores dietarios como el tamaño de partícula del forraje y el nivel de carbohidratos fermentables en el rumen afectaban más el tiempo en el que el pH se encontraba por debajo del valor mínimo deseado (5.8), que el pH ruminal medio. Esto enfatiza la importancia de considerar no sólo el pH ruminal promedio, sino también las variaciones post-prandiales al evaluar el efecto de las dietas sobre la salud ruminal. El monitoreo continuo del pH ruminal, puede dilucidar la incógnita de si el pH ruminal medio, el valor de pH más bajo o el período de tiempo durante el cual el pH ruminal está por debajo del umbral es decisivo para la importancia de SARA (Krause et al., 2002).

Para establecer la relación que existe entre el tamaño de partícula, fibra efectiva y pH ruminal primero debemos definir la fibra detergente neutra y su implicancia en la salud ruminal.

Fibra es un término poco preciso e incluye los compuestos de la pared celular, celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina, ácido fenólico, etc. y existen tres determinaciones para medirla en los alimentos: fibra cruda, fibra detergente ácida y fibra detergente neutra. De las tres determinaciones, la que representa mejor la composición química de la pared celular es la FDN la cual incluye celulosa, hemicelulosa y lignina. Así mismo, la FDN es el parámetro que mejor define los carbohidratos estructurales y no estructurales en las plantas (NRC, 2001). Las funciones de la fibra son aporte carbohidratos estructurales y mantener un correcto funcionamiento ruminal, que no comprometa la salud de la vaca. La cantidad mínima recomendada (25%) estimula la masticación salivación y rumia y por lo tanto contribuye con mantener el pH dentro de los rangos fisiológicos (5.8-6) (NRC, 2001).

Si bien, el valor mínimo recomendado de FDN según el NRC (2001) es de 25% donde el 75 % del valor de FDN provenga de forraje, se ajusta a situaciones particulares, donde el rumiante está consumiendo forraje (silo de maíz o alfalfa) con el adecuado tamaño de partícula, el grano de maíz seco es la fuente de almidón y las dietas son dadas como TMR.

Por lo anterior, se puede establecer que para el aporte necesario de fibra no solo hay que tener en cuenta la composición química, sino también la presentación física (tamaño de partícula).

Las características físicas de la fibra están dadas por su tamaño y largo, determinando la permanencia en el rumen, tasa de rumia y tasa de salivación (Bach y Calsamiglia, 2006).

El concepto que engloba tanto las características físicas como químicas es la fibra físicamente efectiva. Ésta se entiende como la porción de FDN que presenta un largo de partícula capaz de estimular correctamente la masticación (Sudweeks et al., 1981; Mertens,

1992, 1997). Mertens (1997) concluyó que para mantener el pH ruminal por encima de 6,0 y la grasa de la leche por encima de 3,4% durante el inicio de la lactancia, era necesario un aporte de 22% de MS de la ración en forma de fibra físicamente efectiva (feFDN). La feFDN determina la capacidad de un ingrediente para estimular la secreción de saliva y aumentar el pH ruminal. La saliva representa el 30-40% del poder tamponante del rumen (Allen, 1997), y que la secreción salivar aumenta durante la rumia y la ingestión (Maekawa et al., 2002). Aunque la aplicación y funcionalidad de esta medición no han sido validadas por el NRC, 2001, Beauchemin y col. (2003) concluyeron que una variación en feFDN entre 22% y 42% de la MS no tenía respuestas significativas sobre la producción de leche o contenido de grasa. A su vez, el tamaño de partícula presentaría una relación débil con el pH ruminal, aunque el tamaño de partícula si presenta una relación con el tiempo de masticación, importante ya que influye en el consumo y en la producción de leche.

La relación entre el tiempo de masticación y capacidad buffer o pH ruminal no es muy clara. Sin embargo, muchas investigaciones indican que existe la relación aunque esta sea débil cuando se expresa por unidades de kg/MS (Bach y Calsamiglia, 2006).

Se puede asumir que mientras mayor sea el tiempo de masticación, mayor sería el flujo de saliva. Por lo tanto aumentaría la cantidad de buffers endógenos, lo que colabora con mantener el pH ruminal dentro de valores fisiológicos (Allen, 1997). El efecto global de la composición física y química de la dieta, mas el tiempo de masticación y rumia conjuntamente con el flujo de saliva, la absorción y flujo de los ácidos en el rumen podrían explicar la mayoría de las variaciones en el pH ruminal (Allen, 1997).

5.4 Regulación del pH ruminal

El bovino generalmente es capaz de mantener el pH ruminal dentro de los márgenes fisiológicos por medio de la regulación del consumo (detener la ingesta o no), buffer endógenos (saliva), adaptación microbiana (desarrollo de bacterias utilizadoras de ácido láctico), y aumentando las tasas de absorción de los AGV's. Sin embargo, cuando el consumo de enormes cantidades de carbohidratos fermentecibles resulta en mayor producción de ácidos que los que el sistema puede manejar, la compensación del pH ruminal falla y éste baja drásticamente (Krause y Oetzel, 2006).

El valor medio de pH ruminal no se ve afectado drásticamente por los cambios en la dieta, pero si se ve muy afectado el valor más bajo de pH ruminal (Tabla 3).

Kennelly et al. (1999), utilizaron 4 vacas Holstein canuladas (100 DEL) donde examinaron los efectos de las proporciones de concentrados: forrajes y uso de bicarbonato de sodio sobre la ingesta, las características de fermentación ruminal, los coeficientes de digestibilidad y el rendimiento de leche. Se implementó un diseño 4x4 cuadrado latino, con

arreglo factorial 2x2 de tratamientos por un período de tres semanas. Los 4 tratamientos fueron una dieta con proporciones de concentrados a forraje de 50:50 y otra que presentaba una relación de 75:25 concentrado a forraje a la cual se les agregaba o no el buffer al 1.2% MS. El componente forrajero de la ración fue una mezcla 50:50 de alfalfa con cebada y silo de triticale. Las dietas fueron ofrecidas ad libitum, como TMR. Solo se analizaron los resultados de las dietas sin buffer.

Si bien los valores de consumo de MS no sufrieron variaciones significativas, al igual que los valores de pH ruminal medio (6.2 vs 6.1), para vacas que consumen dietas con el 50% MS y 75%MS de concentrados, si se observó una gran diferencia cuando se comparan los valores de pH ruminal más bajos alcanzados (6.1 y 5.6) para cada dieta.

Tabla 3 Efecto del nivel de concentrado de las dietas sobre el consumo pH medio y pH mínimo en vacas Holstein.

<i>ITEMS</i>	<i>Concentrado intermedio (50%)</i>	<i>Concentrado alto (75%)</i>
ADF, % de MS	17.4	12.1
NDF, % de MS	35.4	31.0
Consumo de MS lbs./día	44.7	44.2
pH ruminal medio	6.28	6.13
pH ruminal más bajo	~6.1	~5.6

Información adaptada de Kennelly et al., 1999.

Krause and Combs (2003) obtuvieron resultados similares al reemplazar parcialmente silo de alfalfa con silo de maíz. El pH ruminal medio no sufrió grandes variaciones, mientras el punto más bajo de pH si disminuyó significativamente. Estas respuestas son consistentes con la naturaleza de la regulación del pH ruminal (Krause y Oetzel, 2006).

5.5 Absorción de los AGV del ambiente ruminal

La capacidad del rumen de absorber rápidamente los ácidos orgánicos formados durante la fermentación contribuye enormemente a la estabilidad del pH ruminal. Es muy difícil para el tejido periepitelial utilizar los AGV que ya se han absorbido desde el rumen. Sin embargo, este proceso de absorción puede ser un cuello de botella importante para la capacidad de remover los ácidos del rumen (Oetzel 2007). Si la capacidad de absorber se ve comprometida, los AGV's comenzaran a acumularse haciendo bajar el pH.

Las velocidades de absorción de los AGV's, tienen relación directa con su producción y relación inversa con el pH, evitando su acumulación en el rumen. La absorción

ruminal de los AGV's por vía paracelular es insignificante, dependiendo mayoritariamente de la vía transcelular, ingresando a la célula por dos mecanismos diferentes. Uno de ellos, por difusión simple mecanismo electroneutro que no utiliza transportador, pero requiere que los AGV's se encuentren en su forma no disociada y por lo tanto liposoluble. En su forma disociada los AGV's poseen cargas eléctricas negativas, que producen las atracciones del extremo positivo de las moléculas de agua. Estas se comportan como un bipolo, creándose una capa de hidratación alrededor de los AGV's que le quitan liposolubilidad y aumentan sus diámetros, impidiendo así que puedan atravesar las membranas celulares. A pesar de ser evidente que los AGV's se absorben en parte en su forma no disociada, en el rango de pH normal del rumen, éste proceso es difícil de explicar debido al concepto de pK (indica el valor de pH en el cual un compuesto está 50 % disociado y 50 % no disociado). El pK de los AGV's más prevalentes en el rumen es de aproximadamente 4,6. El rango de pH fisiológico del rumen, no debería ser inferior a 5,5, por lo cual la mayoría de los AGV's están en su forma disociada y por lo tanto, no podrían ser absorbidos por difusión (Bergman, 1990; Relling y Mattioli 2003). Para posibilitar su absorción, el pH debe descender sobre la superficie de las células del epitelio ruminal. Para ello, las células epiteliales secretan hidrogeniones (H^+), los cuales obtienen a partir de combinar CO_2 y agua para formar bicarbonato e H^+ que será contratransportado por Na^+ .

El otro mecanismo de absorción de los AGV's es más directo y no requiere del bombeo de H^+ , sino de un contratransportador que ingresa el AGV^- intercambiándolo con bicarbonato (CO_3H^-) en la superficie apical. De esta forma este mecanismo complementa el aporte de CO_3H^- que realiza la saliva (Fig. 22).

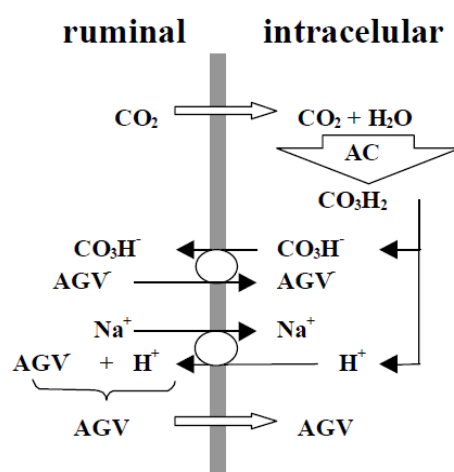


Fig. 22 Mecanismos de absorción de AGV en rumen (Relling y Mattioli, 2002).

La absorción pasiva a través de las células de la pared ruminal es favorecida por la estructura histológica que presentan las papilas ruminales, que son proyecciones hacia la luz

ruminal y permiten aumentar la superficie de contacto y absorción (Oetzel, 2007). El desarrollo en longitud de estas papilas ruminales estaría asociado a dietas con altas concentraciones de grano (Dirksen et al., 1985); Esto, presuntamente, aumentaría la capacidad de absorción, al aumentar la superficie y por consiguiente evitaría la acumulación de ácidos en el rumen. Cuando la capacidad de absorción de estas células se ve disminuida, por ejemplo en rumenitis crónica con fibrosis, se vuelve mucho más difícil para el rumiante mantener estable el pH ruminal (Oetzel, 2007).

5.6 Producción de lactato

A medida que baja el pH, además de aumentar la absorción de los AGV's que es beneficioso, es opacado por el incremento de la producción de lactato. *Streptococcus bovis* comienza a desarrollarse en estas condiciones, fermentando glucosa a lactato como intermediario de la síntesis de propiónico por la vía del acrilato. Esto tiene un efecto negativo, ya que el lactato presenta un pK más bajo que los AGV's (3.9 contra 4,8). En condiciones normales la vía del acrilato produce aproximadamente el 30% del propiónico total.

A un pH de 5,0 el lactato está 5,2 veces menos disociado que los otros AGV's. Como resultado, el lactato permanece más tiempo en el rumen y contribuye con el ciclo vicioso de caída del pH ruminal. Las bacterias fermentadoras de fibra se encuentran severamente inhibidas por la disminución del pH y empiezan a aparecer bacterias utilizadoras de lactato, como *Megasphaera eldenii* y *Selenomonas ruminantium* (Goad et al., 1998). Estas bacterias son capaces de convertir el lactato en otros AGV's, los cuales pueden ser protonados con mayor facilidad y así absorbidos. La mayoría del lactato puede ser metabolizado por estas bacterias (Counotte y Prins, 1981).

Cuando el pH ruminal cae por debajo de 5,0, el crecimiento de las bacterias utilizadoras de lactato son inhibidas, por lo cual la producción de lactato supera su utilización (Russell y Allen, 1983). Al mismo tiempo, la población utilizadora de lactato es más lenta que *S. bovis* (Mackie y Gilchrist, 1979) y algunos productores puros de lactato, como *Lactobacillus*, pueden empezar a proliferar en este bajo pH ruminal (Oetzel, 2007). Esto quiere decir que los mecanismos de conversión de lactato en el rumen pueden no desarrollarse lo suficientemente rápido como para estabilizar completamente el pH ruminal.

Períodos de alto pH ruminal, que ocurren, por ejemplo, durante la privación del alimento, pueden inhibir el crecimiento de ciertas poblaciones utilizadoras de lactato, que son sensibles a esta condición, dejando al ecosistema ruminal susceptible a desarrollar cuadros severos de acidosis ruminal (Mackie y Gilchrist, 1979). Además de perturbar el balance microbiológico, la privación de alimento causa que el rumiante ingiera en exceso

cuando es reintroducida la ración. Esto genera un doble efecto que favorece aún más la caída del pH ruminal. Por ello, ciclos de privación y reintroducción de alimento pueden ser uno de los más importantes factores de riesgo que lleven a desarrollar SARA.

El bajo pH ruminal durante SARA reduce el número de especies de bacterias en el rumen, aunque la actividad metabólica permanece alta (Garry, 2002). La población protozoaria se encuentra también limitada a medida que el pH ruminal se acerca a 5,0 (Quinn et al., 1962). Como resultado de la pérdida de especies bacterianas y protozoarias, la microflora ruminal se desestabiliza y pierde capacidad de mantener normal el pH durante los períodos en los que se cambia la dieta (Garry, 2002). Por lo que un cuadro de SARA pre-existente puede incrementar el riesgo de acidosis ruminal aguda eventualmente cuando el bovino consume excesivas cantidades de grano accidentalmente.

5.7 Mecanismos fisiológicos para regular el pH ruminal. Sistema buffers endógenos

Los rumiantes poseen un complejo sistema para tamponar ácidos orgánicos producidos durante la fermentación de los carbohidratos en el rumen. Si bien el efecto buffer sobre el pH ruminal es relativamente pequeño, este puede hacer la diferencia entre salud y enfermedad de vacas lecheras que consumen grandes cantidades de carbohidratos fermentables (Firkins, 1997). Las vacas producen grandes cantidades de buffers que llegan al rumen por saliva. La saliva es el principal buffer del pH ruminal porque es rico en sodio, potasio, bicarbonato y fosfatos (Van Soest, 1994), contribuyendo con la mitad del bicarbonato total presente en el rumen (Owens et al., 1998). El problema es que el estímulo para producir saliva no es la disminución del pH, si no la cantidad de saliva producida, está casi enteramente determinada por la cantidad de FDN, tamaño de partícula y feFDN presente en la dieta ya que estos tienen la capacidad de estimular la masticación y tiempo de rumia (Maekawa et al., 2002).

Un rumiante puede producir entre 100 y 180 litros de saliva por día la que posee un pH de 8,1 a 8,3 y su producción depende del tiempo total de rumia (entre 0 y 10 hs) que a su vez, depende del contenido de material grosero en la dieta (Relling y Matioli 2007).

5.8 Atonía Ruminal

La caída del pH ruminal adicionalmente desencadena una atonía ruminal completa. Esta respuesta disminuye la absorción de ácidos lo que los mantiene lejos de las paredes del rumen. En este punto el equilibrio acido-base sistémico puede perderse y desarrollar una acides metabólica sistémica por lo que al evitar la absorción de ácido láctico el animal

prioriza todo el organismo a expensas del rumen. A partir de ahora el pH desciende de forma abrupta debajo de 5,0. En este punto el animal se encuentra en un cuadro de acidosis ruminal aguda, el cual pone en peligro su vida. La vaca está "apostando su vida" que el rumen se quedará sin su suministro de carbohidratos fermentables antes de que ocurra la muerte. Esto puede o no ser cierto, dependiendo de la carga de carbohidratos consumidos antes de recibir la señal para dejar de comer (Oetzel, 2007).

6 Métodos para diagnosticar SARA

6.1 Diagnóstico

La SARA es una afección de difícil diagnóstico y es considerada un problema del rodeo ya que los signos clínicos y paraclínicos se manifiestan, y deben interpretarse, a nivel de grupo y no individual.

6.1.1. Modificación del patrón de consumo: la alteración del patrón de consumo de materia seca es uno de los signos más característicos de la acidosis ruminal (aguda o subaguda). En conjunción con una acidosis ruminal, suele haber un aumento de la osmolaridad ruminal como consecuencia de la acumulación de AGV's y restos celulares de las bacterias. Cuando la osmolaridad ruminal asciende por encima de los 350 mOsm/l, se produce un marcado descenso del consumo (Carter y Grovum, 1990). Una vez que el pH y la osmolaridad ruminal se restablecen (por falta de sustrato las producciones de ácidos cesan) los animales vuelven a comer y suelen hacerlo con una mayor voracidad debido al mayor intervalo de tiempo que ha transcurrido desde la última ingestión. No obstante, este signo característico, es muy fácil de observar con animales en estabulación fija, pero no siempre es detectable cuando los animales están en estabulación libre, ya que no todos los animales muestran la misma ciclicidad y por lo tanto el consumo diario medio del rebaño puede no verse alterado (Bach, 2002).

6.1.2 Evaluación de la materia fecal: la evaluación de la materia fecal puede brindar evidencias indirectas de acidosis aguda y subaguda. Comúnmente la materia fecal de animales con SARA son más líquidas, de aspecto brillante, pueden presentarse cilindros de mucus, olor agridulce y pueden contener burbujas de gas e importantes cantidades de fibras y granos sin digerir (Bach, 2002).

Para evaluar las deyecciones, se puede utilizar un score fecal, el cual califica la materia fecal con una escala del 1 al 5. Heces líquidas fluidas y verdes se califican con el score 1 y puede significar según el caso enfermedad, acidosis o consumo de pasturas con poca fibra detergente neutro y excesos de nitrógeno. El score 2 describe heces sin forma definida las que se observan en vacas recién paridas, en pastoreo, o con SARA. El score ideal es el 3, donde las heces se observan concéntricas, de 3,8-5 centímetros de alto y pegajosas. Los scores 4 y 5 se observan con consistencia y deshidratación creciente pueden presentarse en algunas vacas secas, en dietas bajas en proteínas y altas en fibra, o dietas a base de pasturas y cuando las vacas se encuentran enfermas (Castillo, 2007).

6.1.3 Variación del porcentaje de grasa: Existe una clara correlación entre el pH ruminal y la concentración de grasa en leche (Fig. 23) aunque presenta inconsistencias y es compleja (Mertens, 1997; Oetzel, 2007). No obstante, la depresión de la grasa en leche no

debe ser considerada como un síntoma inequívoco de acidosis ruminal, ya que puede estar dada por otras causas (ej. raza, estación del año, DEL, etc.), las cuales deberán ser evaluadas y descartadas antes de atribuirle la disminución de grasa a causas dietarias o problemas metabólicos. Por el contrario, la presencia de vacas con acidosis puede no ser detectada a través de la grasa del tanque, y es preciso realizar pruebas individuales para monitorear la evolución de la grasa (Bach, 2002).

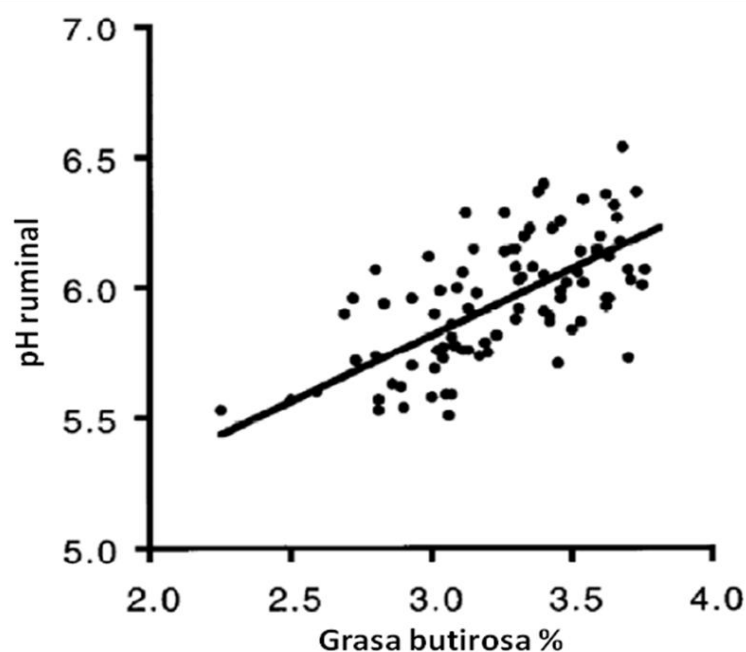


Fig. 23 Relación entre el pH ruminal y la concentración de grasa en leche (Mertens, 1997).

En general, las vacas con acidosis suelen tener niveles de grasa, un punto de porcentaje inferior a la media de la concentración de grasa en la leche del tanque. Por ejemplo, si el tanque tiene un 3,7% de grasa butirosa, las vacas con alta probabilidad de padecer acidosis son las que tienen menos de 2,7% de grasa en leche. Asimismo, un buen signo de acidosis es la producción de leche con más de 0,4 puntos de porcentaje de proteína por encima de la concentración de grasa en leche (ej., grasa butirosa 2,7%, proteína, 3,2%) (Bach, 2002).

Esta inversión se podría explicar desde la regulación hormonal en el período de la lactancia temprana. En este período los requerimientos energéticos crecientes y el consumo insuficiente estimulan el catabolismo de los tejidos para cumplir con la demanda de nutrientes. El tejido adiposo es la principal reserva de energía que se moviliza. Cuando a éstas vacas se les ofrece raciones ricas en CNE aumenta la cantidad total de AGV's y se modifican las proporciones molares de los mismo, lo que resulta en un aumento relativo de propiónico. Este aumenta en sangre y por la vía gluconeogénica hepática aumenta la

concentración de glucosa. Ambos compuestos estimulan la liberación de insulina, la cual, inhibe la lipólisis en el tejido adiposo y favorece la movilización de ácidos grasos hacia el mismo tejido. Esto puede resultar en menos movilización de ácidos grasos hacia la glándula mamaria y disminución del porcentaje de grasa butirosa conjuntamente con un descenso de la disponibilidad de los precursores de grasa para la glándula mamaria, pues la insulina estimularía su uso por parte del tejido adiposo (Bach, 2002; Marichal et al., 2010). Está es una de las teorías, denominada glucogénica o de la insulina, explicaría la disminución de la grasa.

Otra teoría que explicaría la disminución de grasa butirosa en la leche es la de la deficiencia de acetato o butirato. Esta teoría fue expuesta fue por Tyznik y Allen (1951). La teoría sostiene que debido a un alta inclusión de concentrado y una baja inclusión de forraje en una ración la producción de acetato en el rumen disminuye hasta el punto de que limita la producción de grasa en la glándula mamaria (el acetato es la principal fuente para la síntesis de grasa en la mama). Sin embargo, esta teoría está basada en la errónea suposición de que la acidosis resulta en menores producciones de acetato. En condiciones de acidosis, es cierto que se generan altas concentraciones molares (mol/100 mol total de AGV) de propionato y bajas concentraciones molares de acetato, pero la cantidad (mM) total de acetato suele ser superior, pues la cantidad total de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen es superior con las raciones altas en concentrado debido a que inducen una mayor fermentación (Grant et al., 1990).

Más tarde Van Soest y Allen (1959) propusieron que el factor limitante en estos casos era la producción de β -hidroxibutirato, sin embargo el hecho de que el β -hidroxibutirato sólo representa el 8% del total de las fuentes de carbonos para la producción de grasa en la glándula mamaria (Palmquist et al., 1969) ofrece poco soporte a esta teoría.

Actualmente la teoría más aceptada para explicar la disminución del porcentaje de grasa butirosa en la leche es la teoría de la biohidrogenación. Esta teoría fue expuesta hace ya más de 30 años por Davis y Brown (1970). Estos autores observaron que cuando la concentración de *trans*-C18:1 aumentaba en leche el porcentaje de grasa en leche disminuía. Recientemente, se ha descrito una clara correlación entre la cantidad de *trans*-10, C18:1 y la cantidad de *trans*- 10, *cis*-12 CLA en leche (Griinari et al., 1999). Además, estos autores demostraron una clara relación entre la concentración de *trans*-10, *cis*-12 CLA en leche y el porcentaje de grasa en leche.

Esta relación entre *trans*-10, *cis*-12 CLA y el *trans*-C18:1 es la que explica las observaciones descritas por Davis y Brown hace más de 30 años. Bajo condiciones de acidosis la biohidrogenación de las grasas disminuye notablemente por lo tanto, las probabilidades de aumentar el flujo de estos ácidos grasos parcialmente hidrogenados y con

potente acción inhibidora de la síntesis de grasa en la glándula mamaria aumenta (Kalscheur et al., 1997).

El isómero de ácido linolénico conjugado (CLA) es un potente inhibidor de la síntesis de novo de AG en la glándula mamaria. Se ha demostrado que bastan 3,5 g/día de este compuesto a nivel ruminal para producir una reducción de un 25% en la producción de grasa butirosa. El mecanismo propuesto consiste en que el CLA producido en el rumen pasa al intestino delgado donde es absorbido y en la glándula mamaria deprime la expresión de enzimas lipogénicas y por ende, la síntesis de novo de AG (Salado et al., 2015).

6.1.4 Determinación del pH ruminal: la evaluación del pH ruminal es un muy buen estimador de la salud y funcionamiento del órgano, siendo 5,6 el valor mínimo umbral más usado y por debajo del cual se diagnostica acidosis ruminal. Se puede determinar de manera sencilla mediante una ruminocentesis o punción del saco caudoventral del rumen. El lugar de punción debería ser alrededor de 15-20 cm caudoventrales a la última costilla usando una aguja 16 G de unos 12 cm de longitud. Como mínimo se debería muestrear 15-20% de los animales y en general, se considera que un rebaño tiene problemas de SARA cuando el 25% de los animales muestreados muestran un pH por debajo de 5.5. Si el 25-30% de los animales testados está entre 5,6 y 5,8 es una indicación de un alto riesgo de SARA (Bach, 2002). El mejor momento para obtener una muestra del líquido ruminal es entre las 5 y 8 horas después de haber ofrecido la ración, o entre las 2 y 4 horas después de haber ofrecido el concentrado en aquellas explotaciones que no dispongan de carro mezclador ya que allí es cuando se espera que el pH sea más bajo (Herrera-Saldana et al., 1990; Bach, 2002). La fístula ruminal y la sonda bucoesofágica son otras formas diferentes de obtener una muestra de licor ruminal (Bach, 2002). Estas metodologías tienen ventajas y desventajas, siendo la ruminocentesis el método más aceptado por los animales y muy usado en condiciones de campo (Herrera-Saldana et al., 1990). Se mencionan tres de las pruebas, sedimentación y flotación, reducción de azul de metileno y determinación de pH por tiras reactivas, siendo esta última la más utilizadas en la evaluación del pH del licor ruminal. Se realiza fácilmente en el campo mediante el empleo de tiras reactivas de bajo costo, que permiten una aceptable seguridad mediante la lectura en base a modificaciones de color y comparación con una escala.

6.2 Secuelas ocasionadas por episodios de SARA

SARA es un proceso mórbido que tiene manifestaciones clínicas a largo plazo, estas secuelas pueden manifestarse semanas a meses luego de ocurrida la injuria en el rumen. Se pueden mencionar la depresión del consumo y los abscesos hepáticos que reducen el

rendimiento productivo del rodeo, pero la principal secuela es la laminitis, la cual representa el problema de bienestar animal más importante según la opinión pública (Von Keyserlingk et al., 2009). Además, explica pérdidas económicas significativas (Hutjens, 2004). Por la importancia que tienen los problemas locomotores en los sistemas lecheros se desarrollaran en mas detalle más adelante.

6.2.1 Depresión del Consumo: Los rumiantes poseen un sistema ampliamente desarrollado para mantener el pH ruminal dentro de los valores fisiológicos 5.5 a 7.0 que comprenden la regulación del consumo de alimentos y líquidos, secretar buffers endógenos (saliva), adaptación microbiana (desarrollo de bacterias utilizadoras de ácido láctico), y aumentar la tasa de absorción de AGV. Esto se desarrolló para evitar el efecto que provoca la ingesta variable de carbohidratos sobre la producción de ácidos que resulta de la fermentación de los mismos. La primera respuesta frente al comienzo de la caída del pH es dejar de consumir. El bajo pH ruminal también puede estar asociado con el aumento de la osmolaridad del líquido ruminal, lo cual inhibe aún más el consumo de alimento (Carter y Grovum, 1990). La inflamación del epitelio ruminal (rumenitis) jugaría un papel en la depresión el consumo cuando progresa la acidosis ruminal (Oetzel 2007).

La depresión del consumo por la caída del pH está regulada por dos tipo de receptores presentes en el rumen: a) receptores de pH, ayudan a mantener dentro del rango fisiológico al pH. A medida que desciende el pH, se incrementa la motilidad ruminal, lo cual favorece el mezclado y por lo tanto la absorción de los AGV, que al abandonar el retículo-rumen permiten que el pH vuelva a elevarse. Sin embargo, cuando el pH abandona el rango normal la depresión motora es grave. b) Receptores de presión osmótica. No son tan sensibles como los de pH. Mantienen la presión osmótica del rumen normalmente igual a la tisular (alrededor de 300 miliosmoles/litro). Usualmente se mantiene una presión osmótica de 280 mOsm/l, que se incrementa post-prandial por la mayor producción de AGV's. Cuando ésta presión es mayor, por medio de una compleja respuesta vagal se inhibe la motilidad del rumen posteriormente a la suspensión de la ingesta (Relling y Mattioli 2002).

La depresión del consumo no solo depende del pH ruminal mínimo, el tiempo en el que el pH ruminal permanece en esos valores es una variable importante. Esta es la razón por la cual no se desarrolla atonía ruminal luego de las comidas en todos los animales. Aún se desconoce el umbral preciso de pH ruminal que provocarían la reducción sutil o la variación de la ingesta en el ganado lechero (Krause y Oetzel 2006).

6.2.2 Abscesos hepáticos: son cápsulas de tamaños variables con contenido purulento. Pueden estar localizadas en la superficie o en el interior del hígado. Cuando la acidosis ruminal se acentúa y prolonga en el tiempo, la rumenitis evoluciona en paraqueratosis ruminal y la pared pierde integridad, lo que aumenta su permeabilidad, y

permite el ingreso de agentes patógenos, como *Fusobacterium necrophorum*. Estas bacterias, a través del torrente sanguíneo (vía porta), colonizan el hígado iniciando un proceso infeccioso que lleva a la formación de abscesos. La Fig. 24 muestra la pared ruminal y el hígado de una vaca normal y otra con paraqueratosis consecuencia de un cuadro de acidosis. Los abscesos hepáticos tienen una repercusión indirecta, pues su presencia en el hígado altera la capacidad metabólica de este órgano y por lo tanto compromete la producción del animal (Bach, 2002). La pérdida de producción debido a la presencia de abscesos hepáticos depende del número y del tamaño de éstos. Los abscesos eventualmente desaparecen y son sustituidos por tejido conectivo (inutilizando parte del tejido hepático). Los síntomas más comunes asociados con la presencia de abscesos hepáticos son un descenso de la ingestión y de la eficiencia de conversión de la energía para la producción. La única manera práctica de evitar la aparición de los abscesos hepáticos es conservar la integridad de la pared ruminal evitando pH demasiado bajos. Alternativamente, se pueden usar antibióticos como la penicilina, tetraciclinas y macrólidos, aunque no resulta práctico debido a la pérdida económica que supone el descartar la leche de los animales tratados (Bach, 2002). Si bien éstos son hallazgos de matadero, una vez que el animal desarrolla estas lesiones nunca llega al nivel productivo esperado por lo que secar las vacas no soluciona el problema.

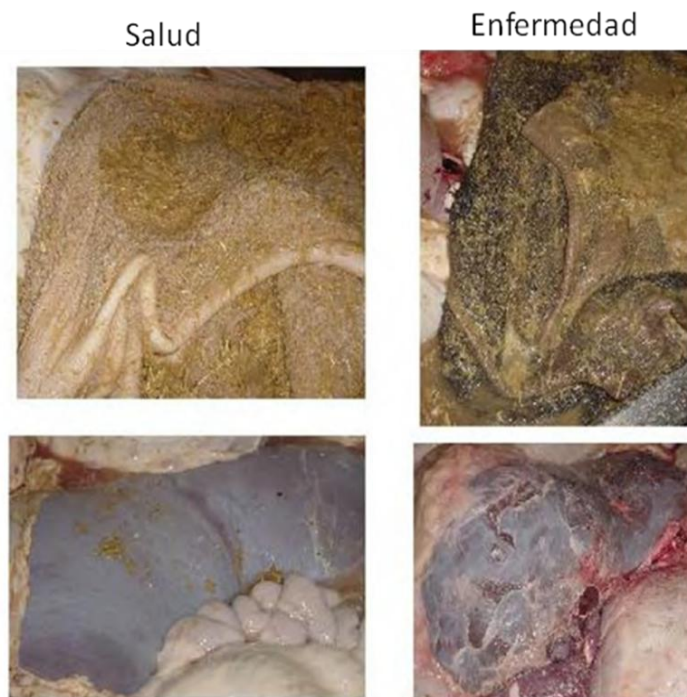


Fig. 24 Pared ruminal e hígado de una vaca normal y otra con paraqueratosis consecuencia de un cuadro de acidosis

6.2.3 Trastornos locomotores ocasionados por episodios de SARA. *Laminitis*: es una enfermedad producida por numerosos factores, entre los que se encuentra la acidosis

ruminal. Una de las teorías desarrolladas para describir la relación entre SARA y laminitis, es la liberación de mediadores químicos de la inflamación debido a la inflamación de la pared ruminal, sumado a la absorción de toxinas por la lisis de la población bacteriana y el aumento de la permeabilidad de la pared ruminal. Desde la pared ruminal, dañada por el bajo pH, se absorben sustancias vasoactivas como la histamina y endotoxinas derivadas de los cuerpos de las bacterias ruminales que van pereciendo conforme el pH disminuye. La combinación de altas concentraciones de histamina y el incremento de las toxinas inducen un aumento de la presión sanguínea en el interior de la pezuña de las vacas (Vermunt y Greenough, 1994). Algunos de los vasos de la pezuña terminan por dañarse, ocasionando edemas, y en muchas ocasiones hemorragias, que con el tiempo acaban deformando el corion de la pezuña y ocasionando gran dolor a la vaca. La aparición de líneas o bandas oscuras en la superficie de las pezuñas representa un registro histórico del estado nutricional, stress y acidosis a lo largo de la vida de la vaca, consecuencias de las isquemias generada por el daño vascular y el edema (Bach, 2002).

Sin embargo, también puede ser causada por muchos otros factores que no están relacionados con la acidosis ruminal, tal es el caso de fracturas, barro, hematomas de pezuña e infecciones como pododermatitis, entre otras. Los efectos de SARA sobre el aparato locomotor quizás no puedan manifestarse por 2 a 3 meses luego del disturbio (Donavan et al., 2004).

Las pérdidas por laminitis ocasionadas por SARA no estarían ligadas únicamente a las reducción de la eficiencia de conversión del alimento en leche, sino que se relacionan con problemas podales, permanecen más tiempo en reposo (recostadas) en comparación con la actividad, aumentan el tiempo requerido para llevarlas a la sala de ordeño, y enmascaran los signos de estro (inquietud, mayor actividad y monta), por lo que tendrán menos posibilidades de quedar preñadas y ser eventualmente rechazadas (Gomez y Cook. 2010).

7 Pautas y manejo nutricional para prevenir acidosis ruminal sub aguda

La producción de ácidos mediante la fermentación en el rumen necesitan estar en equilibrio entre la neutralización y remoción de los mismos. De esta forma se podría conseguir una buena condición ruminal y óptima producción. Ésta relación entre la producción de ácidos y los requerimientos de fibra han sido revisados en detalle por Allen (1997). Cuando el balance entre los AGV producidos y la tasa de remoción/neutralización no es lograda, la vaca se encuentra en riesgo de sufrir SARA. Consecuentemente, las causas de SARA en los rodeos lecheros se pueden agrupar en 3 grandes categorías: a) buffer ruminal inadecuado, causado por fibra dietaria inadecuada o fibra física inadecuada, b) consumo excesivo de carbohidratos fácilmente fermentables, y c) inadecuada adaptación ruminal a dietas altamente fermentables. Estas categorías serán expuestas de forma individual a continuación, pero es importante recordar que para la evaluación del riesgo de SARA en el rodeo lechero, estas categorías deben ser analizadas en forma conjunta.

7.1. Inadecuada capacidad buffer del rumen

Los rumiantes presentan un sistema muy desarrollado para amortiguar los ácidos orgánicos producidos durante la fermentación ruminal de los carbohidratos. Aunque el efecto total de amortiguación del pH ruminal es relativamente pequeño, es sumamente importante en el equilibrio entre salud y enfermedad de las vacas lecheras que consumen grandes cantidades de carbohidratos fermentables (Firkins, 1997). La capacidad buffer ruminal presenta dos componentes: los buffers endógenos y los provenientes de la dieta.

Los buffers endógenos son producidos por las vacas y secretados al rumen principalmente por vía de la producción de saliva y tienen capacidad para neutralizar los ácidos producidos durante la fermentación, pudiendo así reducir el riesgo de SARA (Balch, 1971). Los rumiantes requieren fibra en sus dietas para maximizar la producción y mantener la salud a través de un ambiente ruminal estable. La habilidad de la fibra para estimular la masticación y la rumia ha sido investigada, estableciendo su relación con el flujo de buffers salivares (Emery et al., 1960; Bailey y Balch, 1961). Las partículas de fibra necesitan ser más largas que aproximadamente 3.8 centímetros para contribuir a la formación de la capa fangosa, la cual determina la rumia. La rumiación promueve mucha actividad de masticación y por lo tanto la secreción de grandes cantidades de saliva en el rumen. El pH ruminal aumenta notablemente durante los episodios de ruminación (Allen, 1997). Alimentos fibrosos contienen mayor fibra efectiva que las pasturas frescas, por lo que podrían tener mayor capacidad de estimular la producción de saliva (Bailey y Bach, 1961).

La fibra como se mencionó anteriormente, puede evaluarse por su composición química (FDN), sus características físicas (tamaño de partícula) o como una combinación de ambas (feFDN).

No obstante, el nivel de fibra dietario no es empleado usualmente como único indicador, dado que la fermentación ruminal de la dieta es variable, (Nocek y Tamminga, 1991). Allen (1997) concluyó que la fibra ejerce su efecto sobre el pH ruminal a través del incremento del flujo de saliva, mediante el incremento del tiempo de masticación (TCT) y dilución de los compuestos fermentables en la dieta. El NRC (2001) sugiere que del nivel de FDN recomendado (25% de MS) en la dieta tenga una proporción mínima de forraje (75% de FDN), pero esta recomendación se aplica en casos puntuales donde la dieta presenta tamaños de partículas adecuados, la fuente de almidón sea predominantemente grano de maíz seco y las dietas sean administradas como TMR. El valor recomendado de feFDN no se incluyó en los lineamientos ya que al momento de la publicación, los estudios carecían de valores estadísticamente probados para feFDN en las dietas. Mertens (1997) introduce el concepto de fibra físicamente efectiva (feFDN) la cual relaciona principalmente el tamaño de partícula de la fibra con sus características composicionales. La actividad de masticación suele usarse para determinar feFDN. Aún contando con lineamientos sobre la cantidad y tipo de fibra dietaria y fibra del forraje, es importante comprender que los requerimientos de fibra de los rumiantes son afectados por diversos componentes que interactúan dentro de la dieta, así también como se almacena y procesa el alimento (Krause y Oetzel, 2006). En Europa, se ha desarrollado un sistema que busca incorporar ambas características de los alimentos (ej., contenido de fibra, tamaño de partícula y efecto acidótico) junto con el manejo alimenticio, con el objetivo de formular raciones para vacas lecheras, que permitan un medio ambiente ruminal donde se pueda realizar la fermentación de los alimentos (De Brabander et al., 1999).

El silaje de maíz es un forraje popular en las dietas de vacas lecheras en Argentina como lo es en Estados Unidos, mientras que en Europa y Australia-Asia está empezando a usarse cada vez más. No obstante, la inclusión de una gran proporción del silaje de maíz en las dietas de lactancia pone a las vacas en mayor riesgo de SARA en comparación con las dietas que contienen más heno seco o silaje de heno, ya que presentan distintos tipos y calidades de FDN (Krause y Oetzel, 2006). Aun así, se debe tener en cuenta el momento de corte de la planta y el tamaño de picado. Generalmente el momento ideal de picado del maíz para silo es cuando el cultivo alcanza un contenido total de materia seca entre el 30 y 35% y que el grano contenga 1/2 de almidón soluble, llamado línea de leche, siendo conveniente un tamaño de picado donde el 50% de la masa a ensilar contenga partículas de 2 a 0,8 cm. (Piñeiro, 2006). El silaje de maíz varía considerablemente en su fibra digestible, diseño genético (distintas variedades de híbridos) (Oba y Allen, 1999), el nivel de crecimiento y

condiciones de corte (Bal et al., 1997). Los test que estiman la digestibilidad de la fibra pueden ser muy útiles para identificar silajes que puedan tener tasas inusualmente altas y extensas de fermentación ruminal. Desafortunadamente, la mayoría de estas pruebas requieren el molido de la muestra, lo que interfiere con la evaluación precisa de la forma física de los silajes de maíz. Se puede utilizar como indicador de fibra física el separador de partículas Penn State, tomando muestras al azar de materia verde que está siendo embolsada (Krause y Oetzel, 2006).

El separador de partículas Penn State cuenta de tres cribas y una bandeja inferior que se acoplan una encima de la otra de mayor tamaño de poro a menor, las tres primeras presentan distintos tamaños de poros rectangulares, mientras que la última es lisa, para utilizarlo se toma una muestra del forraje o dieta y se la pesa 1,5 Kg, luego se coloca en la primera criba y se tamiza el material; de esta forma se obtienen por cada criba cuatro alícuotas de la muestra. Todo el material que permaneció en la primera criba, tendrá un tamaño de partícula mayor a 19 mm, el material que permaneció en el segundo cajón, tendrá un tamaño de partícula entre 19 mm y 8 mm, en el tercer cajón los poros miden 1,18 mm quedando partículas desde 8 mm hasta 1,65 mm y por último quedará todo el material que presente menos de 1,65 mm de tamaño (Heinrichs y Kononoff, 2002). Las indicaciones que se observan en la tabla 4, se basaron en tres experimentos usando vacas en lactancia temprana alimentadas con henolaje de alfalfa o silaje de maíz con o sin cascarilla de algodón (Heinrichs y Kononoff, 2002).

Tabla 4 Recomendaciones para el tamaño de partícula de forraje y TMR

Filtro	Poro (mm)	Partícula (mm)	Ensilaje de maíz	Henolaje	TMR
Criba superior	19.0	>19.0	3 a 8%	10 a 20%	2 a 8%
Criba media	8.0	8.0 a 19.0	45 a 65%	45 a 75%	30 a 50%
Criba inferior	1.18a	1.67 a 8.0	30 a 40%	20 a 30%	30 a 50%
Bandeja baja		<1.67	<5	<5	≤20

a Los poros son cuadrados, así que la abertura más grande es la diagonal, que es de 1.67 mm. Esta es la razón por la que las partículas más grandes que pueden pasar por la Criba Inferior son de 1.67 mm de largo.

Por su parte el silaje de maíz, dependiendo de su procesamiento y confección, es complejo de administrar, ya que normalmente no aporta suficientes partículas largas a la ración totalmente mezclada (TMR siglas en inglés). Un picado muy largo en el silaje no es recomendado porque genera una fermentación heterogénea dentro del silo y aumenta el riesgo de que se eche a perder el mismo por contaminación con hongos (Kononoff et al.,

2003). Es una práctica común, la inclusión de heno seco picado o paja seca picada al TMR, que contiene una alta proporción de forraje como silaje de maíz, ya que aumenta el aporte de fibra en la ración. Sin embargo, el proceso de distribuir forraje seco en un TMR puede resultar dificultoso para conseguir una distribución homogénea en la mezcla y además para evitar que las vacas lo rechacen en el comedero, ya que aumenta la selectividad de las mismas (Krause y Oetzel, 2006).

En muchas áreas del mundo los forrajes no son las fuentes más baratas de nutrientes, y las fuentes de fibra no proveniente de forraje son usadas para proveer fibra y otros nutrientes. Tal es el caso de cáscarilla de maní, pulpa de remolacha seca, cascara de semilla de algodón, entre otras. Varios estudios han demostrado que productos fibrosos pueden reemplazar la FDN de los forrajes, sin afectar negativamente la producción de leche o la salud de las vacas (Clark y Armentano, 1997; Harminson et al., 1997). Una consideración importante al reemplazar forrajes con alimentos fibrosos de subproductos, es su potencial relativamente bajo para estimular la actividad de masticación, siendo su capacidad de mantener el pH ruminal 35% menos que la FDN que proviene de los forrajes (NRC, 2001). Firkins (1997) concluyó que la FDN de fuentes no forrajeras fue 60% menos efectiva en mantener la digestibilidad de la FDN en el tracto gastrointestinal que la FDN de los forrajes. Por su bajo contenido de lignina y gran cantidad de fibra potencialmente digestible, la FDN que proviene de los subproductos alimenticios se fermentará y pasará con mayor rapidez por el rumen que la fibra de origen forrajero (Garleb et al., 1988). Mientras menos fibra es retenida en el rumen, disminuirá el tiempo de rumia, masticación y flujo de saliva. Dietas que contienen subproductos alimenticios parecen requerir mayor cantidad de FDN (Krause y Oetzel, 2006).

El porcentaje de vacas rumiando en un rodeo en cualquier momento es usado por muchos nutricionistas como un indicador de salud ruminal. Un objetivo común es que al menos el 40% estén rumiando cuando los animales se encuentran en pastoreo (Eastridge, 2000). También ha sido confirmada por Maekawa et al. (2002) cuando se le suministró al libitum una ración TMR. Fundamentalmente, los autores encontraron que el tiempo de estas observaciones no era crítica para dietas TMR, aunque sí lo es cuando se administra el forraje y los concentrados de forma separada.

Otra forma de evaluar la capacidad de producir buffers endógenos de una dieta es a través de la medición de la distribución de las partículas largas en el TMR usando un separador de partículas de Penn State (Lammers et al., 1996; Oetzel, 2001). Dietas con menos de 7% de partículas largas (partículas retenidas en el cajón superior de los separadores) pondrían a las vacas en mayor riesgo de desarrollar SARA, particularmente si las dietas se encontraban al límite o por debajo (< 25%) del contenido de fibra recomendado (Grant et al., 1990; Woodford and Murphy, 1988). Incrementar el contenido de fibra química

de una dieta podría compensar un largo de partículas corto cuando el aporte de FDN es de una fuente de fibra efectiva (Beauchemin et al., 1994).

Dietas con abundantes (superiores al 15%) contenidos de partículas largas aportadas por forraje, paradójicamente pueden incrementar el riesgo de SARA. Esto ocurre cuando el largo de partícula disminuye la palatabilidad de la fibra y por consiguiente la vaca puede separarla y no consumirla. Leornardi y Armentano (2003) y Martin (1999, 2000) observaron un extenso grado de selectividad en comederos de dietas TMR tanto en estudios universitarios como en ensayos a campo, respectivamente. Los datos sobre el tamaño de partícula del TMR, restos en comedero y la ingesta de MS indicaron que las vacas eran selectivas contra las partículas gruesas.

Si la selectividad está destinada a ser un problema, existen opciones tales como alimentar con cantidades más pequeñas de TMR con mayor frecuencia; añadir heno de mayor calidad al TMR; o tener en cuenta el procesamiento de la fibra del heno. En el caso que la MS del TMR esté por encima del 55%, la inclusión de agua o agregado de alimentos húmedos puede reducir considerablemente la MS de la dieta al aumentar la adherencia de las partículas finas a las groseras (Krause y Oetzel, 2006).

El tamaño y frecuencia de las comidas puede ser un aspecto extremadamente importante del manejo nutricional de SARA. El pH ruminal disminuye después de las comidas, y la tasa de disminución del pH aumenta a medida que aumenta el tamaño de la comida y a medida que disminuye la concentración de FDN en la dieta (Allen, 1997). Aparentemente las vacas son capaces de auto regular su propio pH ruminal efectivamente si cuentan con acceso continuo y predecible al mismo TMR todos los días. Aún así, incluso los más moderados eventos de restricción pueden provocar que las vacas consuman más en la siguiente comida (Krause y Oetzel, 2006).

Las buenas prácticas de manejo de comederos, son críticas para la prevención de SARA, incluso cuando la fibra química, el largo de partícula y el procesamiento del grano son óptimos. Cuando los metros de comederos son insuficientes causa que no todas las vacas tengan acceso simultaneo y ocasiona que algunas puedan ingerir más cantidad o consuman más rápidamente y otras vacas coman menos, lo que se puede asociar a un aumento de la incidencia de SARA. Otros factores que pueden causar problemas de alimentación son el limitado tiempo de acceso al alimento, la restricción del mismo, y un horario de alimentación inconsistente. En los establecimientos al aire libre, el limitado espacio de comedero, infrecuente retiro de TMR y competencia en comederos son determinantes adicionales a la buena regulación del consumo de alimento (Krause y Oetzel, 2006).

El diseño del callejón de alimentación también puede tener efectos sobre el riesgo de SARA. La alimentación con TMR en un comedero de calle de 10 cm por encima del callejón

de las vacas es preferible a un comedero elevado ya que estimula el flujo de saliva y reduce la selectividad (Albright, 1993), Lo que podría reducir el riesgo de SARA.

Buffer dietario es la capacidad inherente de amortiguar ácidos y esto puede ser explicado por la diferencia catión-anión dietaria (DCAC) aunque esta medición no es una práctica habitual. Dietas altas en sodio (Na) y potasio (K) con relación a cloro (Cl) y azufre (S) presentan mayores concentraciones de DCAD el cual se calcula sumando los miliequivalentes de sodio y potasio y restándole la suma de los miliequivalentes de cloro y azufre que presenta una dieta por kg, valores altos de DCAD tienden a mantener un pH ruminal alto, y aumentando el consumo de MS y la producción de leche (Block and Sanchez, 2000; Sanchez et al., 1994). Un DCAD optimo para una lactancia tendría que rondar en valores de aproximadamente $+400\text{mEq/kg. (Na + K) - (Cl + S)}$ (Block and Sanchez, 2000). Mientras que para vacas en lactancia media el DCAD optimo es +275 a +400mEq/kg. La formulación de dietas con DCAD altos requieren típicamente la adición de buffers como bicarbonato de sodio o carbonato de potasio. Forrajes como la Alfalfa tienden a presentar DCAD mayores que el silaje de maíz, aunque depende considerablemente de la composición mineral del suelo en el cual desarrolle. Alimentos concentrados suelen tener bajos o negativos de DCAD, lo que incrementa aun más su potencial para causar acidosis ruminal debido a que presentan mayor contenido de carbohidratos fermentables.

Debido a que el cálculo de DCAD es complejo de realizar se suelen usar lineamientos estandarizados e incluir igualmente sales, como bicarbonato de sodio, en las dietas con alimentos típicamente deficientes.

7.2. Rol de los CNE en la fermentación ruminal.

El consumo excesivo de carbohidratos no estructurales (CNE) es la causa más frecuente de acidosis ruminal. Un importante objetivo nutricional en vacas lecheras, es alimentarla con la mayor cantidad de concentrados posibles, con el objetivo de maximizar la producción, sin causar disturbios ruminales (Krause y Oetzel, 2006). Esto es una tarea desafiante y difícil, ya que indicar la alimentación de altas cantidades, de glúcidos fermentables es muy similar al resultado de alimentar con abundante fibra, ya que merma el consumo de MS y producción de leche. Una distinción importante es que aun una ligera sobrealimentación de hidratos de carbono fermentables causa problemas de salud a largo plazo, mientras que una ligera subalimentación de los mismos reduce la cosecha de leche pero no compromete la salud de la vaca.

Controlar el nivel y tipo de CNE en la ración es esencial para prevenir acidosis ruminal. Carbohidratos no estructurales de la dieta incluyen ácidos orgánicos, azúcares, almidón y la fibra soluble como la pectina. Hoover y Miller (1995) sugieren restringir CNE a

35-40% de la MS de la dieta cuando los CNE son mayormente azúcares y almidón, o de 40 a 50% cuando las fuentes de carbohidratos predominantes son subproductos de la industria, como melaza. Lo cierto es que no existe una concentración óptima bien definida de carbohidratos no estructurales (CNE) en dietas de vacas lactantes (NRC, 2001). Para evitar acidosis y otros problemas metabólicos, la concentración máxima de CNE debería ser 30 a 40% de la MS de la ración (Nocek, 1997). Batajoo y Shaver (1994) concluyeron que para vacas produciendo por encima de 40kg de leche, la dieta debería contener más de 30% de CNE. Nocek y Russell (1988) sugirieron que 40% CNE era óptimo en dietas de vacas en lactancia que se basaban en silaje de alfalfa, silaje de maíz y alfalfa: silaje de maíz 50:50.

La concentración óptima de CNE no es igual en todas las dietas. En vacas de alta producción está relacionada con: a) el efecto del almidón altamente degradable en el rumen sobre la digestión de la fibra, lo que puede disminuir la digestibilidad de carbohidratos totales; b) la cantidad de CNE que reemplaza la FDN en la dieta, ya que esto puede afectar la producción de AGV, la rumia y la producción de saliva; c) el sitio donde se digiere el almidón d) consumo de materia seca y estado fisiológico del animal; y e) métodos de conservación y procesamiento utilizados para alterar la velocidad y extensión de la digestión de CNE (NRC, 2001). Varias revisiones (Theurer, 1986; Owens et al., 1997; Mills et al., 1999) documentan el rango de degradabilidad del almidón ruminal que va desde 30% hasta casi 100% según los diferentes tipos de granos y procesos a los que se los somete. Herrera-Saldana et al., (1990) clasificaron el rango de degradabilidades en diferentes fuentes de almidón, siendo en orden la avena mayor que, trigo, luego cebada, maíz y por último el sorgo. Lykos y Varga (1995) demostraron que la degradación efectiva en rumen (vacas canuladas) del maíz partido, maíz molido fino y maíz steam flaked eran de 44.4, 64.5 y 75.4 % respectivamente. Yang et al. (2000) reportaron que el pH ruminal medio decrece linealmente con el procesamiento creciente que sufrió el grano de cebada con los que se alimentaba a vacas lecheras. El análisis del tamaño de partícula de los granos es una prueba complementaria muy útil cuando se está evaluando el riesgo de SARA en el rodeo lechero (Krause y Oetzel, 2006).

Rodeos lecheros que suministran los alimentos de forma separada (ej. concentrados a corral y luego pastura) a menudo aumentan la porción de granos en la lactancia temprana con mayor rapidez que el aumento de consumo de MS esperado. Este manejo coloca a las vacas en un mayor riesgo de desarrollar SARA, ya que no pueden consumir suficiente forraje para compensar la ingesta extra de grano (Nordlund et al., 1995). La disminución del consumo de forraje pos parto temprano ha sido demostrado en rodeos donde también la inclusión de concentrados había aumentado rápidamente (Chase, 1993). Al modelar estas dietas en lactancia temprana en estos rodeos, revelan una deficiencia drástica en el contenido de fibra alrededor de la primera semana y hasta la tercera semana luego del parto (Fig. 25).

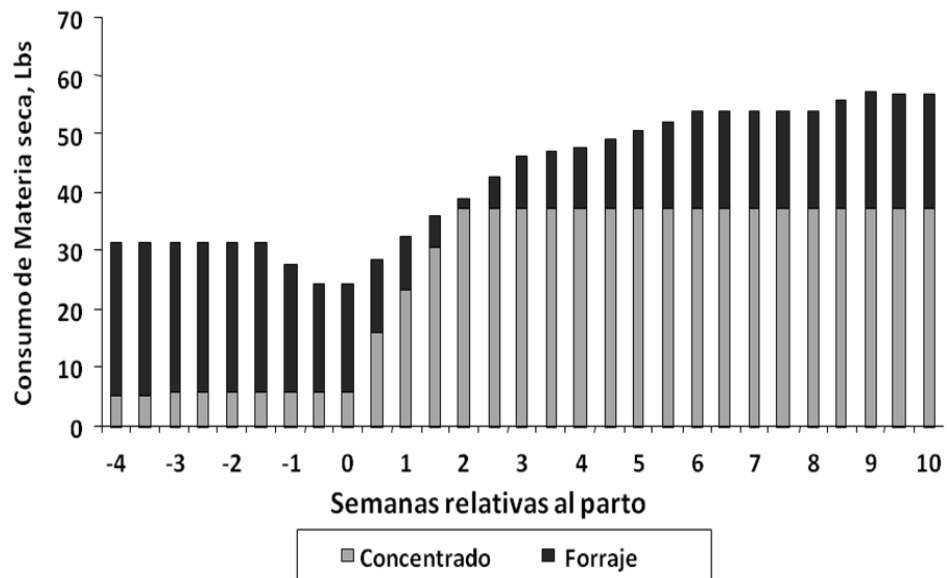


Fig. 25 Relación Forraje: Concentrado en dietas típicas de vacas lecheras en lactancia temprana.

Evaluar el contenido de carbohidratos fibrosos y no fibrosos en la dieta es importante como primer paso para determinar las causas de SARA en un rodeo lechero. Esto requiere una evaluación cuidadosa de la ración que realmente consumen las vacas. Las evaluaciones de las modelaciones de las dietas por el nutricionista del establecimiento por lo general tienen poco valor. Determinar la ración realmente consumida por las vacas, requiere una cuidadosa investigación de cómo se suministra el alimento, las cantidades de alimento entregado y los análisis de nutrientes actualizados de los alimentos entregados (Krause y Oetzel, 2006). El muestreo cuidadoso de los rechazos en comederos y el análisis químico del contenido tal como ofrecido de la ración totalmente mezclada, podrían resaltar un error desconocido en la composición del alimento o en el proceso de entrega del mismo alimento (Krause y Oetzel, 2006).

En grupos de vacas lecheras, es común la alimentación con consumo ad libitum (con un rechazo de alimento diario de 5%) con la meta de maximizar el potencial de consumo de MS y la cosecha de leche. Sin embargo, limitar el consumo ligeramente en el rodeo lechero con alto riesgo de SARA podría en teoría reducir este riesgo en periodos de sobreconsumo y SARA. Esto hace que sea muy desafiante para el personal que alimenta los grupos de vacas lecheras, limitarles ligeramente, sin dejar que los comederos estén sin alimento de calidad más de 4 horas por día aproximadamente. Esto se puede alcanzar, pero solamente con un adecuado largo de comedero y excelente manejo de alimentación en los mismos. Quizás alimentar ad libitum, con rechazos de alimento del 5% diario es la mejor opción para la mayoría de los rodeos lecheros. Proporcionar rechazos de alimentación diarios se aplicaría especialmente en los grupos pre y postparto, porque los animales tienen un rápido cambio

fisiológico y porque las vacas individuales tienen un rápido cambio de consumo de MS justo antes y después del parto (Oetzel, 2007).

La alimentación de vacas con TMR en vez de con alimentos por separados evita alimentar grandes comidas de grano, lo que reduce el riesgo de acidosis (Hernandez-Urdaneta et al., 1976). Esta observación es respaldada por Østergaard y Gröhn (2000), quienes encontraron que alimentar concentrados de forma separada del forraje, y no la relación concentrado: forraje dentro del TMR, era lo que se asociaba con el incremento de la ocurrencia de enfermedades metabólicas. La alimentación con TMR permite mayor control sobre la relación en la dieta entre concentrado y forraje que realmente es consumido por las vacas. Maekawa et al. (2002) encontró que las vacas alimentadas con una relación pautada de 50:50 concentrado forraje (en base MS) en realidad consumían una relación cercana de 60 concentrado y 40 de forraje cuando estos dos alimentos se suministraban por separados. Además, las vacas presentaban un pH ruminal mínimo menor que aquellas alimentadas con TMR sosteniendo la misma relación entre concentrado y forraje. En consecuencia, una ventaja de la alimentación con TMR's parece ser la habilidad de prevenir los bajos pH ruminales asociado a un aumento en el consumo de concentrados.

Las vacas de primera parición tienen consumos de materia seca menores que las adultas debido a que su peso corporal es menor, y la producción de leche también es menor, se podría asumir que presentarían menores riesgos de desarrollar SARA. Sin embargo, la información clínica de investigación de la universidad de Wisconsin-Madison demuestra que las vacas primíparas presentarían mayor riesgo (fig. 26). Las vacas primíparas muestreadas tuvieron una mayor prevalencia de SARA (29% contra 19% en vacas de segunda o más lactancias) y también parecían estar en menor riesgo de SARA en la lactancia temprana que las vacas mayores. Estos datos son de observaciones clínicas solamente, y deben interpretarse con precaución. Vacas primíparas quizás necesiten más tiempo para aprender a autoregular su consumo de alimento cuando consumen dietas con elevada energía. Este problema se intensifica si a su vez las primíparas se encuentran en el mismo grupo que las vacas adultas. Este concepto está respaldado por los resultados de Krohn y Konggaard (1979), que encontraron que las vacas primíparas alimentadas por separado pasaban entre 10 y 15 % más tiempo comiendo y consumían entre 0,5 a 2,0 comidas más por día, que las que se encontraban con el rodeo general. Adicionalmente, vacas de primera lactancia pasan más tiempo comiendo y quizás tengan conductas de alimentación más lentas que las vacas multíparas (Campling y Morgan 1981; Beauchemin y Rode, 1994).

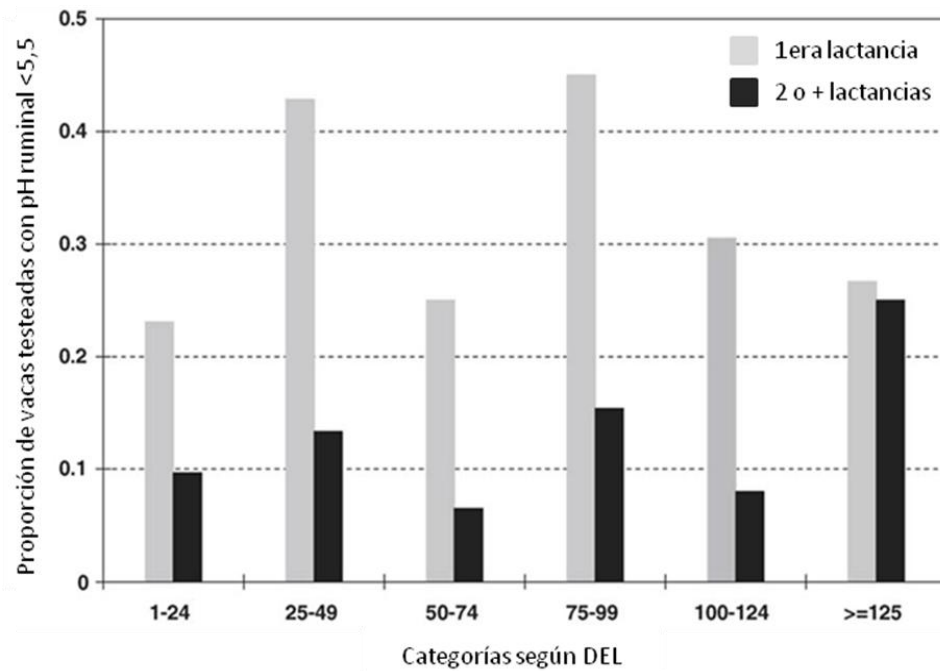


Fig. 26 Riesgo de bajo pH ruminal (<5.5) por días en lactancia (DEL) y por número lactancia (Oetzel et al., sin publicar).

En la Fig. 26 se muestran los resultados de un estudio realizado en 397 vacas en 36 rodeos, las muestras fueron recolectadas por ruminocentesis 6-10hs post alimentación en Wisconsin, EEUU, entre 1996 y 2003 con el objetivo de establecer una relación entre el riesgo de bajo pH ruminal, días en lactancia y numero de lactancias; Probablemente la relación no resultó estadísticamente significativa por lo cual no se publicó, aunque se podría observar que el rodeo más susceptible a desarrollar SARA serían las vacas de primer lactancia luego del parto y hasta los 100 días en lactancia, mientras que el riesgo es similar para todos los rodeos sin importar el numero de lactancia recién superados los 125 DEL.

7.3. Inadecuada adaptación ruminal a la inclusión de mayor cantidad de carbohidratos altamente fermentables en la dieta

La adaptación a dietas ricas en carbohidratos fermentables aparentemente tiene dos aspectos claves, la adaptación de la flora ruminal y el largo de las papilas ruminales (Dirksen et al., 1985). Estos principios sugieren que el incremento de alimentación a base de granos durante y al final del periodo de seca debería reducir el riesgo de SARA en vacas durante la lactancia temprana. No obstante, un estudio en rodeos comerciales alimentados con TMR no encontró que la alimentación en el periodo de seca tenga efectos sobre el pH ruminal en la lactancia temprana (Garrett et al., 1997). Más aún, el pH ruminal fue más bajo en vacas de 106 días promedio en lactancia comparado con vacas con un promedio de 15 días en

lactancia. Este resultado sugiere que el consumo alto de MS es más importante dentro de los factores que desencadenan SARA con respecto a los problemas de adaptación ruminal en los rodeos lecheros. Además, estudios controlados en vacas alimentadas con alimentos compuestos no encontraron efectos positivos del aumento de la alimentación de grano durante el período seco, sobre el pH ruminal temprano en la lactancia o en la ingestión de MS (Andersen et al., 1999). Estos resultados sugieren que el impacto práctico de la adaptación ruminal con respecto al pH ruminal quizás tenga un pequeño o incluso ningún efecto en las vacas lecheras, y particularmente cuando las vacas son alimentadas con TMR luego del parto dependiendo el destino de las vacas recién paridas.

En contraposición, otros autores, como Donovan et al. (2004) compararon dos dietas preparto, una de baja concentración energética (1.5 t Mcal/kg EN; 47.2% FDN) y otra alta en concentración energética (1.65 Mcal/kg EN; 36.8% FDN) y dos dietas post parto, una con bajas y altas concentraciones energéticas (PostLo 1.70 Mcal/kg EN y 36.8% FDN; PostHi 1.77 Mcal/kg EN y 31.4% FDN). Las raciones preparto se suministraron 3 semanas hasta el parto y se continuó por 3 a 5 días luego de este y posteriormente se ofreció las raciones postparto hasta 21 días en lactancia. Desde los 25 a 27 DEL hasta los 70 DEL se les administró a las vacas una dieta única. Se buscaba encontrar el impacto de la combinación de las dietas sobre el pH ruminal y la presentación de problemas pódales. El resultado destacó que los animales que habían recibido la combinación de dietas preparto con baja concentración energética y luego habían consumido la dieta con alta concentración de carbohidratos presentaban mayor score de pie (dislocación incipiente del pie, formación de hematomas y úlceras). Al final del estudio, en comparación con los otros grupos en tratamiento presentaban pH ruminales más bajos (<5.5). Aquellos animales que consumieron la dieta PostHi presentaban una incidencia de SARA del 41% mientras que los que consumían PostLo presentaban un 21%. Estos resultados demuestran que una ración que presenta cantidades límites para los carbohidratos fermentables y la FDN durante un corto período de tiempo puede afectar el bienestar. Es de esperar que las afecciones del aparato locomotor serían uno de efectos de SARA y habría sido mayor si las raciones suministradas se hubieran prolongado en el tiempo.

Se puede concluir que la adaptación ruminal es importante aunque se debe tener en cuenta el tipo de dieta y las diferencias energéticas entre las mismas. Si los incrementos en CNE en la dieta son paulatinos puede reducirse la incidencia de presentación de estos problemas.

7.4. Uso de aditivos para la prevención de la acidosis ruminal subaguda

Los aditivos que se pueden incluir en las dietas son buffers como el bicarbonato de sodio y alcalinizantes, como el óxido de magnesio. Los alcalinizantes tienen la capacidad de aumentar el pH de una solución y su efecto es más prolongado que el de un buffer.

Los buffers dietarios no eliminan las causas de acidosis ruminal, pero pueden ayudar con el manejo del problema. El más común incluido en raciones del ganado lechero es el bicarbonato de sodio, el cual ha demostrado que de manera indirecta estimula el consumo de MS, la producción de leche, y el porcentaje de grasa de la misma, aunque su acción es corta por su alta tasa de solubilidad ruminal (Erdman, 1988). Sin embargo, la respuesta alimenticia de los buffers depende del tipo de forrajes y sus estructuras físicas. La adición de buffers aumenta la cosecha de leche, como el porcentaje de grasa, cuando el silaje de maíz es la fuente principal de forraje. Los resultados con silaje de gramíneas / leguminosas fueron inconsistentes (Erdman, 1988, Staples y Lough, 1989). Esta diferencia en la respuesta podría ser explicada por el incremento del riesgo de SARA cuando el silaje con el que se alimenta es de maíz, como se mencionó antes. Además, la adición de buffers tiene más posibilidades de resultar benéfica en dietas que contienen una cantidad de fibra efectiva marginal (Bach, 2002).

Un aspecto importante del mantenimiento de un ambiente ruminal estable es el balance entre la producción y utilización de lactato por las bacterias que convierten el lactato en propiónico reduciendo su potencial efecto dañino. Mejorar la función de los utilizadores de lactato reduce el riesgo de acidosis ruminal (particularmente el desarrollo del cuadro agudo). Suplementar con cepas de levadura específicas puede mejorar la utilización de lactato en el rumen bajo ciertas condiciones dietarias (Dawson, 1995).

Para realmente producir un impacto en la capacidad buffer del rumen y reducir el riesgo de presentación de SARA es necesario administrar un mínimo de 150 g bicarbonato, siendo la dosis más recomendada de 1% del total de materia seca consumida. Durante periodos de stress por calor, es más recomendable usar el bicarbonato potásico que el sódico, pues mantiene la efectividad buffer, y además aporta potasio (que mejora la condición de la vaca que padece stress por calor) (Bach, 2002).

El óxido de Magnesio es un alcalinizante, es decir, sólo aumenta el pH ruminal y no tiene capacidad de mantener el pH en un valor determinado. La dosis mínima recomendada es de 40 g por vaca y día, siendo lo más recomendable usar dosis de 0,3-0,4% del total de la materia seca ingerida (Bach, 2002).

Una ventaja adicional del óxido de magnesio es que es menos soluble que el bicarbonato por lo que se mantiene más tiempo activo en el rumen, aporta magnesio (un 54%) y éste es utilizado como coenzima por las celulasas del rumen. Por lo tanto, el óxido de

magnesio, por un lado aumenta el pH ruminal y por otro mejora la digestibilidad de la fibra a través de un aumento de la actividad de los enzimas que la degradan. Sin embargo, niveles muy altos de óxido de magnesio pueden ocasionar problemas de palatabilidad y una consecuente disminución del consumo de materia seca.

En muchas ocasiones lo que se busca a nivel de campo es conseguir cambiar el pH ruminal. Los buffers, como el bicarbonato, son excelentes en mantener el pH, sin embargo no son muy efectivos en cambiar el pH ruminal. En cambio, los alcalinizantes son muy efectivos en cambiar el pH pero no en mantenerlo. Por eso, existe una sinergia entre el bicarbonato y el óxido de magnesio, y su uso conjunto es mucho más eficiente que cuando alguno de ellos dos se usa por separado. La combinación recomendada de bicarbonato y óxido de magnesio es de 3 a 1 dependiendo de la situación (Bach, 2002).

También se pueden incluir aditivos de origen microbiano (probióticos). Los aditivos microbianos más comúnmente usados para la prevención de la acidosis son las levaduras. Los resultados obtenidos con las levaduras son muy diversos (Yoon y Stern, 1996) y contradictorios, por lo que su implementación como estrategia de prevención no está corroborada. Existen, básicamente, dos tipos de levaduras, las vivas, y los extractos de levaduras (normalmente *de Aspergillus oryzae* o *Saccharomyces cerevisiae*). El éxito de las levaduras debe pasar por una suplementación diaria, pues las levaduras son incapaces de sobrevivir en el rumen. En el caso de las inactivadas (cuya dosis suele ser de 3 g/d), la suplementación diaria también es necesaria para observar resultados (Bach, 2002). Aparentemente las levaduras (incluso las inactivadas) ayudan a mantener el pH ruminal mediante el estímulo del crecimiento de las bacterias ruminales que fermentan el ácido láctico. De este modo, aunque se produzca ácido láctico, éste no se acumula en el rumen. Las bacterias capaces de utilizar el ácido láctico ruminal más importantes son la *Megasphaera elsdenii*, *Lactobacillus acidophilus* y *Selenomonas ruminantium*. El crecimiento de estas especies, además de poder ser estimulado mediante levaduras, también lo puede ser mediante la adición de malato o fumarato a la ración. Martin y Streeter (1995) demostraron que el malato era un factor de crecimiento para estas especies y que su suplementación en la ración era beneficiosa para combatir la acidosis. El malato, aunque efectivo, no es económico. Una alternativa a la suplementación directa con malato es el uso de forrajes ricos en malato de forma natural como lo son algunas variedades de alfalfa y otras leguminosas (Bach, 2002).

Los protozoos pueden disminuir el riesgo de acidosis porque son capaces de ingerir y almacenar fragmentos de almidón, impidiendo así que sean fermentados por las bacterias ruminales. Sin embargo, los protozoos son muy sensibles al pH y cuando la producción de AGV es muy rápida los protozoos tienden a desaparecer. Varios autores (Van Koevinger et al., 1994; Cooper y Klopfenstein, 1996) han demostrado que la inclusión diaria de cepas de *Lactobacillus acidophilus* en la dieta del vacuno lechero (con dosis de 2×10^9 UFC/d) puede

mejorar la supervivencia de los protozoos en presencia de altas cantidades de cereales (que por una parte bajan el pH y por otra aportan ácidos grasos insaturados que resultan tóxicos para los protozoos (Bach, 2002).

Selenomonas ruminantium es una de las bacterias que convierten el lactato ruminal a AGV. *S. ruminantium* aparentemente es estimulada a utilizar lactato por el malato (Martin and Streeter, 1995). A pesar que Martin et al. (1999) no reportó efectos en la concentración de lactato ruminal, si encontraron que el pH ruminal incrementaba linealmente con el incremento de la suplementación de malato en novillos alimentados con concentraciones altas de granos. Suplementar dietas con malato como aditivo quizás este limitado por el costo; Aun así, la incorporación de variedad de forraje altos en malato sería una forma menos costosa de incluir el mismo en la dietas de vacas lecheras (Callaway et al., 2000). En alfalfa la madures y la variedad afecta las concentraciones de malato en este cultivo (Callaway et al., 2000).

CONCLUSIONES

La acidosis ruminal es un desorden metabólico a nivel del rumen del que participa e interactúan factores como el estado fisiológico de la vaca, microbiología del rumen, el tipo de alimento y manejo de la alimentación. Se manifiesta con la presentación de dos cuadros clínicos un agudo y otro subagudo, ambos comparten similitudes con respecto a su etiología pero son muy distintos. Estos cuadros se deben al consumo de cantidades excesivas de carbohidratos y bajos niveles de forrajes fibrosos.

El cuadro sub agudo (SARA) se produce por una ingesta de raciones con bajo contenido de fibra y altos niveles de carbohidratos no estructurales, por un periodo largo de tiempo. La rápida y gran fermentación de los carbohidratos no estructurales generan una elevada producción de ácidos grasos volátiles (AGV) acumulándose en el rumen y disminuye el pH del ambiente ruminal.

La prevalencia de acidosis ruminal subaguda en rodeos lecheros puede llevar a ser entre un 20-25% de las vacas. Siendo mayor el riesgo durante el periodo de transición (fase 2) y en la lactancia temprana (fase 3y4).

El pH del ambiente ruminal es determinante en la presentación de SARA. Valores de pH por debajo de 5.6 por tiempos prolongados desencadena el proceso mórbido.

Los factores que afectan el pH ruminal son: Tipo y cantidad de carbohidratos consumidos; tamaño de partícula y fibra efectiva; mecanismos de regulación del pH; absorción de los AGV's; producción de lactato; sistemas buffer endógeno; atonía ruminal.

Para resolver y minimizar en sistemas de producción de leche problemas de SARA es necesario efectuar un buen diagnostico a nivel del rodeo siendo importante los métodos de diagnósticos, los cuales se caracterizan por generar datos erróneos y de baja precisión. Esto ocurre no por el método que se utilice sino por fluctuaciones en el ambiente ruminal y la característica multifactorial del cuadro.

El proceso mórbido de SARA tiene manifestaciones clínicas a largo plazo cuyos episodios pueden asociarse con trastornos pódales (laminitis), absceso hepático y depresión del consumo los que inciden negativamente en los indicadores productivos, reproductivos y de bienestar animal.

Las pautas para prevenir SARA se basan en mantener un equilibrio entre la producción y remoción/neutralización de AGV's, lo cual requiere adecuar la cantidad de carbohidratos no estructurales ofrecidos y la capacidad buffer del rumen mediante la estimulación de la producción de buffer endógenos y los provenientes de la dieta.

El manejo nutricional deberá considerar el aporte de fibra efectiva, la inclusión de CNE, forma y frecuencia de alimentación, y uso de aditivos destacándose la preparación de la ración, tamaño de comedero y frecuencia de entrega.

Como recomendación se sugiere:

- Mantener niveles de fibra detergente neutra por encima del 20-25% cuando el aporte de fibra es a partir de forrajes, en el caso de utilizar subproductos de la industria tener en cuenta que son menos eficientes para estimular la salivación.
- Restringir el aporte de CNE a 35-40% de la dieta cuando estos son mayormente azúcares y almidón o 40-50% cuando estos provienen de subproductos de la industria.
- Suministrar la ración en dos tomas diarias o utilizar alimentación ad libitum con 5% de rechazo enfatizando en correctas lecturas de comedero por personal capacitado.
- Respetar espacios adecuados de comedero por vaca
- Utilizar en los rodeos de riesgo, aditivos a la dieta como alcalinizantes, buffers y prebióticos.

BIBLIOGRAFIA

- ALBRIGHT, J.L., 1993. Feeding behavior of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 76: 485–498p.
- ALLEN, M. S. 1996. Physical constrains on voluntary intake of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3063– 3075.
- ALLEN, M.S. 1997. Relationship Between Fermentation Acid Production in the Rumen and Requirement for Physically Effective Fiber. *J Dairy Sci.*80:1447-1462p.
- ANDERSEN, J.B., J. SEHESTED y L. INGVRTSEN1999. Effect of dry cow feeding strategy on rumen pH, concentration of volatile fatty acids and rumen epithelium development. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Anim. Sci.* 49: 149–155p.
- ARRUEBO LOSHEROTOS M.P. 1995. “Fisiología Digestiva de los Rumiantes”. Ed Garcia Sacristán A. “*Fisiología Veterinaria*”1^{era} ed. Editorial McGRAW HILL interamericana. 1074p
- BACH, A. 2002. Trastornos Ruminales en el Vacuno Lechero: un Enfoque Practico. En *XVIII curso de especialización FEDNA*. Barcelona: universidad autónoma de Barcelona.
- BACH, A. y S. CALSAMIGLIA. 2006. La Fibra en los Rumiantes: Química o Física. En: *XXII curso de especialización FEDNA*. Barcelona: universidad autónoma de Barcelona.
- BAKER S.K. y J. DIJKSTRA. 1999. Dynamic Aspects of the Microbial Ecosystem of the Reticulo-Rumen. En: *Simposio en Ecología Nutricional de Herbívoros*. Ed. Jung, H.J.G. y Fahey G.C., Jr. American Society of Animal Science, Illinois, EEUU. 5^{ta} Edición. 261-311p.
- BAILE, C.A. y J.M. FORBES. 1974. Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. *Physiol. Rev.* 54:160– 214p.
- BAILEY, C.B. y C.C. BALCH. 1961. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The compotition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. *Br. J. Nutr.* 15: 383p.
- BAL, M.A., J.G. COORS y R.D. SHAVER. 1997. Impact of the maturity of corn for use as silage in the diets of dairy cows on intake, digestion and milk production. *J. Dairy Sci.* 80, 2497–2503.
- BALCH, C.C. 1971. Proposal to use time spent chewing as an index of the extent to which diets for ruminants possess the physical property of fibrousness characteristics of roughages. *Br. J. Nutr.* 26:383–392p.

- BATAJOO, K.K. y R.D. SHAVER. 1994. Impact of nonfiber carbohydrate on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1580–1587p.
- BATH, D.L., F. N.DICKINSON, H.A. TUCKER y R.D. APPLEMAN. 1978. “*Dairy cattle: principles, practices, problems, profits*” editorial Lea & Febiger, Philadelphia. PA. 473p.
- BAUMAN, D.E. 1992. Bovine somatotropin: Review of an emerging animal technology. *J. Dairy Sci.* 75:3432-3451p.
- BAUMONT, R. 1996. Palatability and feeding behavior in ruminants. A review. *Ann. Zootech.* 45:385-400p.
- BEAUCHEMIN, K.A., B.I. FARR, L.M. RODE y G.B. SCHAALJE, 1994. Effects of alfalfa silage chop length and supplementary long hay on chewing and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1326–1339p.
- BEAUCHEMIN, K.A. y L.M. RODE. 1994. Compressed baled alfalfa for primiparous and multiparous dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77: 1003–1012p.
- BEAUCHEMIN, K.A, W.Z. YANG y L.M. RODE. 2003: Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation and milk production. *J. Dairy Sci.*86:630-643p.
- BELTRAME F. 2010. “Transformaciones en el Complejo Lácteo Argentino. La mediería como forma social de trabajo”. *Mundo agrario* La Plata.10: 20p
- BERGMAN, E.N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70, 1580–1588p
- BLANCO, A. 2013. *Química Biológica*, 8^{va} edición. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina. 610p
- BLOCK, E. y W.K. SANCHEZ . 2000. Is it important to adjust the dietary cation-anion difference for lactating dairy cows? En: *Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference*, Ohio State Cooperative Extension Service, Columbus, Ohio, pp. 27–39.
- BRETSCHNEIDER, G., E. SALADO, A. CUATRIN y D. ARIAS. 2015. “*Lactancia: pico y persistencia*” En: http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_lactancia_pico_y_persistencia_febrero_2015.pdf. INTA, EEA Rafaela, Santa Fé, Argentina. 3p.
- BRITTON, R.A. y R.A. STOCK, 1987. Acidosis, rate of starch digestion and intake. En: *Proceedings of the 1986 Feed Intake Symposium*, MP 121, Oklahoma Agricultural Experiment Station, Norman, Oklahoma. 125–137p.
- CALSAMIGLIA, S. y A.FERRET 2002. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. *XVII curso de especialización FEDNA*. Barcelona: universidad autónoma de Barcelona.

- CALLAWAY, T.R., S.A. MARTIN, J.L. WAMPLER, N.S. HILL y G.M. HILL. 2000. Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. *J. Dairy Sci.* 80:1651-1655p.
- CAMPLING, R.C. y C.A. MORGAN. 1981. Eating behavior of housed dairy cows, a review. Commonwealth Bureau *Dairy Sci. Tech.* 43, 57–63p.
- CARTER, R.R. y W.L. GROVUM. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.* 68, 2811–2832p.
- CASTELLANO, A.L., ISSALY, G. ITURRIOZ, M. MATEOS y J. TERÁN. 2009. “Análisis de la Cadena de la Leche en Argentina”. *Estudios Socioeconómicos de los Sistemas Agroalimentarios y Agroindustriales N°4*, Ediciones INTA. ISSN 1852-4605p.
- CASTILLO, A.R. 2007. Alimentación de vacas lecheras: aspectos prácticos para mejorar la eficiencia. En *Mercoláctea*. 31p.
- CHASE, L.E. 1993. Developing nutrition programs for high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.* 76, 3287–3293p.
- CONRAD, H.R., A.D. PRATT y J.W. HIBBS. 1964. Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. *J. Dairy Sci.* 47:54-62p.
- CORBELLINI, C.N., F. BUSO VANRREL, J. GRIGERA, J. y G.TUÑÓN. 2007. “Las enfermedades de base metabólico nutricional en las vacas lecheras en transición”. *Idia XXI. Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*. INTA. Buenos Aires, AR. Vol 7: 159-165p.
- CLARK, P.W. y L.E. ARMENTANO. 1997. Replacement of alfalfa neutral detergent fiber with a combination of nonforage fiber sources. *J. Dairy Sci.* 80, 675–680.
- COOPER, R. y T. KLOPFENSTEIN. 1996. *Effect of rumensin and feed intake variation on ruminal pH. Scientific update on rumensin/ tylan/ micotil for professional feedlot consultant*. Elanco Animal Health, Greenfield, IN.
- COUNOTTE, G.H.M. y R.A. PRINS. 1981. Regulation of lactate metabolism in the rumen. *Vet. Res. Commun.* 5: 101–115p.
- DADO, R.G. y M.S. ALLEN. 1993. Continuous computer acquisition of feed and water intakes, chewing, reticular motility and ruminal pH of cattle. *J. Dairy Sci.* 76, 1589–1600p.
- DAVIS, C.L. y R.E. BROWN. 1970. Low milk fat syndrome. En *Physiology of Digestion and Metabolism in Ruminant*. Ed. Phillipson, A.T. Newcastle.upon.Tyne:Oriel Press. 545-565p.

- DAWSON, K.A. 1995. The use of yeast strain 8417 in manipulating ruminant high concentrate diets. En: *Proceedings of the 56th Minnesota Nutrition Conference and Alltech, Inc. Technical Symposium*, Minnesota Cooperative Extension Service, St. Paul, Minnesota. 25–36p.
- DE BRABANDER, D.L., J.L. DE BOEVER, J.M.VANACKER, Ch.V. BOUCQUÉ y, S.M. BOTTERMAN. 1999. Evaluation of physical structure in dairy cattle nutrition. En: *Recent Advances in Animal Nutrition*, Eds. Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. 111–145p.
- DIRKSEN, G.U., H.G. LIEBICH y E. MAYER. 1985. “Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance”. *Bovine Practitioner*. 20, 116–120p.
- DONOVAN, G.A., C.A. RISCO, G.M. ECHANT TEMPLE, T.Q. TRAN y H.H. VAN HORN. 2004. Influence of transition diets on occurrence of subclinical laminitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87: 73-84p.
- EASTRIDGE, M.L., 2000. Walking the rumen health tightrope. *Hoard's Dairyman* 145, 626p.
- EMERY, R.S., C.K. SMITH, R.M. GRIMES, C.F. HUFFMAN, y C.W. DUNCAN. 1960. Physical and chemical changes in bovine saliva and rumen liquid with different hay-grain rations. *J. Dairy Sci.* 43:76p.
- ERDMAN, R.A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review. *J. Dairy Sci.* 71:3246p.
- ETHERTON, T.D. y D.E. BAUMAN. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physiol. Reviews* 78:745-761p.
- FAHEY, G.C. y L.L. BERGER. 1993. Los Carbohidratos en la Nutrición de los Rumiantes. En “*El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición*” Ed. Church, D. C. ACRIBIA. 305-337p
- FAO. 2009. “Perspectivas alimentarias, análisis de los mercados mundiales”. <http://www.fao.org/docrep/012/ak341s/ak341s00.pdf>. Consultado: Diciembre 2016.
- FIRKINS, J. 1997. Effect of physical processing of corn silage and grain. En: *Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference, Ohio State Cooperative Extension Service, Columbus, Ohio.* 205–218p.
- FORBES, J.M. 1996. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3029-3035p.
- GARLEB, K.A., G.C. FAHEY JR., S.M. LEWIS, M.S.KERLEY y L. MONTGOMERY. 1988. Chemical composition and digestibility of fiber fractions of certain byproduct feedstuffs fed to ruminants. *J. Anim. Sci.* 66: 2650–2662p.

- GARRETT, E.F., K.V. NORDLUND, W.J. GOODGER y G.R. OETZEL. 1997. A cross-sectional field study investigating the effect of periparturient dietary management on ruminal pH in early lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1), 169p.
- GARRETT, E.F., M.N. PEREIRA, K.V. NORDLUND, L.E. ARMENTANO, W.J. GOODGER y G.R. OETZEL. 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 1170–1178p.
- GARRY, F.B. 2002. “Indigestion in ruminants”. 2002. En “*Large Animal Internal Medicine*”, Ed. Smith, B.P. Mosby-Year Book. Mosby, St. Louis, Missouri. 722-747p
- GARRY, F.B. y C. McCONNELL. 2010. “Indigestión en rumiantes” en “*Medicina interna de grandes animales*” 4ta edition en español. Ed. Smith, B.P. Editorial Elsevier Mosby. 826-848p.
- GOAD, D.W., C.L. GOAD y T.G. NAGARAJA. 1998. Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *J. Anim. Sci.* 76, 234–241.
- GOMEZ, A. y N.B. COOK. 2010. Time budgets of lactating dairy cattle in commercial freestall herds. *J. Dairy Sci.* 93:5772-5781.
- GRANT, R.J., V.F. COLENBRANDER y D.R. MERTENS. 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of silage particle size. *J. Dairy Sci.* 73: 1834–1842.
- GRIINARI, J.M., K. NURMELA, D.A. DWYER, D.N. BARBANO, y D.E. BAUMAN. 1999. Variation of milk fat concentration of conjugated linoleic acid and milk fat percentage is associated with a change in ruminal biohydrogenation. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1): 117-118 (Abstr.).
- GRUDSKY, P.R. y B.J.L. ARIAS. 1983. “Aspectos generales de la microbiología del rumen”. En www.produccion-animal.com.ar. Consultado: Noviembre 2016
- GUTMAN, G.E., E. GUIGUET, y J.M. REBOLINI, 2003. “Los ciclos en el complejo lácteo argentino. Análisis de políticas lecheras en países seleccionados”. *SAGPyA*. 259p.
- HARMINSON, B., M.L. EASTRIDGE y J.L. FIRKINS. 1997. Effect of percentage dietary forage neutral detergent fiber and source of starch on performance of lactating Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 80, 905–911p.
- HEINRICHS A.J. y P. J. KONONOFF. 2002. *Evaluando el tamaño de particular de forrajes y TMR usando el Nuevo Separador de Partículas de Forraje de Penn State*. En: <http://extension.psu.edu> Consultado Abril 2017.
- HERNANDEZ-URDANETA, A., C.E. COPPOCK, P.E. MCDOWELL y D.GIANOLA. 1976. Changes in forage-concentrate ratio of complete feeds for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 59, 695–705p.

- HERRERA-SALDANA, R.; R. GOMEZ ALARCON; M. TORABI y J.T. HUBER. 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *J. Dairy Sci.* 73:142-148p
- HOBSON, P.N. y C.S STEWART. 1997. “*The Rumen Microbial Ecosystem*” 2^{da} Edición. Chapman y Hall, Londres. 719p.
- HOOVER, W.H. y T.K. MILLER. 1995. Optimising carbohydrate fermentation in the rumen. In: Proceedings of the Sixth Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, Gainesville, Florida, pp. 89–95p.
- HUNGATE, R.E. 1966. “Gastrointestinal Fermentations” en *Nutritional Ecology of the Ruminant* 1982 Ed. VAN SOEST P. J. O & B Books, Inc., Corvallis, OR, EEUU. 152-177p.
- HUTJENS, M.F. 1999. Phase feeding in dairy cattle. CFIA. *Eastern Nutrition Conference*, Niagra Falls, ON.
- HUTJENS, M.F. 2003. Ciclo de gestación-lactancia. En: Guía de Alimentación por Mike Hutjens 2^{da} Edición. Hoard’s Dairyman Books.84p.
- HUTJENS, M.F. 2004. Feeding for productive life. Proceedings Four State Dairy and Nutrition Management Conference.
- ILLIUS, A.W. y N.S. JESSOP. 1996. Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. *J. Anim Sci.* 74:3052– 3062p.
- ISASI, C.M., R.M. FACENDINI, L. FONTANETTO, G MINGO, G ORSINI y M. WERNER. 2006. “La industria láctea regional y entrerriana”, *XIV Jornadas de Jóvenes Investigadores de AUGM*, Universidad Nacional de Entre Ríos, Entre Ríos.
- KALSCHEUR, K.F., B.B. TETER, L.S. PIPEROVA, R.A. ERDMAN. 1997. Effect of fat source on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80: 2115-2126p
- KAUFMANN, W., H. HAGEMMEISTER y G. DIRKSEN. 1980. Adaptation to changes in dietary composition, level and frequency of feeding. En: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. AVI Publishing Co., Westport, CT. 587p.
- KENNELLY, J.J., B. ROBINSON y G.R. KHORASANI. 1999. “Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early-lactation Holstein cows”. *J. Dairy Sci.* 82:2486-2496p.
- KETELAARS, J. J.M. H. y B.J. TOLKAMP. 1996. Oxygen efficiency and the control of energy flow in animals and humans. *J. Anim Sci.* 74:3036-3051p.
- KONONOFF, P.J., A.J. HEINRICHS y H.A. LEHMAN. 2003. The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 3343–3353p.

- KRAUSE, K.M., D.K. COMBS y K.A. BEAUCHEMIN, 2002. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminant pH and chewing activity. *J. Dairy Sci.* 85, 1947–1967.
- KRAUSE, K.M. y D.K. COMBS. 2003. Effects of forage particle size, forage source and grain fermentability on performance and ruminal pH in midlactation cows. *J. Dairy Sci.* 86, 1382–1397p.
- KRAUSE K. M. y OETZEL R.G. 2006 “Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review” *Animal Feed Science and Technology*. 126: 215–236p.
- KROHN, C.C. y S.P. KONGGAARD. 1979. Effects of isolating first-lactation cows from older cows. *Livest. Prod. Sci.* 6: 137–146p.
- LAMMERS, B.P., D.R. BUCKMASTER y A.J. HEINRICHS. 1996. A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79: 922–928p.
- LEONARDI, C. y L.E. ARMENTANO. 2003. Effect of quantity, quality, and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 557–564p.
- LINDSAY J.R. and J.P. HOGAN. 1972 “Gastrointestinal Fermentations” en *Nutritional Ecology of the Ruminant* 1892 Ed. VAN SOEST P.J. O & B Books, Inc., Corvallis, OR, EEUU.152-177p.
- LYKOS, T. y G.A. VARGA. 1995. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. *J. Dairy Sci.* 78:1789–1801p.
- MACHMÜLER, A., C.R. SOLIVA y M. KREUZER. 2003. Effect of coconut oil and defaunation treatment on methanogenesis in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 43:41p.
- MACKIE, R.I. y F.M.C. GILCHRIST. 1979. Changes in lactate-producing and lactate-utilising bacteria in relation to pH hydrogen-ion concentration in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high-concentrate diet. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 422–430p.
- MAEKAWA, M., K.A. BEAUCHEMIN y D.A. CHRISTENSEN. 2002. Effect of concentrate level and feeding management on chewing activities, saliva production, and ruminal pH of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85, 1165–1175p.
- MARICHAL, M.J., M. CARRIQUIRY y A.I. TRUJILLO. 2010. Partición de Nutrientes en el Rumiante y su Regulación. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Uruguay. 23p.
- MARTIN, R., 1999.TMR particle distribution analysis at six hour time intervals. En: *Proceedings of the UW Arlington Dairy Day*, Dairy Sci. Dept., Univ. Wisconsin-Madison. 7–16p.

- MARTIN, R., 2000. Evaluating TMR particle distribution: a series of on-farm case studies. En: *Proceedings of the Four-State Professional Dairy Management Seminar*, MWPS-4SD8, Midwest Plan Service, Ames, Iowa. 75–88p.
- MARTIN, S.A. y M.N. STREETER. 1995. Effect of malate on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Anim. Sci.* 73: 2141–2145p.
- MARTIN, S.A., M.N. STREETER, D.J. NISBET, G.M. HILL y S.E. WILLIAMS. 1999. Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 77: 1008–1015p.
- MCGUFFEY R.K. 2015. “The Triangular Interaction between Dairy Cow Efficiency, Sub-Acute Ruminal Acidosis and Lifetime Production” Indianapolis IN 46202.
- MERTENS, D.R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Dairy Sci.* 64:1548-1558p.
- MERTENS, D.R. 1992. Nonstructural and structural carbohydrates. En *Large Dairy Herd Management*. Ed. H.H. Van Horn y C.J. Wilcox. Am. Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL. 219p.
- MERTENS, D.R. 1994. Regulation of forage intake. En: *Forage Quality, evaluation and Utilization*. Ed. G. C. Fahey. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc Amer., Soil Sci. Soc. Amer. Madison, WI. 450-493p.
- MERTENS, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463– 1481p.
- MDE, P.W y H.F TIRRELL. 1975. “Efficiency of conversion of digested energy to milk”, *J Dairy Sci* 58: 602-610p.
- MILLS, J.A.N., J. FRANCE y J. DIJKSTRA. 1999. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model. 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. *J. Anim. Feed Sci.* 8, 291–339p.
- MOULD, F.L. y E.R ORSKOV. 1983. “Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulosis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate”. *Feed Sci. and Tech.* 10,1.
- NAVA, C. y DÍAZ, A. 2001. “Introducción a la Digestión Ruminal”. Disponible en Internet: www.veterin.unam.mx/fmvz/enlinea/Ruminal/microorganismos.htm.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1989, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 6th Rev. Ed., Washington, DC, *Natl. Acad. Sci.*, Washington, DC, USA.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th Rev. Ed., Washington, DC, *Natl. Acad. Sci.*, Washington, DC, USA.
- NOCEK, J.E. 1995. “Nutritional considerations for the transition cow”, En: *Proc. 1995 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, Dept. Animal Sci. and

- Division of Nutritional Sciences, New York State College of Agriculture and Life Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, USA. 121-137p.
- NOCEK, J.E., 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80, 1005–1028p.
- NOCEK, J.E., J.G. ALLMAN y W.P. KAUTZ. 2002. Evaluation of an indwelling ruminal probe methodology and effect of grain level on diurnal pH variation in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85, 422–428.
- NOCEK, J. E., y J.B. RUSSELL. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070– 2107p.
- NOCEK, J.E. y S. TAMMINGA. 1991. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598–3629P.
- NORDLUND, K.V., E.F. GARRETT y G.R. OETZEL. 1995. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 17, S48–S56p.
- NORDLUND, K.V., N.B. COOK y G.R. OETZEL. 2004. Investigation strategies for laminitis in problem herds. *J. Dairy Sci.* 87: (E. Suppl.): E27-E35p.
- O'GRADY, L.O., M.L. DOHERTY, y F.J. MULLIGAN. 2008. Subacute ruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cattle. *Veterinary J.* 176: 44-49p.
- OBA, M. and M.S. ALLEN. 1999. Evaluation of the importance of digestibility of neutral detergent fiber from forage: Effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:589-586p.
- OETZEL, G.R., y K.V. NORDLUND. 1998. Effect of dry matter intake and feeding frequency on ruminal pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81(Suppl. 1):297p
- OETZEL, G.R., K.V. NORDLUND y E.F. GARRETT. 1999. Effect of ruminal pH and stage of lactation on ruminal lactate concentrations in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82 (Suppl. 1), 38p.
- OETZEL, G.R. 2000. Clinical aspects of ruminal acidosis in dairy cattle. En: *Proceedings 33rd Annual Meeting on American Association of Bovine Practice*. Ed. Smith, R.A. 46–53p.
- OETZEL, G.R. 2001. Application of forage particle length determination in dairy practice. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 23: S30–S38p.
- OETZEL G.R. 2007. “Subacute Ruminal Acidosis in Dairy Herds: Physiology, Pathophysiology, Milk Fat Responses, and Nutritional Management” Seminario preconferencia 7A: “*Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Lameness, Cow*

- Comfort, and Ruminant Acidosis*” AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTITIONERS 40a Conferencia Anual, Vancouver, BC, Canadá.
- ØSTERGAARD, S. y Y.T. GRÖHN. 2000. Concentrate feeding, dry-matter intake, and metabolic disorders in Danish dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 65: 107–118.
- OWENS F.N. Y A.L. GOESTSCH. 1993. Fermentación ruminal. En “*El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición*” Ed. Church, D. C. ACRIBIA 159-189p
- OWENS F.N., D.S. SECRIST, W.J. HILL y D.R.GILL. 1998. “Acidosis in cattle: A review”. *J. Anim. Sci.* 76:275-286p.
- PALMQUIST, D.L., C.L. DAVIS, R.E. BROWN y D.S. SACHAN. 1969. Availability and metabolism of various substrates in ruminants. V. Entry rate into the body and incorporation into milk fat of d(-)β-hydroxybutyrate. *J. Dairy Sci.* 52:633–638p.
- PIÑEIRO, G. 2006. Cuidados en la confección del silo de maíz. *Producir XXI, Bs. As.* Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar> (Marzo-2017).
- PRENTICE, D.L., D.M. SCHAEFER, y G.R. OETZEL. 2000. Effect of lasalocid on the forage to concentrate ratio fed to steers maintained at a pre-determined daily average ruminal pH. *J. Dairy Sci.* 83:246-247p. (Abstr.)
- QUINN, L.Y., W.BURROUGHS y W.C. CHRISTIANSEN. 1962. Continuous culture of ruminal microorganisms in chemically defined medium. II. Culture medium studies. *Appl. Microbiol.* 10: 583–592p.
- RADOSTITS, O.M., D.C. BLOOD y C.C. GAY. 1994. “Acute carbohydrate engorgement of ruminants (rumen overload)”. En “*Veterinary Medicine*”. Ed O. W. Radostits, D. C. Blood, and C. C. Gay. W. B. Saunders, Filadelfia, PA. 262-269p.
- RAYBURN, E. B. y D. G. FOX. 1993. Variation in neutral detergent fiber intake of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:544-554p.
- REBHUN, W.C. 1995. Abdominal diseases. En: *Diseases of Dairy Cattle*. Ed. Rebhun, W.C. Williams and Wilkins, Media, Pennsylvania. 106–154p.
- RELLING, A.E. y G.A. MATTIOLI. 2003. *Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes*. Editorial EDULP. 74p.
- ROSELER, D.K., D.G. FOX, L.E. CHASE, A.N. PELL y W.C. STONE. 1997. Development and evaluation of equations for the prediction of feed intake for lactating Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:878-893p.
- RUSSELL, J.B. y M.S. ALLEN. 1983. Physiological basis for interaction among rumen bacteria: *Streptococcus bovis* and *Megasphaera elsdenii* as a model. En: *Current Perspectives in Microbial Ecology*. Eds. Klug, M.J., Reddy, C.A. American Society of Microbiology, Washington, DC. 239–247p.

- TYZNIK, W. y N.N. ALLEN. 1951. The relation of roughage intake to the fat content of milk and the level of fatty acids in the rumen. *J. Dairy Sci.* 34:493p.
- SALADO, E., G. BRETSCHEIDER y D. ARIAS. 2015. “*Síndrome del bajo tenor de grasa en leche*” .En: http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_sindrome_del_bajo_tenor_de_grasa_en_leche_marzo2.pdf INTA, EEA Rafaela, Santa Fé, Argentina.
- SANCHEZ, W.K., D.K. DEEDE y M.A. DELORENZO. 1994. Macromineral element interrelationships and lactational performance: empirical models from a large data set. *J. Dairy Sci.* 77, 3096–3110.
- SANCHEZ, C., M. SUEROS, H. CASTIGNANI, J.C. TERÁN y M. MARIANO 2012. “La lechería argentina: estado actual y su evolución (2008 a 2011)” .Proyecto Específico “Gestión de la Información y Modelización en Lechería Bovina (52-071092). PAN Leches. INTA.
- SODIY ARCE, D. R. GONZÁLEZ MARTÍNES y S.MARTÍNEZ RANGEL. 2004 Efectos de la desfaunación sobre la fermentación. En sitio de Producción Animal http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento
Consultado: julio-2017.
- STAPLES, C.R. y D.S LOUGH. 1989. Efficacy of supplemental dietary neutralising agents for lactating dairy cows: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 23: 277–303p.
- STERN, M.S., S. CALSAMIGLIA y M.I. ENDRES. 1994. “*Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbono y del nitrógeno en el rumen*” University of Minnesota EEUU. X Curso de especialización de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA).
- SUDWEEKS, E.M., L.O. ELY, D.R. MERTENS, y L. R. SISK. 1981. Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diets:roughage value index system. *J. Anim. Sci.* 53:1406– 1411p.
- THEURER, C.B., 1986. Grain processing effects on starch utilisation by ruminants. *J. Anim. Sci.* 63, 1649–1662p.
- VAN KOEVERING, M.T., W.J. HILL, F.N. OWENS, D.R. GILL, C.A. STRASIA y J.J. MARTIN. 1994. High moisture ear com for feedlot steers. *OK Agr. Exp. Sta. MP-939*: 134p.
- VAN LIER E. y M. REGUEIRO. 2008. “*Digestión en Retículo-Rumen*” Departamento de producción animal y pasturas. Curso de anatomía y fisiología animal. Montevideo, Uruguay.
- VAN SOEST, P.J. y N.N. ALLEN. 1959. Studies on the Relationships between Rumen Acids and Fat Metabolism of Ruminants Fed on Restricted Roughage Diets. *J. Dairy Sci.* 42: 1977-1985p.

- VAN SOEST, P.J. 1982. Gastrointestinal Fermentations. En *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O&B Books, Inc., Covallis, OR., EEUU. 152-177p.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant, Second Edition*. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- VERMUNT, J.J. y P.R. GREENOUGH. 1994. Predisposing factors of laminitis in cattle. *Br. Vet. J.* 150: 151p.
- VON KEYSERLINGK, M.A.G., J. RUSHEN, A.M. DE PASILLE y D.M. WEARY. 2009. The welfare of dairy cattle-key concepts and the role of science. *J. Dairy Sci.* 92:4101-4111.
- WOODFORD, S.T. y M.R. MURPHY, 1988. Effect of forage physical form on chewing activity, dry matter intake, and rumen function of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 71, 674–686p.
- YANG, W.Z., K.A. BEAUCHEMIN y L.M. RODE. 2000. Effects of barley grain processing on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83: 554–568p.
- YOKOYAMA M.T. y K.A. JOHNSON. 1993. “Microbiología del Rumén e Intestino” en “*El Rumiente: Fisiología Digestiva y Nutrición*” Ed. Church, D. C. Ed ACRIBIA 137-157p.
- YOON, I.K. y M.D. STERN. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79(3):411-7p.