

Información técnica de producción animal 2016

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela



INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL

2016

**INTA
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Centro Regional Santa Fe
Estación Experimental Agropecuaria Rafaela
Área de Producción Animal
Noviembre de 2016**

INDICE**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE INTENSIFICACIÓN DE LA LECHERÍA ARGENTINA Y LOS APORTES DEL INTA. COMERÓN, E.; ROMERO, L.; VERA, M.; VILLAR, J.; MACIEL, M.; CHARLÓN, V.; TIERI, M.P. y SALADO, E.	1
IMPACTO DE DIFERENTES ESTRATEGIAS PRODUCTIVAS SOBRE INDICADORES AMBIENTALES EN SISTEMAS LECHEROS DE ARGENTINA. TIERI, M.P.; CHARLON, V.y COMERÓN, E.	4
LA HUELLA DEL AGUA EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE LECHE EN ARGENTINA CHARLON, V.; TIERI, M.P.; FRANK, F.; ENGLER, P.	10
UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE LECHE INTENSIVA. RESULTADOS 2011-2016. PECE, M.A.; MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., TIERI, M.P., SCANDOLO, D., VERA, M., VITULICH, C.;CHARLÓN, V.	16
SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO EN VACAS LECHERAS EN PASTOREO CON DIETA PARCIALMENTE MEZCLADA EN LA CUENCA LECHERA SANTAFESINA DURANTE EL PERÍODO ESTIVAL. GHIANO, J.; COSTAMAGNA, D.; TAVERNA, M.; WALTER, E.; LEVA, P.; TOFFOLI, G.; STORERO, S.; MILLAPÁN, L.; LUBERRIAGA, V. ; IDONE, L.	22

SANIDAD

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN LA CUENCA LECHERA CENTRAL DE ARGENTINA. VANZINI, V.	34
TUBERCULOSIS BOVINA EN FAUNA SILVESTRE. ABDALA, A. A.	43
Mycobacterium bovis EN FAUNA SILVESTRE DE LA CUENCA LECHERA DE SANTA FE (ARGENTINA). ABDALA, A. A.; GARBACCIO,S; ZUMÁRRAGA,M. ; TARABLA, H. D.	54

NUTRICIÓN

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN LECHEROS CONFINADOS VS. PASTORILES. BRETSCHEIDER, G.; SALADO, E.E.	66
SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN COMBINANDO PASTURA Y RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA: RESPUESTA PRODUCTIVA Y COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS LECHERAS, SALADO, E.E.; MACIEL, M.G.; BRETSCHEIDER, G.; CUATRIN, A.; CASTIGNANI, H.	72
EL DESEQUILIBRIO MULTIVARIADO EN LA LACTANCIA TEMPRANA LA PROBLEMÁTICA ALIMENTICIA ¿HASTA DONDE PUEDE ESTAR AFECTANDO AL SISTEMA? COMERON, E.A., SCANDOLO, D., ROMERO, E.A., SALADO, E., ROSKOPF, S., MACIEL, M.	80

SINDROME DEL BAJO TENOR DE GRASA EN LECHE ETIOLOGIA Y CONTROL. SALADO, E.E.; BRETSCHNEIDER, G.; ARIAS, D. 90

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS INOCULANTES SOBRE LAS CARACTERISTICAS DEL ENSILAJE DE ALFALFA. MASSERA, A., GAGGIOTTI, M., ROMERO, L. 95

GENETICA

UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE LECHE INTENSIVA. SÍNTESIS HISTÓRICA 1981-2009 Y RESULTADOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS INCORPORACION DE LAS CRUZAS. VERA, M; TIERI, M.P.; MACIEL, M.; FRANCO, L; COMERÓN, E.; SCÁNDOLO, D. y ROMERO, L. 104

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE *Panicum Coloratum* VAR. MAKARIKARIENSE. TOMÁS, MA. A; GIORDANO, M.; CARDAMONE, L.; PILATTI, V.; ARMANDO, L 110

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE *Melilotus Albus*. TOMÁS, M. A.; IACOPINI, M. L.; DE MARCO, N.; GIORDANO, M.; CARDAMONE, L.; PILATTI, V. 117

CALIDAD DE LECHE Y AGROINDUSTRIA

UTILIZACIÓN DE SUERO DE QUESO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y SECADO SPRAY DE LACTOBACILOS PROBIÓTICOS. LAVARI, L.; PAEZ, R.; CUATRIN, A.; REINHEIMER, J. y VINDEROLA, G. 122

CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD Y ESTUDIO DE INOCUIDAD DE LECHE Y QUESOS ARTESANALES PRODUCIDOS EN TAMBOS FÁBRICA DE ENTRE RÍOS. COSTABEL, L, AUDERO, G.; COSTAMAGNA, D., BUTARELLI, S., TRULLS, B., BOFFA, S., MANCUSO, W., AIMAR, B., KARLEN, J., AGUILAR, L., PÁEZ, R. 131

EVALUACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEGIAS PARA ACELERAR LA MADURACIÓN DE QUESO REGGIANITO. COSTABEL, L.; BERGAMINI, C.; VAUDAGNA, S.; CUATRIN, A.; AUDERO, G.; HYNES, E. 141

EFECTO DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS Y NO TÉRMICOS SOBRE INOCUIDAD Y CALIDAD DE CALOSTRO BOVINO. AUDERO, G.; COSTABEL, L.; SANOW, L.; VAUDAGNA, S.; CUATRIN, A.; PÁEZ, R. 152

IMPLEMENTACIÓN DE LA NORMA ISO 17025:2005 EN LOS LABORATORIOS DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA EEA RAFAELA DEL INTA. ADORNI, M.B.; CAMPOS, S.; GAGGIOTTI, M.; PAEZ, R. ; COSTABEL, L. 160

PLANIFICACIÓN Y DISEÑO DE UN ENSAYO INTERLABORATORIO PARA LA DETERMINACIÓN DE VALOR PERÓXIDO EN GRASA LÁCTEA ANHIDRA ADORNI, M.B.*; CAMPOS, S.; CUATRIN, A.; PAEZ, R. ; COSTABEL, L. 166



SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE INTENSIFICACIÓN DE LA LECHERÍA ARGENTINA Y LOS APORTES DEL INTA

COMERÓN, E.*; ROMERO, L.; VERA, M.; VILLAR, J.; MACIEL, M.; CHARLÓN, V.; TIERI, M.P. y SALADO, E.

INTA EEA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34, km 227

**Autor de contacto: comeron.eduardo@inta.gob.ar*

La intensificación de la producción animal se inició durante la década del cincuenta y, en esencia, implica la concentración de animales por unidad de superficie y el aumento en el uso de insumos. En Argentina la situación es más reciente, y presenta algunas diferencias. Se puede considerar que el proceso de intensificación en lechería comenzó de manera incipiente en la década del 80 como consecuencia de los efectos indirectos, que se incorporaron casi imperceptiblemente en un sistema productivo que comienza a mostrar mayores y variadas complicaciones operativas. El INTA, en sus diferentes expresiones y roles, acompañó y consolidó ese proceso que involucró, entre otros a : a) la aplicación y continuidad del decreto 6640 (regulando instalaciones de ordeño de manera básica pero conducentes para la época), b) la llegada de la alfalfa CUF (convirtiéndose en la base de variedades mejoradas en muchísimos aspectos y la posibilidad de un aprovechamiento en invierno), c) la utilización de boyero eléctrico y el preoreo como medio para mejorar el aprovechamiento de las pasturas más recomendadas y la extensión escalonada de la calidad de las especies, d) la preocupación por la calidad de la materia prima a través de la asistencia y facilidades para la implementación de sistemas de frío; el tema fue luego abordado de manera más completa, con la campaña público-privada (INTA-empresas lácteas) para el mejoramiento de la calidad de leche denominada PROCALE, e) la introducción de las enrolladoras que entre otras cuestiones redujeron el tiempo operativo completo de la confección del heno y mejorando la oferta en otoño e invierno, f) los comienzos de la implementación, por medio de la actividad privada, de la inseminación artificial y la oferta de semen, g) la organización de equipos de extensión específicos (gerencias primarias de empresas lácteas), para abordar la problemática a nivel de sistemas y colaborar con la capacitación y la provisión de insumos y servicios. Esta acción privada, mejoró significativamente la labor que ejercía el Estado Nacional a través del INTA y en menor grado, las universidades.

Sin embargo y a pesar de la inclusión de todas esas novedades, aún no se visualizaba una lechería con objetivos claros y definidos en cuanto al perfil y destino de producción. Fue recién en la década del 90, cuando se destacó fuertemente en el proceso de intensificación la posibilidad sin restricciones de acceder a la confección del silaje de planta entera embolsado, con maquinaria de última generación, de cultivos de maíz o sorgo fundamentalmente. Esto sumado a la efectiva implementación operativa, permitió una mayor estabilidad estacional e interanual de la oferta de forraje, elevando la carga animal durante el otoño-invierno manteniendo además una cierta estabilidad en los componentes de la dieta. El INTA tuvo una destacada participación en la capacitación y la difusión de la producción y especialmente, de la calidad del silaje. También

generó información del manejo alimenticio más conveniente, insistiendo en la utilización de componentes de la dieta con una mayor intervención de alimento producido en el establecimiento (forraje fresco y conservado) como medio para reducir costos y ganar competitividad. Como consecuencia de lo sucedido, se consolidó el crecimiento de la eficiencia productiva con las lógicas consecuencias en el mayor beneficio económico y niveles de riesgo más acotados. La industria láctea se convirtió en un sector con saldos exportables consolidados (llegando a alrededor del 20% del total de leche recepcionada) y atendiendo a un mercado interno con consumos importantes y productos variados. Como contrapartida, esta situación demandó mayores exigencias a nivel de producto, teniendo el INTA un rol protagónico en cuanto a la calidad de la materia prima con diferenciación y valor agregado en origen.

En el primer quinquenio de principios de siglo, la crisis económica y la falta de políticas lecheras, incidieron fuertemente en el sector primario, el que reaccionó rápidamente si bien la tasa de cierre de tambos continuó acompañando a los vaivenes de la lechería nacional desde hace un cuarto de siglo. Se destacan los primeros intentos para comenzar a reemplazar a la intensificación por el concepto de “optimización” y “eficiencia”. En ese sentido es de destacar el aumento de la eficiencia de cada integrante de la cadena. En el caso del tambo, el aumento de la eficiencia productiva entre el ciclo 2001-2004 y el 2012-2013 (12 años) fue del 35% (de 4.980 a 7.580 lts/haVT/año), como consecuencia del aumento operado en la carga animal y especialmente en la producción individual. Cada vez es más frecuente detectar tambos con una productividad que superan los 10.000 litros/haVT/año (valor de equilibrio y bajo riesgo definido por INTA).

Desde 2005 al 2015 se retomó la senda con propuestas más audaces, aunque más costosas. La productividad mantuvo un crecimiento importante, aunque por debajo del potencial “lograble”, acompañada por el incremento de la escala de producción. El INTA mantuvo cierta presencia destacable en diferentes disciplinas, adaptando oportunamente, información propia y foránea, para el tratamiento de efluentes y equipos e instalaciones para el suministro de alimentos (mixer en gran medida).

También se comenzó a valorar los inconvenientes o limitantes de esta intensificación que, mientras este proceso avanzaba, dejaba ver las debilidades a nivel de lo sustentable y lo sostenible. Esta valorización a nivel de sistemas productivos primarios fue realizada de manera destacable por INTA, en sociedad con referentes universitarios en los temas afines, promoviendo proyectos para maximizar la eficiencia global del sistema, comenzando a evaluar la sustentabilidad integral (físico-económico, social y ambiental) e incorporando los análisis de riesgo, para generar tecnología que permita pasar a un proceso de “optimización sustentable”. Si bien aún es incipiente, la informática está aportando al proceso de toma de decisiones, modelización, y comprensión. Esto ha jerarquizado la discusión de manera mucho más efectiva lo cual es de esperar que mejoren los niveles de resolución de las características y las metas de los escenarios futuros. También cabe destacar la consolidación del uso de la biotecnología (ie. reproducción) y la manipulación de la alimentación y el manejo de animales para modificar la calidad de la materia prima antes de su transformación.

Se valora en alto grado el rol de las diferentes versiones de los sistemas productivos que funcionan/ron en el predio de INTA Rafaela, denominadas UPL (Unidades de Producción lecheras)

las que abordaron diferentes variantes: Estrategias alimentarias, reproductivas y raciales; dietas con diferente proporción de grupo de alimentos; producción bajo normas Orgánicas; d) sistema Robot (VMS). Estas UPL permitieron ir modificando o introduciendo nuevas variables/indicadores y metas, para desafiar las barreras temporales en los aspectos productivos y económicos de la empresa durante su funcionamiento, validando tecnología y procesos.

Para completar el cuadro de transferencia y extensión, no puede dejar de mencionarse la trascendencia y jerarquía de la extensa oferta de cursos de capacitación de INTA (Cursos para extensionistas de Latinoamérica; el profesional tambero; para operarios de tambo y específicamente de maquinarias y de suministro de alimentos, etc)

Para el futuro cercano...desde lo técnico-productivo hay varias opciones que se pueden explorar, y que de hecho el INTA ha comenzado a abordar-, bajo el lema “Hacer fácil una actividad compleja realizando controles efectivos y duraderos en el tiempo”. Se pueden citar a: Estrategias alimenticias menos onerosas, dietas más simples y de mejor calidad, planteos reproductivos de fácil implementación y control, selección genética de animales adaptados a los sistemas de producción, calidad de leche más estable, instalaciones funcionales y menos costosas, sistemas de organización del trabajo más efectivos, disminución de la carga laboral, variantes menos traumática a la reducción de turnos de ordeño, esquemas de negocios participativos en capital y trabajo.

Finalmente, es necesario incorporar la variable ambiental en los sistemas productivos sustentables, no como una opción sino como una necesidad, donde se deberá contar con infraestructura adaptada a condiciones cambiantes del clima, estrategias para mejorar la eficiencia en el uso de los recursos naturales (agua, suelo, etc.), y prácticas que mitiguen la mayor cantidad de Gases de efecto invernadero (GEI). Todo ello con el objetivo de continuar la actividad productiva de una forma amigable con el ambiente como lo demuestran evidencias y estudios conducidos por el INTA en conjunto con universidades y otros institutos de investigación de la región desde inicios de la década del 2010.

IMPACTO DE DIFERENTES ESTRATEGIAS PRODUCTIVAS SOBRE INDICADORES AMBIENTALES EN SISTEMAS LECHEROS DE ARGENTINA.

TIERI, M.P. *; CHARLON, V.y COMERÓN, E.

INTA EEA Rafaela, Rafaela Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227,

**Autor de contacto: tieri.maria@inta.gob.ar*

INTRODUCCIÓN

A partir de principios de la década del '90, la lechería bovina argentina ha incrementado su producción de una manera destacada, como consecuencia de una mayor eficiencia productiva acompañada por un sostenido proceso de intensificación. Dicho proceso se ha llevado a cabo notoriamente a causa de un mayor uso de insumos, siendo cuestionado el impacto ambiental del mismo.

La intensificación de los sistemas agropecuarios incrementa los flujos de energía y nutrientes, y los expone a procesos de contaminación (Viglizzo y Roberto, 1997). A medida que la actividad pecuaria se intensifica, hasta llegar a sistemas donde los animales permanecen mayor cantidad de horas encerrados, los residuos animales pueden producir grandes impactos en el ambiente (Herrero y otros, 2006b; Tieri y otros, 2014). En países desarrollados, se ha demostrado que existe una fuerte relación causa-efecto entre la actividad ganadera y la contaminación difusa de los cursos de agua superficiales, en especial de su eutrofización por altas concentraciones de nitrógeno (N) y fósforo (P) (Alfaro y Salazar, 2005). Esta intensificación está acompañada generalmente por un mayor uso de alimentos, competencia con la agricultura por el recurso tierra y de alternativas de manejo de los sistemas de alimentación (Charlon, 2009).

El manejo de nutrientes a nivel de sistema productivo es un área de reciente interés para la investigación y de creciente preocupación por parte de la sociedad y de los organismos reguladores de cuestiones ambientales, como una forma de disminuir la contaminación por N y P en los sistemas ganaderos de carne y leche. Una herramienta que se utiliza como indicador de manejo de nutrientes (indicadores de sostenibilidad) es el balance de nutrientes, que sirve para cuantificar (presupuestar) la entrada y salida de nutrientes de los sistemas productivos, favoreciendo su manejo apropiado, en aspectos asociados a su eficiencia de utilización y el impacto potencial sobre el medio ambiente. Además, son buenos indicadores del impacto de la producción ganadera en el flujo de nutrientes, tanto a nivel predial como de cuenca hidrográfica, pudiendo relacionarse con el potencial de contaminación para un área determinada (Jarvis, 1993; Gerber y otros, 2002, citados por Salazar y otros, 2008).

Por otro lado, el consumo de energía fósil por parte de los sistemas agropecuarios contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) (Lewandowski, 2005; Denoia y otros, 2008). Por lo tanto, su uso ineficiente puede resultar en graves impactos ambientales. Es por ello que recientemente la Organización de la Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) propuso a la energía como uno de los dos temas centrales para la humanidad en el próximo milenio, enfatizando que no es posible pensar en términos de desarrollo sustentable sin

incluir el uso racional de la misma (Montico y otros, 2007). Para lograr un mejor uso de la energía, es necesario conocer su uso en las diferentes etapas de los sistemas de producción. El consumo y la eficiencia de uso de energía fósil expresan procesos de intensificación de los sistemas productivos y muestran su riesgo ecológico potencial.

Los indicadores mencionados constituyen una herramienta importante para determinar la eficiencia de los distintos sistemas productivos y su efecto en el ambiente. El objetivo de este trabajo fue analizar cómo ciertas estrategias productivas impactan sobre los indicadores ambientales seleccionados en los sistemas de producción de leche de Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La información utilizada en el trabajo se obtuvo mediante encuestas realizadas a 95 sistemas lecheros de diferentes cuencas lecheras del país (Tabla 1) para el ciclo 2012-2013 (45% Santa Fe, 35% Córdoba y 20% Buenos Aires). A partir de la propuesta de Centeno y otros (2015) se clasificó la muestra en base a la carga animal (Ca): baja $<1,3$ cab/haVT; alta $\geq 1,3$ cab/haVT) y al uso de alimento concentrado diario por vaca ordeño (Co): bajo <6 kg MS; alto ≥ 6 kg MS). Los sistemas fueron clasificados como: baja carga y bajo concentrado (BCaBCo); baja carga y alto concentrado (BCaACo); alta carga y bajo concentrado (ACaBCo) y alta carga y alto concentrado (ACaACo).

Tabla 1. Caracterización de los sistemas evaluados según la carga y cantidad de concentrado en la dieta.

Indicadores	Promedio general	BCaBCo	BCaACo	ACaBCo	ACaACo
SuperficieVT (ha)	141 ± 84	135 ± 85	176±74	95 ± 36	164 ± 102
Nº VO	145 ±96	97 ±73	151 ± 65	128 ± 50	225 ± 124
Carga animal (VT/haVT)	1,31 ±0,5	0,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1	1,7 ± 0,3	1,7 ±0,4
kg Concentrado (kg/VO/d)	5,8 ±2,4	3,8 ± 1,7	7,8 ± 1,2	4,5 ± 1,0	8,1 ±1,7
% Concentrado dieta	30 ± 11	21 ± 8,1	39 ± 4,9	25 ± 5,7	40 ± 8,1
% Pastura dieta	40 ± 18	53 ± 17	28 ± 12	43 ± 13	27 ± 14
Productividad (litros/haVT/año)	7457 ± 3548	4659 ± 1734	6632 ± 1528	8765 ± 3502	11015 ± 3129

VT: vaca total (vaca seca + vaca ordeño), VO: vaca ordeño; BCaBCo: baja carga y bajo concentrado, BCaACo: baja carga y alto concentrado, ACaBCo: alta carga y bajo concentrado, ACaACo: alta carga y alto concentrado.

Los indicadores ambientales evaluados fueron: Balance de nitrógeno (BN), Balance de fósforo (BP), Eficiencia en el uso de N (EUN), Eficiencia en el uso de P (EUP), Costo energético (Costo E) por litro de leche (MJ/litro leche) y Eficiencia en el uso de la energía fósil (EE) (Tieri y otros, 2014). Para evaluar la asociación entre los indicadores productivos y los ambientales de los sistemas en estudio, se realizó un análisis de correlación de Spearman.

Los ingresos y egresos de N y de P y el excedente de cada nutriente expresado por unidad funcional (Figura 1), fueron calculados para cada sistema según la metodología propuesta por Koelsch y Lesoing (1999). Para todos los nutrientes, los ingresos al predio se estiman a partir de las cantidades de fertilizantes, concentrados, forrajes, animales y deposición atmosférica. Cuando se trata de nitrógeno se toma como un ingreso de nitrógeno al N₂ fijado por las leguminosas (FBN), el cual, se estima como el 60% del contenido de nitrógeno en la MS producida por la especie (Carbo,

2011). Además, se tuvo en cuenta como ingreso al N depositado por las precipitaciones el cual representa 0,01225 kg de N por cada mm de lluvia caída (Hein et al, 1981). Los nutrientes son removidos del sistema como animales y productos vendidos (carne, leche, granos, forrajes). Finalmente se evaluó qué proporción del nutriente total ingresado al predio salió del mismo en los productos leche y carne mediante el cálculo de las eficiencias en el uso de los nutrientes [(egreso N-P / ingreso N-P) x 100] (Herrero et al., 2006a).

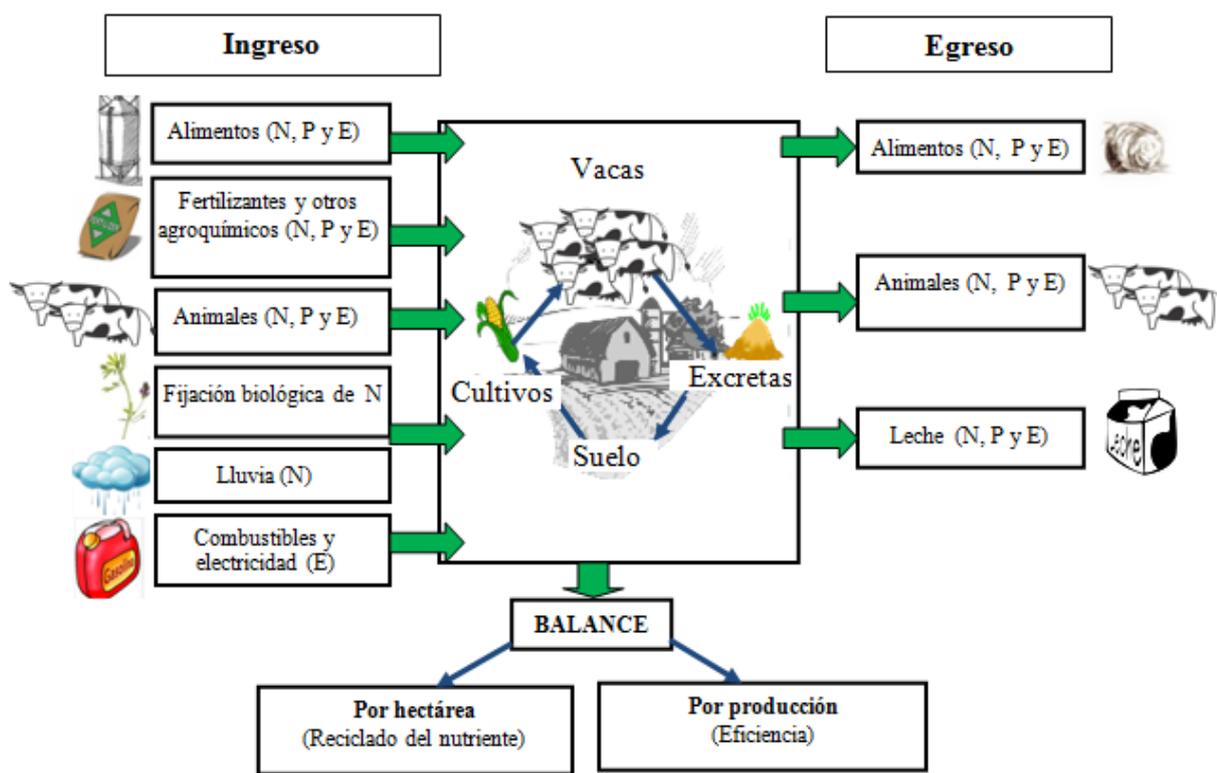


Figura 1: Ingresos y egresos de un sistema lechero para la evaluación de los balances de Nitrógeno y fósforo y el cálculo del consumo energético (adaptado de Ketterings y otros, 2016).

En el caso de la energía (E), se contabiliza el total de la energía importada, diferenciando energía directa e indirecta. La energía directa es aquella consumida en las labores vinculadas a las actividades productivas, incluyendo combustibles (gasoil, nafta, gas licuado), lubricantes y electricidad (Denoia y otros, 2008). La energía indirecta ingresada incluye a la energía involucrada en el proceso de producción de los fertilizantes, semillas, herbicidas, insecticidas, alimentos balanceados y las labores realizadas para la producción de los alimentos importados al sistema. Para obtener el ingreso de energía, se multiplica la cantidad de cada insumo por su correspondiente contenido energético. Para determinar la salida de energía se considera la producción anual por hectárea de cada sistema y se multiplica por el contenido energético del mismo. Para evaluar el uso de la energía se emplea la eficiencia energética (EE), indicador derivado de la relación entre los egresos e ingresos de energía al sistema y la productividad energética, la cual representa la cantidad de litros de leche producidos cada 100 MJ (Tierí y otros, 2014).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los balances de nitrógeno fueron positivos, encontrándose entre 105 a 186 kg N/haVT. La EUN en los sistemas fue del 22 al 27% (Tabla 2). El sistema BCaBCo presentó los menores excedentes de N, sin embargo, obtuvo lamás baja EUN dada por su menor productividad y carga. Los sistemas ACaBCo y ACaACo presentaron un mejor aprovechamiento de N. Sin embargo, los sistemas con ACaACo tienen mayores excedentes de N, pudiendo representar un mayor riesgo de contaminación. Para el BN se observó una correlación principalmente con la productividad de los sistemas ($r_s=0,59$) y con el % de pasturas en la dieta ($r_s=-0,54$). Es por ello que el aumento de la carga como estrategia productiva tuvo mayor impacto en el aumento de los BN (37,5%) con respecto al aumento de concentrados (28,8%). Con respecto a la EUN, la misma mostró una mayor asociación con el BN ($r_s=-0,44$) y en menor medida con la productividad ($r_s= 0,37$), siendo las estrategias con alta carga animal (ACa) las más eficientes en el uso del nutriente.

Tabla 2: Indicadores ambientales asociados a las cuatro estrategias productivas definidas.

Indicadores	Promedio general	BcaBco	BcaAco	AcaBco	AcaAco
BN (kg/haVT)	138 ±58	105 ± 44	134 ± 48	143 ± 45	186 ± 61
EUN (%)	24 ±7,5	22 ± 7,9	24 ± 7,5	27 ± 6,9	26 ±6,2
BP (kg/haVT)	7,9 ± 9,5	3,4 ± 5,2	11 ± 9,8	2,5 ± 5,0	16 ± 11
EUP (%)	53 ±21	60 ± 21	46 ± 22	65 ± 17	45 ±16
Costo E (MJ/litro leche)	6,3 ±2,3	5,6 ± 2,2	7,3 ± 2,1	5,5 ± 1,7	7,1 ± 2,7
EE (%)	55 ± 27	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,3

VT: vaca total, VO: vaca ordeño; BN: balance de nitrógeno, EUN: eficiencia del uso del nitrógeno, BP: balance de fósforo, EUP: eficiencia de uso de fósforo, Costo E: costo energético, EE: eficiencia de uso de la energía fósil.

Para el caso del P, los balances se encontraron entre 2,5 a 16 kgP/haVT, siendo los sistemas BCaACo y ACaACo aquellos con mayores excedentes de P. Ello se debe a que se observó una alta correlación entre los BP y el % de concentrado en la dieta ($r_s=0,74$). En consiguiente, los BP fueron mayores en aquellos tambos con mayor cantidad de concentrado, principal fuente de P, independientemente del aumento de la carga. Cabe aclarar que BCaBCo y ACaBCo tuvieron una cantidad importante de casos con balances negativos, indicando que estos sistemas están realizando una extracción del P existente. La EUP se encuentra inversamente correlacionada con el BP ($r_s=-0,91$) y con el porcentaje de concentrado en la dieta ($r_s=-0,62$). Por lo tanto, aquellos sistemas con bajo concentrado fueron los más eficientes.

Con respecto al costo energético (MJ/litro leche) y la eficiencia en el uso de la energía fósil, los mismos estuvieron fuertemente correlacionados con el % de concentrados en la dieta ($r_s=0,55$ y $-0,55$, respectivamente), por lo tanto, los sistemas con alta cantidad de concentrado (ACo), tuvieron un mayor costo de energía fósil por litro de leche debido a una menor eficiencia en el uso de la misma. Por consiguiente, la mayor producción de leche conduce a una reducción de la intensidad de energía por litro de leche producido. Sin embargo, dicho efecto se reduce con el aumento del rendimiento de la leche, debido a los mayores niveles de concentrado en la dieta. Por lo tanto, el

aumento en la producción de leche se acompaña principalmente por el aumento de las tasas de sustitución, que causan un aumento de la intensidad de la energía por litro de leche producido.

CONCLUSIÓN

En las condiciones en las que se desarrolló este trabajo se constata el efecto del nivel de concentrado sobre la eficiencia de uso del nitrógeno, del fósforo y de la energía, mientras que la carga animal tiene efectos sólo sobre el primero. Estos resultados permiten diseñar y proponer estrategias de manejo de los sistemas que permitirían reducir los excedentes de nutrientes y mejorar la eficiencia en el uso de los mismos, al igual que la energía. La eficiencia en el uso del nitrógeno podría mejorarse mediante un manejo eficiente de las pasturas, permitiendo un aumento de la carga animal. En el caso del fósforo, una mayor conversión de los alimentos concentrados en leche impactaría en la mejora de la eficiencia en el uso del mismo, al igual que para la energía.

Los indicadores evaluados en el trabajo son parte de un amplio sistema de evaluación del impacto ambiental de la producción agropecuaria. Por ello, es recomendable trabajar con un punto de vista holístico al momento de realizar recomendaciones en prácticas de manejo sustentable de los sistemas, relacionado por un lado a los impactos ambientales, y por el otro teniendo en cuenta los aspectos sociales y el bienestar de los animales.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro, M., Salazar, F. 2005. Ganadería y contaminación difusa, implicancias para el sur de Chile. *Agricultura Técnica* 65 (3): 330-340.
- Carbó, L.I., 2011. Balances de nutrientes como herramienta para estimar el potencial para el reciclado de los efluentes de tambo en recursos forrajeros. Tesis de la Especialidad en Manejo de Sistemas Pastoriles Facultad de Agronomía – UBA.
- Viglizzo, E.F y Roberto Z.E., 1997. El componente ambiental en la intensificación ganadera. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 17(3): 271-292.
- Centeno, A., Gastaldi, L., Suero, M., Litwin, G., Maekawa, M., Engler, P., Cuatrin, A., Comeron, E. 2015. Análisis de estrategias productivas en los tambos argentinos: efecto de la carga animal y el uso de concentrados sobre el resultado de la empresa. *INTA Lechero*, N° 4.
- Charlon, V. 2009. Proyecto INTA N°071040 (2009-2012). Estudio de aspectos operativos y ambientales en sistemas lecheros intensificados.
- Denoia, J., Bonel, B., Montico, S., Di Leo, N., 2008. Análisis de la gestión energética en sistemas de producción ganaderos. *Revista FAVE – Ciencias Agrarias UNR.* 7(1-2).43-56.
- Herrero, M.A., Gil, S.B., Flores, M.C., Sardi, G.M., Orlando, A.A., 2006a. Balances de nitrógeno y fósforo a escala predial, en sistemas lecheros pastoriles en Argentina. *RevistaInVet*, 8(1): 9-21.
- Herrero, M.A., Gil, S.B., Sardi, G.M., Flores, M.C., Carbó, L.I., Orlando, A.A., 2006b. Transferencia de nutrientes del área de pastoreo a la de ordeño en tambos semiextensivos en Buenos Aires, Argentina. *RevistaInVet*, 8(1):23-30.
- Ketterings, Q., Cela, S., Czymmek, K., Crittenden, S. (2016). What is the Nutrient Balance of Your Dairy Farm? Department of Animal Science, Cornell University.
<http://blogs.cornell.edu/whatscroppingup/2016/04/20/what-is-the-nutrient-balance-of-your-dairy-farm/> [09/09/2016].
- Lewandowski, I., Faaij, A.P.C. (2005). Steps towards the development of a certification system for sustainable bio-energy trade. *Biomass&Bioenergy* 30: 83-106.

- Montico, S., Bonel, B., Di Leo, N., Denoia, J., 2007. Revista Científica de la UNLAR 2 (3): 7-14. Gestión de la energía en el sector rural: Cuenca del arroyo Ludueña, Sta.Fe.
- Salazar, F., Alfaro, M., Dumont, J. 2008. Clean Production Agreement for dairy farmers in the South of Chile: a collaborative initiative of the government and farmers to improve environmental management. Proceeding of RAMIRAN. pág. 299-302.
- Tieri, M.P., Comeron, E., Pece, M.A., Herrero, M.A., Engler, P., Charlon, V., Garcia, K., 2014. Indicadores utilizados para evaluar la sustentabilidad integral de los sistemas de producción de leche con énfasis en el impacto ambiental. Public. Miscelánea.ISSN 2314-3126. Año 2:1.

AGRADECIMIENTOS

A los responsables de las encuestas: Laura Gastaldi, Gabriela Litwin; Patricia Engler, Marina Maekawa, Alejandro Centeno, a los encuestados y a INTA por la financiación (Proyecto PNPA1126043).

LA HUELLA DEL AGUA EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA DE LECHE EN ARGENTINA

CHARLON, V.^{1*}; TIERI, M.P.¹; FRANK, F.²; ENGLER, P.³

¹INTA EEA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34, km 227

²INTA EEA Anguil, Anguil, La Pampa, Argentina Ruta 5, km 580

³INTA EEA Paraná, Oro Verde, Entre Rios, Argentina Ruta 11, km 12.5

*Autor de contacto: tieri.maria@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La agricultura en el siglo 21 se enfrenta a múltiples retos: producir más alimentos y fibras para alimentar a una población en crecimiento con una fuerza laboral rural más pequeña y más materias primas para bioenergía, contribuir al desarrollo general de muchos países dependientes de la agricultura, adoptar métodos de producción sostenibles y más eficientes y adaptarse al cambio climático (FAO, 2009).

La producción agropecuaria en general y la lechería en particular, utilizan grandes volúmenes de agua tanto en forma directa como indirecta. La mayoría de los estudios coinciden que si bien hay en forma general recursos hídricos en el mundo para satisfacer la demanda de alimentos, su disponibilidad geográfica es desigual incluso dentro de un mismo país. La producción agropecuaria representa entre el 30% y 40% de los retiros de agua dulce en los países desarrollados y el 90% en los países en desarrollo (Schwarz, 2009).

En los últimos años, ha crecido la preocupación por el impacto de esta actividad en el recurso hídrico, instalando la necesidad de desarrollar indicadores que dieran cuenta de la magnitud e intensidad con que la humanidad, utiliza los recursos de agua dulce. Una de las herramientas metodológicas que puede aportar soluciones a la de gestión del agua es la Huella Hídrica (HH). La HH es un indicador del consumo y contaminación de agua dulce, que fue desarrollado por la Water Footprint Network (WFN). Este indicador se define como la cantidad de agua necesaria para producir un producto y asimilar los contaminantes que se generan a partir de él, distinguiéndose la HH Azul (HH A), que se refiere al consumo de agua dulce, superficial o subterránea, en toda la cadena de producción de un producto, la HH Verde (HH V), representa el consumo de agua de lluvia almacenada en el suelo y que se incorpora en los productos agrícolas y la HH Gris (HH G) que está definida como el volumen de agua dulce que se requiere para asimilar una carga de contaminantes dados las concentraciones naturales y estándares ambientales de calidad de agua y se refiere a la contaminación (Hoekstra et al 2009). Por otro lado, la comunidad científica ligada al Análisis de Ciclo de Vida (ACV), mediante el proyecto WULCA (PNUMA SETAC, 2009) ha propuesto enfoques alternativos. Recientemente, se han logrado avances mediante el desarrollo de la norma ISO 14046:2014, norma internacional que especifica los principios, los requisitos y las directrices relacionados con la evaluación de la Huella de agua de productos y procesos, basándose en el enfoque de ACV. Específicamente para los sistemas productivos ganaderos, existen esfuerzos internacionales para la estandarización de procedimientos de cómputo y análisis (Charlon y Civit, 2016).

Adicionalmente, la HH reviste importancia estratégica desde el punto de vista del comercio internacional. En la actualidad, existen convenciones internacionales y mecanismos comerciales que fijan pautas y eventualmente ejercen presiones o restricciones para el respeto de estándares de calidad y crecientemente requieren la certificación de los procesos productivos (Frank et al., 2014).

De la Huella Hídrica total del sector agropecuario en el mundo, el 29% está relacionado con la producción de productos de origen animal y una tercera parte ésta se relaciona con el ganado vacuno (Mekonnen & Hoekstra, 2012). El agua es un insumo crítico en la actividad lechera, ya sea para la obtención de la alimentación animal y la bebida, como para los procesos de limpieza y disposición de efluentes, en diferentes etapas de la rutina de ordeño e industrialización. En países como Argentina, la HH del sector agropecuario constituye el componente crítico y determinante de este indicador en los productos agroalimentarios, debido a que la producción primaria es el eslabón con mayor peso en la Huella. Si bien en los últimos años en nuestro país ha crecido la cantidad de estudios sobre la sustentabilidad ambiental de los sistemas de producción de leche, son escasos los referidos al impacto ambiental de éstos sobre los recursos hídricos.

El objetivo de este trabajo fue estimar la Huella Hídrica en los sistemas productivos lecheros predominantes en las cuencas lecheras de la Argentina y evaluar la eficiencia de uso del agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

En base a los modelos de sistemas de producción elaborados por INTA-SAGPyA (2009) y actualizados con referentes técnicos regionales, se construyeron inventarios de uso de agua para los sistemas productivos lecheros de las cuencas: Santa Fe centro (SFE), Buenos Aires oeste (BA), Córdoba Villa María (CVM), Córdoba noreste (CNE), Entre Ríos centro (ER), San Luis (SL), considerando la escala de producción predominante en cada zona. En la Tabla 1 se presenta la caracterización de los modelos empleados para cada cuenca.

Se utilizó la metodología propuesta por la WFN (Hoekstra et al., 2011). La HH se cuantificó como la suma del HH A y el HH HH V, excluyéndose del estudio la HH G, por la controversia actual sobre su cálculo. Se utilizó el ClimWat 2.0[®] y Cropwat 8.0[®] de FAO para los cálculos de consumo de agua para la HH V de los recursos forrajeros y los cultivos producidos y de los alimentos comprados). La unidad de referencia fue litros de agua por kg de leche corregida por grasa y proteína (LC) y el factor de ponderación (FP) entre los productos y co-productos del tambo (leche y carne) se utilizó el criterio de cocientes leche/carne, utilizando la siguiente fórmula: $FP_{leche} = 1 - 5,7717 * R$, siendo $R = \text{kg carne/kg leche}$ (IDF, 2010). Se computaron los consumos de agua para HH A de: bebida (vaca ordeño y vaca seca), del proceso (energía fósil –gas licuado, combustibles, electricidad- y limpieza de equipamiento e instalaciones y rutina ordeño), del transporte de alimentos y de la aplicación de agroquímicos, expresados en volumen consumido por unidad de producto (l agua/kg LC) para cada modelo.

Tabla 1. Caracterización de los modelos empleados para cada cuenca lechera analizada

Características	Modelos por Cuenca Lechera ¹					
	SFE	BA	CVM	CNE	ER	SL
Nº Vaca Total (VT) ²	132	654	233	231	45	65
Superficie tambo (ha)	120	590	228	244	57	119
Producción individual (kg LC/VO/año)	5.838	6.970	7.080	7.035	6.560	6.560
Producción anual (kg LC/año)	770.611	3.533.605	1.649.715	1.625.117	295.178	426.368
Carga (cabezas VT/ha)	1,42	1,1	1,29	1,20	0,96	0,69
Pastura en la dieta (%)	47	49	43	33	39	53
Forraje conservado (maíz/sorgo) (%)	33	24	23	31	36	10
Alimento concentrado (%)	20	27	34	36	25	38
kg Concentrado/VO/día	3,65	6,0	6,7	7,7	3,8	6,8
Riego (ha)	0	0	0	0	0	100

¹SFE: Santa Fe centro; BA: Buenos Aires oeste; CVM: Córdoba Villa María; CNE: Córdoba noreste (CNE), ER: Entre Ríos centro; SL: San Luis. ²Vaca Total (VT)= Vaca Ordeño (VO) + Vaca Seca (VS); LC: Leche Corregida por grasa y proteína

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los modelos productivos analizados, más del 99% de HH es Verde, dado que los sistemas son de base pastoril y la dieta está compuesta principalmente por forraje y silo (Figura 1).

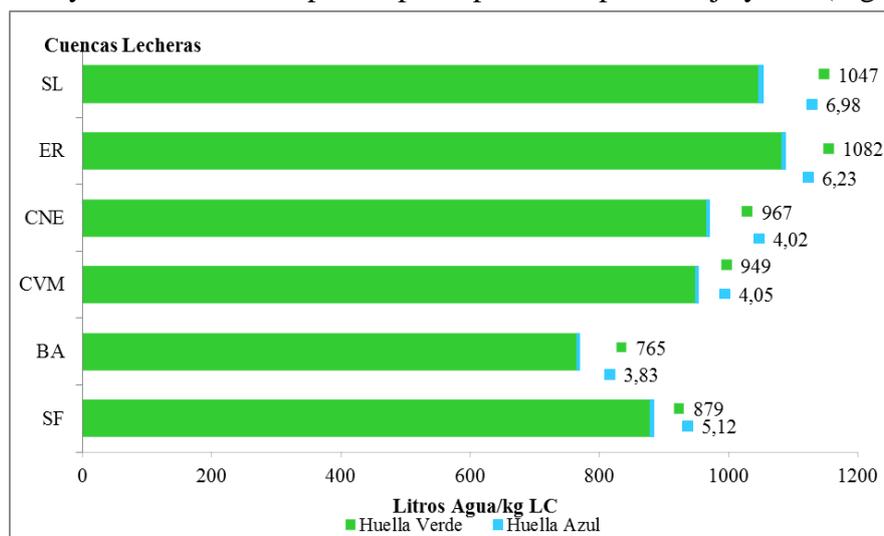


Figura 1. Huella Hídrica Verde y Azul para cada cuenca lechera analizada, expresada en litros de agua/kg Leche Corregida.

La HH V proveniente de los alimentos producidos en el mismo predio representó 54,3; 59,0; 69,6; 79,7; 82,7 y 86,3% para CVM, CNE, BA, SF, SL y LP, respectivamente. El valor de consumo de HH A promedio fue de 5,04 l agua/kg LCGP, con un mínimo de 3,83 (BA) y un máximo de 6,98 (SL, con riego). Los valores obtenidos de consumo de agua, independientemente de la cuenca lechera analizada, muestran la importancia del consumo de agua de bebida, como el componente de mayor impacto, encontrándose una participación según el modelo que varió entre 49-86%, seguido por el agua usada en el proceso, donde se destaca la gran variabilidad entre las cuencas: 13% (BA),

18% (CVM y CNE), 26% (SF), 29% (SL) y 45% (ER). El agua consumida en el proceso de ordeño (higiene de equipamiento de ordeño y rutina de limpieza) para ER fue mayor (45%) y la menor se obtuvo en BA (13%). Si bien las condiciones ambientales son diferentes, valores similares fueron encontrados en la bibliografía. Drastig et al. (2010) calculó un consumo de 3,6 l HH A por kg de leche, siendo el agua de bebida animal, la variable de mayor impacto. En Brasil se determinaron valores de HH A entre 3,85 L y 5,6 l / l leche (Palhares et al., 2015). En la Tabla 2 se muestran los componentes de la HH A y HH V consumida para cada modelo productivo de cuenca. A partir de esta se puede comparar el consumo y la eficiencia de uso del agua según cuenca lechera. El mayor impacto en estos valores se debe al consumo de agua para la rutina de ordeño y limpieza de las instalaciones, el cual depende directamente de las características de las mismas, su productividad y el manejo. En cuanto el riego, solo en cuenca SL, representó el 20% del consumo total de agua.

Tabla 2. Indicadores de consumo y eficiencia de uso de agua para cada cuenca analizada.

	SF	BA	CVM	CNE	ER	SL
Factor de ponderación	0,84	0,84	0,84	0,86	0,83	0,89
	l agua/kg LC					
Alimentos del predio	699,94	532,28	515,65	570,90	933,61	865,42
Alimentos externos (AE)	178,8	232,54	433,64	396,17	148,49	181,47
Total Huella VERDE	878,74	764,82	949,29	967,07	1082,10	1046,89
Transporte (AE)	0,003	0,003	0,001	0,001	0,002	0,001
Aplicación agroquímicos	0,028	0,029	0,046	0,038	0,023	0,114
Riego						1,386
Proceso	1,317	0,490	0,737	0,722	2,827	2,055
Bebida rodeo	3,774	3,308	3,264	3,264	3,377	3,429
Total Huella AZUL	5,12	3,83	4,05	4,02	6,23	6,98
HUELLA HIDRICA (Verde+Azul)	883,76	769,07	953,25	970,66	1088,55	1053,62

El menor valor de Huella se obtuvo en el modelo representativo de BA, con 769 l agua/kg LC, si bien tuvo una alta HH Azul debido al consumo de agua de bebida, la mayor productividad individual y por hectárea, compensó este valor. Los modelos representativos de SL y ER fueron los que presentaron los valores más altos de HH, debido al uso del riego y a la baja eficiencia productiva. Los valores obtenidos por HH (WFN) fueron similares a los obtenidos en estudios de Argentina (Charlon et al, 2015; Moyano Salcedo et al, 2015) y de Nueva Zelanda (Zonderland-Thomassen et al, 2012), e inferiores al promedio mundial, de 1587 l/kg LC, mencionado por Sultana et al (2014).

CONCLUSIÓN

El indicador de Huella Hídrica establece una relación directa entre los sistemas hídricos y los procesos productivos. Esta vinculación permite cuantificar la magnitud de la cantidad de agua utilizada y los riesgos potenciales a los que se enfrenta un sistema productivo brindando información de dónde y cómo se utiliza el recurso hídrico. Esta información debería permitir la

mejora de la gestión del recurso agua, aportando al diseño de políticas locales y nacionales de sustentabilidad ambiental y productiva.

La HH total de un sistema de producción de leche pastoril, está representado principalmente por la HH Verde, independientemente de la cuenca evaluada. Las diferencias de Huellas entre cuencas resultan de las diferentes estructuras entre y dentro de los modelos y a las características agroecológicas. Del análisis de los resultados, se desprende que es necesario identificar para cada sistema de producción los distintos componentes del consumo total de agua y los puntos críticos. Incorporando estrategias de manejo y producción (mejoras en eficiencia de conversión de alimentos, en la utilización de pasturas, en las instalaciones de agua, etc.), se podrá optimizar el consumo de agua dulce en los sistemas productivos lecheros y disminuir impactos ambientales negativos.

Es clave para los países poder generar estimaciones nacionales que reflejen el real desempeño de las diversas actividades productivas (Frank et al., 2014). Este estudio es una primera aproximación para caracterizar y cuantificar el uso y el consumo del agua en los sistemas lecheros de la Argentina.

Como continuación del presente trabajo se analizarán los modelos, con los índices relacionados con la escasez de agua regional a fin de profundizar en la eficiencia de uso y el impacto local, además de otros indicadores que evalúen la degradación del agua en los ecosistemas.

BIBLIOGRAFÍA

- Charlon V y Civit, B. 2016. Directrices para la evaluación de la Huella del Agua para sistemas de producción ganaderos. Actas del V Encuentro Argentino de Ciclo de Vida y IV Encuentro de la Red Argentina de Huella Hídrica ENARCIV 2016, 21-23/septiembre/2016, Tucumán, Argentina
- Charlón, V.; Manazza, J. F.; Tieri, M. P.; Rodríguez, C.; Engler, P. 2015. Huella hídrica en tambos según diferentes sistemas de producción. Avances y estado de situación en análisis de ciclo de vida y huellas ambientales en Argentina. Actas ENARCIV 2015, Córdoba, Argentina
- Drastig, K.; Prochnow, A.; Kraatz, S.; Klauss, H.; Plochl, M. 2010. Water footprint analysis for the assessment of milk production in Brandenburg (Germany). *Adv. Geosci.* 27, 65-70.
- FAO. 2009. High Level Expert Forum - How to Feed the World in 2050. Office of the Director, Agricultural Development Economics Division. Economic and Social Development Department FAO_Rome, Italy
- Frank, F; Montero, G.; Ricard, F.; Sirotiuk, V.; Viglizzo, E. 2014. La huella de carbono en la agroindustria. Editado por E. Viglizzo - 1a ed. Ediciones INTA, 2014. Pág.3-26.
- Hoekstra, A.Y.; Chapagain, A.K.; Aldaya, M.M.; Mekonnen, M.M. 2009. Water footprint manual: State of the art 2009. Enschede, the Netherlands: Water Footprint Network. [en línea] <http://waterfootprint.org/en/resources/publications/> [consulta: 1 de agosto de 2016].
- Hoekstra, A.; Chapagain, A.; Aldaya, M.; Mekonnen, M. 2011. The Water Footprint Assessment Manual. Setting the Global Standard. Earthscan, London, Washington, DC
- IDF (International Dairy Federation). 2010. A common carbon footprint approach for dairy. The IDF guide to standard life cycle assessment methodology for the dairy sector. Bulletin 445/2010. Brussels, Belgium. 46 p
- ISO. 2014. Environmental management-Water footprint-Principles, requirements and guidelines. International Organization for Standardization. Geneva.
- Mekonnen, M.M. y Hoekstra, A.Y. 2012. A Global Assessment of the Water Footprint of Farm Animal Products. *Ecosystems* 15:401-415

- Palhares J.C.; Macedo Pezzopane, J.R.; 2015. Water footprint accounting and scarcity indicators of conventional and organic dairy production systems. *Journal of Cleaner Production* 1(1):1 · January 2015
- Schwartz, H.J. 2009. Water footprint of beef production-critical review of current approaches. In: *International Conference on Water Policy (Economics and Social Issues in the Face of Water Scarcity)*, Prague.
- Sultana, N.; Uddin, M.; Ridoutt, B.; Hemme, T.; Peters, K. 2014. Benchmarking consumptive water use of bovine milk production systems for 60 geographical regions: An implication for Global Food Security. *Global Food Security* (2014).
- UNEP / SETAC. 2009 Guidelines for social life cycle assessment of products. United Nations Environment Programme, Paris
- Moyano Salcedo, A.; Tieri, M.P.; Herrero, M. A. 2015. Huella hídrica en establecimientos lecheros de Buenos Aires, Argentina. Avances y estado de situación en análisis de ciclo de vida y huellas ambientales en Argentina. *Actas ENARCIV 2015*, Córdoba, Argentina
- Zonderland-Thomassen, M.A.; Ledgard, S.F. 2012. Water footprinting – A comparison of methods using New Zealand dairy farming as a case study. *Agricultural Systems* 110 (2012) 30–40

UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE LECHE INTENSIVA RESULTADOS 2011-2016.

PECE, M.A.*; MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., TIERI, M.P., SCANDOLO, D.,
VERA, M., VITULICH, C. y CHARLÓN, V.

¹ INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227

* Autor de contacto: pece.mariela@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Desde setiembre de 1980 en la EEA Rafaela del INTA se encuentra en actividad un sistema de producción de leche (actualmente Unidad de Producción de Leche Intensiva, UPLI), que ha transitado a lo largo de más de 3 décadas en funcionamiento por distintas etapas que comprendieron modificaciones estructurales y planteos productivos (Tieri et al., 2014). En el año 2011 se elaboró una propuesta que plantea el seguimiento y valoración del proceso de intensificación con la necesidad de abordar la sustentabilidad desde sus tres dimensiones: productiva, ambiental y socioeconómica, lo que denota su complejidad y por ende la necesidad de un abordaje sistémico con la participación de un grupo multidisciplinario.

Los sistemas de producción de leche están en proceso de intensificación para aumentar la productividad y el resultado económico. En la práctica, una de las formas de aumentar la producción por hectárea es a través del aumento de la carga animal. Esto implica contar con forrajes conservados, manejar adecuadamente los recursos forrajeros (pasturas, verdeos, silajes) y los niveles y tipo de suplementación con concentrados. Asimismo, intensificar supone incrementar el uso de energía externa ya sea por combustibles o agroquímicos y por alimentos. Estas estrategias le imponen al sistema de producción costos que, en el largo plazo, pueden comprometer su sustentabilidad y generalmente son desconocidos.

Por la importancia de la lechería en la zona de influencia de la EEA Rafaela, contar con un sistema de producción de leche intensificado en condiciones controladas que evalúe el impacto de las prácticas y/o tecnologías que se implementen con la participación de un grupo multidisciplinario de profesionales y técnicos constituye una gran oportunidad. La propuesta de intensificación se basa en el aumento de carga de 2,10 vacas totales (VT)/ha total (ciclo 2010-2011) a 2,70 VT/ha total según estimación de carga potencial (Galli, 1997). Baudracco et al. (2011) realizaron un ensayo para evaluar el efecto de la carga (1,6, 2,1 y 2,6 VT/ ha total) sobre la eficiencia del sistema usando vacas cruce Holstein x Jersey en pasturas base alfalfa (*Medicago sativa L.*) suplementadas con silo de sorgo alto en taninos. Con el aumento de la carga de 1,6 a 2,6 VT/ha total, la producción de leche aumentó 5.840 kg/ha/año ($p < 0,05$; 11.366 a 17.206 kg/ha/año) y la producción de sólidos útiles (SU, grasa y proteínas) aumentó 443 kg/ha/año ($p < 0,05$; 843 a 1286 kg/ha/año) sin afectar la salud de los animales y la eficiencia reproductiva. Cabe remarcar que el valor de carga objetivo (2,70 VT/ha total), es cercano al mayor valor evaluado por Baudracco et al. (2011) para un bloque de parición primaveral (época de mayor oferta de forraje), lo que brinda un sustento para poder aumentar el número de animales en producción.

En este trabajo se presentan resultados de 5 ciclos productivos: 4 previos al aumento de la carga y 1 con mayor carga. En los primeros 4 ciclos la carga se mantuvo relativamente estable. Esto permitió generar información en condiciones ambientales diferentes en función del año, que se utilizará como base para comparar. Además, en este lapso de tiempo se realizaron algunos ajustes en infraestructura e instalaciones para mejorar las condiciones de trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La UPLI está ubicada sobre la ruta nacional N°34 en el km 227 a 7 km de la ciudad de Rafaela, en el centro oeste de la Provincia de Santa Fe (lat Sud: 31°12', Long Oeste: 61°30' a 99msnm). Se han identificado hasta el presente tres series de suelos: Rafaela (Argiudol típico), Lehmann (Argiudol ácuico) y Castellanos (Argialbol típico)¹. La rotación de cultivos comprende un ciclo de 5 años, que incluye 3 años de pasturas y 2 años de cultivos anuales destinados a la confección de reservas para la alimentación del rodeo.

El rodeo está formado por vacas cruza (Holando x Jersey) obtenidas por un cruzamiento rotacional alternado, que consiste en alternar las razas de los toros utilizados en cada generación. El manejo de las pariciones y los servicios es biestacionado o en dos bloques (B₁: partos en febrero, marzo y abril; servicios en mayo, junio y julio y B₂: partos en julio, agosto y setiembre; servicios en octubre, noviembre y diciembre). La detección de celos (con ayuda de pinturas en la base de la cola) y la inseminación artificial (IA) se realizan dos veces por día según regla AM/PM. El diagnóstico de preñez se efectúa mediante ecografías cada 21 días.

La crianza de ternera/os se realizaba en estaca (a partir del año 2013 comenzó a funcionar en la Experimental la Unidad de Crianza artificial a la que se derivan). Las vaquillonas preñadas reingresan al sistema entre 4 y 6 semanas preparto.

La alimentación de las vacas en ordeño está compuesta por pasturas base alfalfa aprovechadas a través de pastoreo rotativo en franjas diarias, definidas según período de aprovechamiento y descanso en función de la época del año y representa entre un 40 y 60 % de la dieta total según el grupo de alimentación, la época y las condiciones meteorológicas. El resto de la dieta se completa con silaje planta entera de maíz y/o sorgo, grano de maíz y/o sorgo seco molido, semilla de algodón, pellets de soja o girasol, ingredientes mezclados y distribuidos a través de un mixer. Un balanceado comercial se suministra durante los ordeños. El ordeño se realiza dos veces por día, a las 4:30 am y a las 15:30 pm. La duración del ordeño es de aproximadamente 2:00 hs. El rodeo se divide en grupos en los cuales la alimentación es diferencial. Los grupos se arman en función del momento de lactancia, la producción individual, condición corporal y preñez. La cantidad de grupos varía entre 2 (punta y cola) y 3 (punta se divide en multíparas y primíparas y cola). Los grupos y las dietas respectivas se verifican y si es necesario se reajustan mensualmente a partir de la información brindada por el control lechero que realiza la Sociedad Rural de Rafaela, del registro de peso vivo, condición corporal y del resultado del diagnóstico reproductivo.

¹Responsable: R. Tosolini y R. Giorgi; Participantes: V. Sapino, C. León, D. Gialevera y D. Zapatero

Las vacas se secan 60 días previos a la fecha probable de parto o cuando su producción (según control lechero) es menor a 10 litros. El secado es terapéutico. Las vacas secas se alimentan con pasturas base alfalfa a través de pastoreo rotativo en franjas, pudiendo suministrarse silaje según la condición. Veintiún días previos al parto se las encierra en corral con dieta preparto que contiene sales aniónicas (mientras a las vaquillonas se les suministra sales no aniónicas).

La intensificación planteada a través del incremento de la carga de 2,10 VT/ha total (ciclo 2010-2011) a 2,70 VT/ha total se implementó disminuyendo la superficie de 108 has (durante los 4 ciclos productivos previos al aumento de carga) a 85,8 has (en el primer ciclo productivo con mayor carga). Dicho proceso comprende: un manejo integrado del suelo y las rotaciones, manejo de la alimentación, la aplicación de paquetes tecnológicos relacionados con genética, reproducción, el monitoreo de la sanidad y una gestión integral del ambiente.

La valoración y el manejo de un sistema de producción requiere de información confiable, sistematizada y continua para poder elaborar indicadores que permitan diagnosticar y planificar en consecuencia, caracterizar situaciones y realizar seguimiento del sistema teniendo en cuenta que muchos procesos se manifiestan en el mediano y largo plazo. Se registró y relevó información correspondiente al período 2011-2016 sobre características agroecológicas, superficie, uso de la tierra, dinámica del rodeo (ingresos y egresos), suplementación, productividad, calidad higiénico-sanitaria de la leche, consumo de energía y planteos técnicos (sistemas de labranza, uso de plaguicidas y aplicación de fertilizantes). A partir de la misma se estimaron en 5 ciclos productivos (4 ciclos comprendidos en el período 2011-2015 previos al aumento de la carga y ciclo 2015-2016 con mayor carga) los indicadores productivos, reproductivos y ambientales mediante las metodologías descritas en Tieri et al. (2014). Se calcularon valores promedios, desvío estándar y coeficiente de variación para los indicadores productivos y ambientales en los 4 ciclos iniciales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las precipitaciones acumuladas fueron de 837, 1.269,9, 1.162, 1.122,8 y 1.280,8 mm para cada ciclo sucesivo (serie histórica 1930-2010: 945,6mm).

Tabla 1: Indicadores productivos, desempeño reproductivo, calidad de leche e indicadores ambientales para el período 2011-2015 por ciclo y promedio, para el ciclo 2015-2016 y valores de referencia en la Unidad de Producción de Leche Intensiva de la EEA Rafaela del INTA

	2011-12		2012-13		2013-14		2014-15		Promedio	2015-16		Referencias
Indicadores productivos												
Superficie (ha total)	108,2		108		108		108			85,8		-
Carga Animal (vaca total/haVT)	2,00		1,95		1,92		1,91		1,95±0,04	2,50		2,7 ³
Producción (litros/vaca ordeño/día)	21,8		22,2		23,5		21,3		22,2±0,94	21,1		22
Productividad (litros/haVT)	13.192		13.716		14.146		12.375		13.357±762	16.448		18.371
Gramos concentrado/ litro ¹	358 (212)		378 (220)		384 (234)		449 (266)		392±39	460 (247)		350-360
Sólidos útiles (kgSU/ha/año)	988		1.014		1.042		903		987±60	1.229		1.377
Desempeño reproductivo												
	Pri	Oto	Pri	Oto	Pri	Oto	Pri	Oto		Pri	Oto	⁴
% preñez 6 semanas	54,7	51,0	44,0	57,3	34,9	59,7	48,6	43,1		48,4	63,6	23-86
% preñez P General	71,7	66,6	61,9	84,5	65,1	80,6	75,7	76,5		64,1	84,8	63-99
Días de servicio	81	86	86	104	98	90	95	110		93	84	-
Calidad leche												
Recuento células somáticas/ml	318.957		403.000		363.500		566.500		413.989 ±107.945	744.264		200.000ml ⁵
Recuento Mesófilas (UFC/ml)	11.764		17.000		14.600		40.000		20.841 ±12.985	51.072		<10.000
Indicadores ambientales												
Balance de N (kgN/ha/año)	279		229		206		239		238±31	317		260 ⁶
Eficiencia uso del N (%)	21,4		27,1		31,0		24,9		26,1±4,02	23		21,3
Balance de P (kgP/ha/año)	24,8		14,8		14,9		17,1		17,9±4,72	30		10,8
Eficiencia uso del P (%)	32,9		48,6		49,9		43,2		43,7±7,73	32		53,2
Huella hídrica (litros agua/kg LCGP)	1102		901		845		978		957±111	964		802
Huella de carbono (kgCO ₂ eq/litros) ²	0,78		0,74		0,72		0,78		0,76±0,03	0,79		0,75

¹Valores entre paréntesis corresponden a balanceado incluido en valor de gramos concentrado ²Calculador de emisiones para tambo (CREA). ³Objetivo, ⁴Rangos del análisis de 124 tambos con servicio estacionado en Australia. InCalf Project, Dairy Research and Development Corporation (DRDC). Pri: primavera. Oto: otoño. ⁵Vitulich *com. per.* ⁶CREA Santa Fe Centro.

La alimentación promedio, expresada en % de materia seca total, fue 31-47 % pastura (en pastoreo), 27-20 % forraje conservado y 43-33 % concentrado en otoño-invierno y primavera-verano, respectivamente. En el Tabla 1 se presentan los indicadores evaluados para el período 2011-2015 por ciclo y promedio, para el ciclo 2015-2016 y valores de referencia. Para los 4 ciclos iniciales la productividad promedio fue de 13.357 ± 762 litros/ha VT, con 1,95 VT/haVT y 22,2 litros/VO/día y concuerdan con los 13.031 litros/ha VT obtenidos en los sistemas del cuartil superior de CREA Santa Fe Centro (2011) con 2,06 VT/haVT y 23,2 litros/VO/día. El desempeño reproductivo se dió dentro de los rangos de referencia. Se observaron bajos % preñez en la semana 6 (% P 6 semanas) en Pri 2013 y Oto 2015, resultado que puede atribuirse a las condiciones generadas por temperaturas elevadas y excesivas lluvias, respectivamente. Los indicadores productivos presentaron coeficientes de variación entre 2 y 10%; los ambientales entre 12 y 18%, con la excepción del Balance de fósforo (23%) y Huella de Carbono (4%). Los de mayor variación fueron el recuento de somáticas y mesófilas con 26 y 62%, respectivamente. En el ciclo 2014-15 el 61% de la precipitación acumulada se produjo entre enero y abril ocasionando anegamiento en detrimento de la productividad, del desempeño reproductivo y de la calidad leche.

En el ciclo 2015-2016 se alcanzó una carga de 2,5 VT/ha VT y una productividad de 16.448 litros/ha, 758 litros/ha menos que la obtenida por Baudracco et al. (2011) con 2,60 VT/haVT para el bloque de parición de primavera. Con respecto al desempeño reproductivo en Pri 2015, si bien la inseminación artificial en las primeras 3 semanas fue del 93,8% (buena respuesta de las vacas al celo), el % de preñez en la semana 6 y el % preñez general fueron bajos. Esto puede deberse a las altas temperaturas registradas en los meses de noviembre y diciembre. El anegamiento que se produjo al final del ciclo fue de mayor gravedad que el acontecido en el ciclo anterior (2014-2015), donde para el mismo período se dio el 64% de la precipitación acumulada. Esto ocasionó la pérdida total de las pasturas y marcadas complicaciones en todos los aspectos del manejo del rodeo en detrimento de la producción, mientras el desempeño reproductivo fue muy bueno. En este contexto, los parámetros de calidad de leche se vieron seriamente afectados. Los balances de nitrógeno (N) y fósforo (P) fueron positivos con valores de 317 y 30 kg/ha/año, respectivamente y superaron a los obtenidos en ciclos anteriores y a los valores de referencia. Charlón y otros (2015) presentaron para un sistema con características similares valores de 332 kgN/ha/año y 45 kg kgP/ha/año. El aumento de la carga estaría indicando una mayor existencia de excedentes de ambos nutrientes en el sistema por el uso de insumos externos (concentrados y fertilizantes). Los valores de eficiencia de uso de N (23%) y de P (32%) resultaron similares a los planteados por Spears et al. (2003 a y b citado por Charlón et al. 2015). En relación a los litros de agua por litro de leche corregida por grasa y proteína (LCGP) el valor obtenido en el último ciclo fue cercano a los 950 litros obtenidos por Hoeskstra (2012) y al valor promedio de los primeros 4 ciclos evaluados en el sistema. La huella de carbono (kg CO₂ equivalente por litro de leche), debido a una disminución de la productividad individual en el último ciclo presentó un valor levemente superior al de los ciclos anteriores y similar al obtenido por Baudracco et al. (2015) con un sistema de características parecidas.

CONCLUSIÓN

En el sistema se aplicaron prácticas de manejo que fueron evaluadas a través de indicadores. En los 4 ciclos correspondientes al período 2011-2015 los indicadores evaluados se mostraron estables en el tiempo, a excepción de los relacionados con calidad de leche y del Balance de P. Los excesos de agua en los ciclos 2014-2015 y 2015-2016 han afectado marcadamente los indicadores productivos y de calidad de leche. En un marco de gestión ambiental la mayor carga de nutrientes indicaría la necesidad de mejorar la eficiencia de uso de los alimentos. El efecto de la carga sobre el sistema deberá seguir siendo evaluado.

BIBLIOGRAFÍA

- Baudracco, J., Lopez-Villalobos, N., Romero, L.A., Scandolo, D.A., Maciel, M., Comeron, E.A., Holmes, C.W. y Barry, T.N. 2011. Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing lucerne pasture. *Animal Feed Science and Technology* 168: 131-143.
- Baudracco, J., García, K., Fariña, S., Charlón, V., Tieri, M.P., Lazzarini, B. y Engler, P. 2015. Emisiones de gases de efecto invernadero en sistemas lecheros de la Argentina. Proyecto MIRAS. Parte V. *Revista Argentina de Producción Animal. Supl. 1*: pág. 125.
- Charlón, V., Tieri, M.P., Engler, P., Baudracco, J. y Fariña, S. 2015. Eficiencia de uso de nutrientes en sistemas lecheros de la Argentina. Proyecto MIRAS. Parte III. *Revista Argentina de Producción Animal. Supl. 1*: pág. 123.
- Galli, J.R. 1997. Planificación forrajera. En: Cangiano, C.A. (ed). *Producción animal en pastoreo*. INTA, EEA Balcarce, Argentina. Cap. 9 págs. 133-134.
- Hoekstra, A.Y. 2012. The hidden water resource use behind meat and dairy. *Animal Frontiers* 2(2): 3-8.
- Tieri, M.P., Pece, M., Comerón, E., Maciel, M., Scándolo, D., Castignani, H., Salado, E., Romero, L., Berca, R., Vera, M., Herrero, M.A., Charlón, V. y García, K. 2014. Evaluación de la sustentabilidad de un tambo de alta productividad con especial énfasis en los aspectos ambientales. INTA. ISSN 2314-3126. Año 2 – N° 2.

AGRADECIMIENTOS

A Darío Arias, Ariel Plattner y Gabriel Schmidt por su valioso trabajo.
Este trabajo se realiza en el marco de SANFE-1261102.

SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO EN VACAS LECHERAS EN PASTOREO CON DIETA PARCIALMENTE MEZCLADA EN LA CUENCA LECHERA SANTAFESINA DURANTE EL PERÍODO ESTIVAL

GHIANO, J.^{1*}; COSTAMAGNA, D.¹; TAVERNA, M.¹; WALTER, E.¹; LEVA, P.²; TOFFOLI, G.; STORERO, S.²; MILLAPÁN, L.³; LUBERRIAGA, V.³; IDONE, L.³

¹INTA EEA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34, km 227

²FCA-UNL, Esperanza, Santa Fe, Argentina, Ruta 70, km

³FAUBA, - Buenos Aires – Argentina, Av. San Martín 4453 - C1417DSE

* Autor de contacto: ghiano.jorge@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Desde el mes de agosto de 2015 está funcionando en INTA EEA Rafaela un Sistema de Ordeño Voluntario (VMS *Voluntary Milking System*) con el objetivo de evaluar el impacto de esta tecnología en aspectos sociales, económicos, productivos y ambientales en un tambo pastoril intensificado.

El VMS, mediante su software DelPro[®] DeLaval[®], realiza de manera automática todas las tareas ligadas al ordeño, la detección de mastitis y la alimentación con concentrados. La particularidad del sistema es que el tráfico de las vacas es voluntario ya que ellas mismas deciden cuando ser ordeñadas. Los diferentes incentivos (alimento, agua, descanso y confort) permiten el movimiento en forma individual o en pequeños grupos y no en forma gregaria como en los tambos convencionales.

El tambo está basado en un sistema tipo pastoril intensivo con suplementación en corrales. El concentrado es asignado en forma individual, en el VMS y en una casilla de alimentación.

El predio está dividido en 3 sectores o “vías”: pastoreo norte, pastoreo sur y corral. La particularidad es que el operario puede decidir el horario de acceso y permanencia de los animales a los diferentes lugares mediante la configuración de puertas inteligentes. Dependiendo la época del año y la oferta de pasturas, se puede configurar el tiempo de permanencia de los mismos en cada sector. más de 90 días de estrés calórico al año.

Los efectos negativos del estrés calórico son ampliamente conocidos (Rhoads, 2009), sin embargo, es de suma importancia evaluar el impacto del mismo sobre el comportamiento y tráfico animal, la frecuencia de ordeño y la producción en sistemas VMS.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desempeño productivo, la frecuencia de ordeño, el bienestar y tráfico animal, y el comportamiento de vacas lecheras en pastoreo con Dieta Parcialmente Mezclada (PMR), en un sistema de ordeño voluntario (VMS) con 1 o 2 vías de pastoreo en la cuenca lechera santafesina durante el período estival.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El estudio se realizó en el VMS, ubicado en las instalaciones del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Rafaela, Santa Fe, Argentina (latitud Sur 31° 15,09' 12" y longitud oeste 61° 29,30' 32") durante el verano 2016.

Animales y tratamientos

Se utilizaron 37 vacas de primera lactancia con 130±60 días en lactancia DEL, 28 litros de producción diaria promedio y 2,75 puntos de score corporal. Los animales tenían acceso al corral, provisto de estructuras de media sombra (80% y 95% de sombreado) con 4 m² de superficie por animal, desde las 08:00 hasta las 18:00 horas. Pasado este horario, se les permitía el acceso a 1 o 2 "franjas" o "vías" de pastoreo hasta las 08:00 horas del día siguiente. La distancia máxima desde el VMS al área de pastoreo era 500 metros. Las vacas disponían de agua *ad libitum* en las inmediaciones del VMS, con 2 bebederos de alta capacidad de recuperación. La distribución de alimento con el mixer se realizaba todas las mañanas a las 08:00 horas. El alimento balanceado se suministraba en el VMS a cada vaca en forma individual, según producción y período de lactancia.

Período experimental

El estudio se realizó durante enero y febrero 2016. Los dos tratamientos evaluados fueron:

- Tratamiento A (2 vías de pastoreo): PMR + franja a (60% de oferta) + franja b (40% de oferta)
- Tratamiento B (1 vía de pastoreo): PMR + franja c (100% de oferta)

La oferta de pastura fue alfalfa (franjas a y c) y soja (franja b).

El tratamiento A se extendió desde el 4 al 19 de enero, y del 8 al 29 de febrero. El tratamiento B, desde el 20 de enero al 7 de febrero.

La composición de la dieta de los animales se presenta en la tabla 1. La misma tenía 17% de Proteína Bruta y 1,6 Megacalorías de Energía Neta de Lactación ENL por kg de MS. En el tratamiento B, se les asignaba solamente alfalfa a los animales a razón de 5 kg MS vaca⁻¹ día⁻¹. La relación forraje:concentrado era de 60:40. La dieta fue balanceada según National Research Council 2001.

Tabla 1. Composición física de la dieta ofrecida a los animales durante los tratamientos A y B.

Alimento	Tratamiento A (Kg MS vaca ⁻¹ día ⁻¹)	Tratamiento B (Kg MS vaca ⁻¹ día ⁻¹)
Silo de maíz	7	7
Balanceado	5,6	5,6
Heno de alfalfa	1,8	1,8
Grano de maíz molido	1,8	1,8
Expeller de soja	0,9	0,9
Semilla de algodón	0,9	0,9
Soja	2	-
Alfalfa	3	5
Total	23	23

Mediciones en el ambiente. Información metereológica

La información meteorológica, temperatura media diaria (TMd, °C) y humedad relativa media diaria (HRd, %) fueron suministradas por la Estación Agrometeorológica de EEA Rafaela del INTA. Además, en las diferentes estructuras de media sombra (80 y 95% de sombreado) de los corrales, en el comedero y en el VMS se colocaron termómetros de globo negro (TGN) o esferas de Vernon (Berbigier, 1988) en los que se registraron, luego de establecerse el equilibrio térmico, la temperatura con los flujos del calor por convección y radiación. La temperatura registrada dentro del espacio cerrado “negro” expresa las ganancias o pérdidas de calor del ambiente medido (Hertig, 1972). Las lecturas en el TGN se efectuaron a las 09:00, 12:00, 15:00, 18:00 y 21:00 horas. Con los datos diarios de TMd y HRd se calculó el índice de temperatura y humedad (ITH) de acuerdo a la siguiente fórmula (Thom, 1958):

$$ITH=(1,8*Ta+32)-(0,55-0,55*hr)+(1,8*Ta-26)$$

donde:

Ta: temperatura media diaria (°C).

hr: humedad relativa media diaria al tanto por uno.

El umbral de ITH donde las vacas de alta producción comienzan a sufrir estrés calórico es 68 (Zimbelman et al, 2009).

Mediciones en el animal. Mediciones fisiológicas

Frecuencia respiratoria y Temperatura corporal

La frecuencia respiratoria (FR) se midió dos veces por semana, a las 09:00, 12:00, 15:00, 18:00 y 21:00 horas. La misma se determinó por observación visual de los movimientos respiratorios por minuto en la zona del flanco de los animales. La temperatura corporal se midió con *termobutton datalogger* colocado en la vagina, generando un registro cada 1 hora.

Cortisol

Se realizaron dos muestreos de sangre para determinar Cortisol como indicador de estrés en los animales. La medición se realizó mediante la técnica de Electroquimioluminiscencia (ECLIA) en laboratorios Biovet, que consiste en reacciones químicas donde un precursor quimioluminiscente es tratado con sustancias oxidantes y catalizadores para producir un producto intermedio que, excitado electrónicamente, produce radiaciones electromagnéticas en el espectro visible (Lagger, 2004).

Producción y composición de la leche

La producción de leche se registró diariamente mediante el sistema Delpo DeLaval[®]. La composición se analizó todas las semanas mediante un muestreo compuesto de los 4 cuartos de cada vaca. Los mismos se enviaron al Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria de la EEA Rafaela del INTA, donde se analizaron los siguientes parámetros, Grasa Butirométrica (GB), Proteína (P), ambos expresados en gramos cada 100 mililitros y Recuento de Células Somáticas

(RCS), expresada en células por mililitro. Todos los valores se obtuvieron mediante Milkoscan minor Foss Electric®.

Bienestar y Comportamiento animal

Se evaluó 1 vez por semana mediante la metodología de Scan sampling (Martin y Bateson, 1991) en intervalos de 15 minutos durante las 24 horas.

Las categorías observadas fueron:

- Animal bebiendo: animal que tiene introducido su morro en el interior del bebedero ingiriendo agua.
- Animal rumiando: animal que realiza movimientos de re-masticación (desplazamiento del maxilar inferior) con la boca.
- Animal comiendo: animal que baja la cabeza en busca de la pastura o de la PMR en el comedero.
- Animal jadeando: animal que jadea en cualquiera de sus formas (Mader, 2014).

Posturas corporales:

- Animal de pie en estación: animal que se encuentra en estación sin realizar otra actividad (posee sus cuatro patas erguidas y apoyadas en el suelo).
- Animal echado, descansando y/o durmiendo: animal que se encuentra con la mayor parte de su cuerpo en contacto con el suelo sin realizar otra acción.
- Animal andando: animal que se encuentra con movimiento de sus miembros para desplazarse, sin realizar otra actividad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediciones en el ambiente. Información meteorológica.

El ITH promedio de Enero-Febrero 2016 fue de 77, con un mínimo de 69 y un máximo de 85. El 100% de los días presentaron condiciones estresantes para las vacas (ITH>68) (Figura 1).

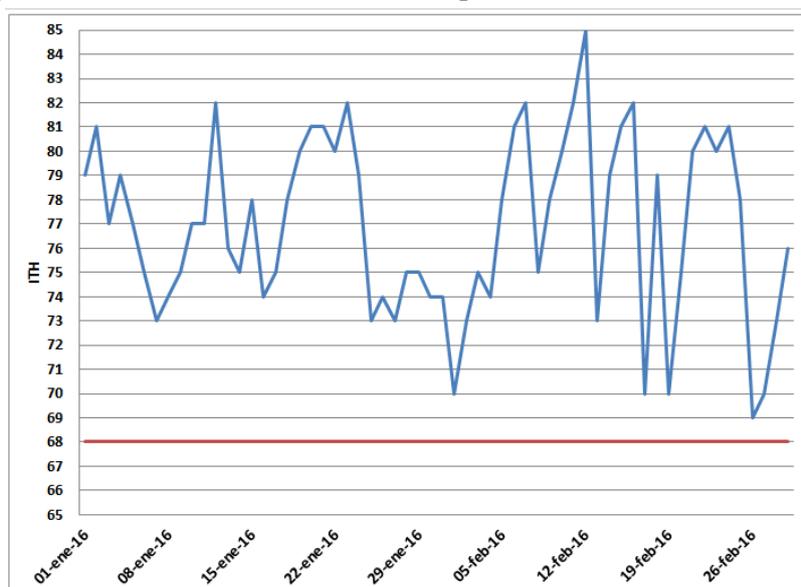


Figura 1. ITH medio diario. Período: enero-febrero 2016. Valor umbral=68.

En los meses de enero como de febrero, el ITH horario nunca descendió por debajo del umbral de 68, considerado cómo el límite actual a partir del cual las vacas de alta producción comienzan a sufrir los efectos del estrés calórico (Zimbelman et al, 2009) (Figura 2).

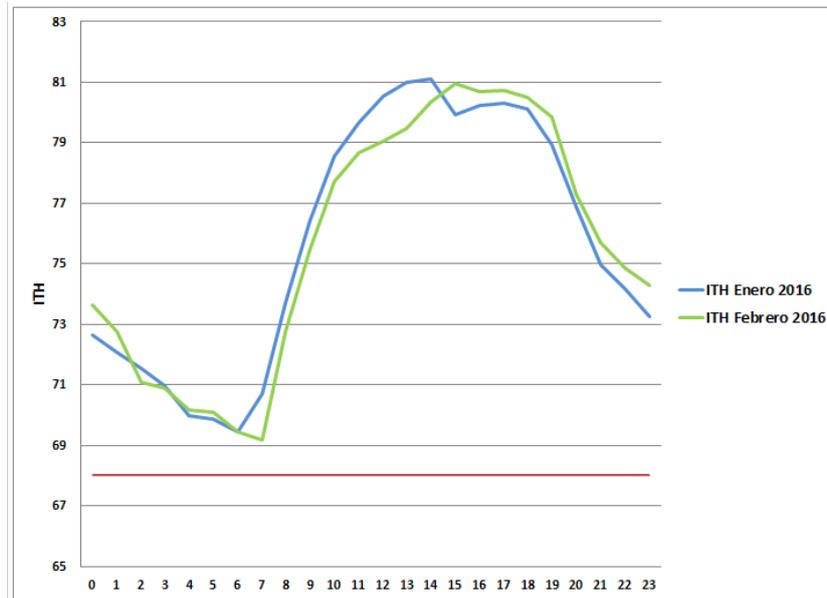


Figura 2. ITH medio horario para los meses de enero y febrero, 2016. Valor umbral=68.

La TGN fue menor en el VMS, ya que el mismo cuenta con techo de chapa. Tuvo en promedio una temperatura de 4°C menor que el testigo al sol. La principal diferencia se observa al mediodía donde la diferencia alcanza los 8°C. No hubo diferencias entre media sombra de 80 y 95% de sombreado, ya que en el promedio diario difirieron en 0,2°C. Cabe aclarar que ni el VMS, ni el sector de comedero, contaban con refrescado mediante ventilación y aspersión de agua, siendo este sistema el más efectivo para reducir el estrés calórico (Ghiano, 2014) (figura 3).

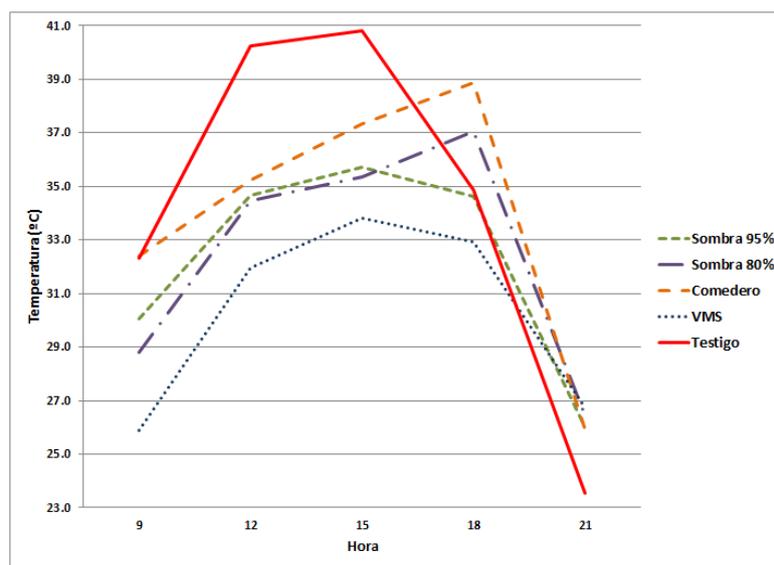


Figura 3. Temperatura de Globo Negro (°C) de sombra 95%, Sombra 80%, comedero, VMS y testigo en 5 momentos del día: 9, 12, 15, 18 y 21 horas.

Mediciones en el animal. Mediciones fisiológicas

Frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria promedio diario de los animales durante el período del ensayo fue 69 ± 12 movimientos respiratorios por minuto, considerándose un valor medio (Silanikove, 1992) (Figura 4). Estos valores se pueden disminuir con sistemas de refrescado (Ghiano, 2014).

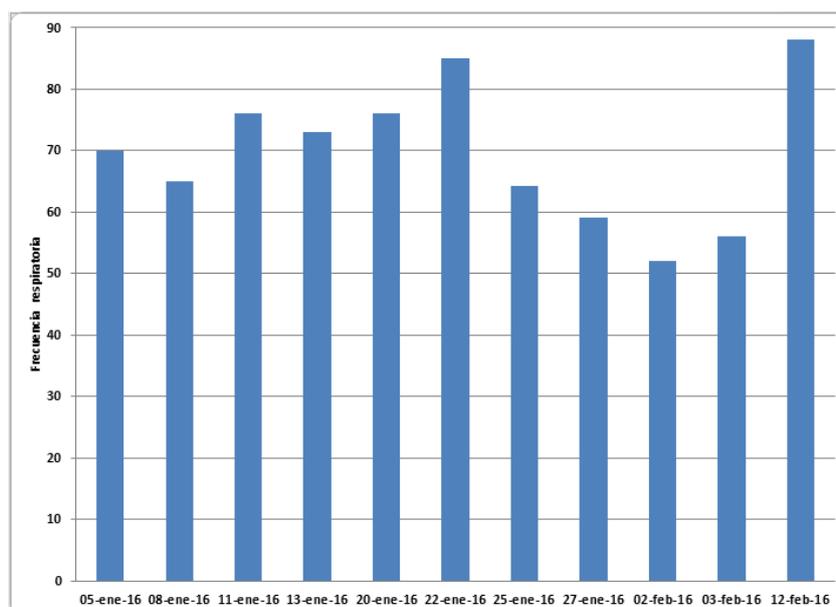


Figura 4. Frecuencia respiratoria promedio diaria (movimientos respiratorios por minuto).

Temperatura vaginal

La temperatura vaginal, registrada mediante *Thermobutton Datalogger*, presentó valores inferiores a 39°C , considerado umbral de confort térmico (Smith et al 2003, Reneau, J. 2012), durante la primera medición del 7 al 12 de enero. Luego, en la segunda, del 20 al 24 de enero, los valores se incrementaron (Figuras 5 y 6), coincidentemente con el incremento del ITH medio diario.

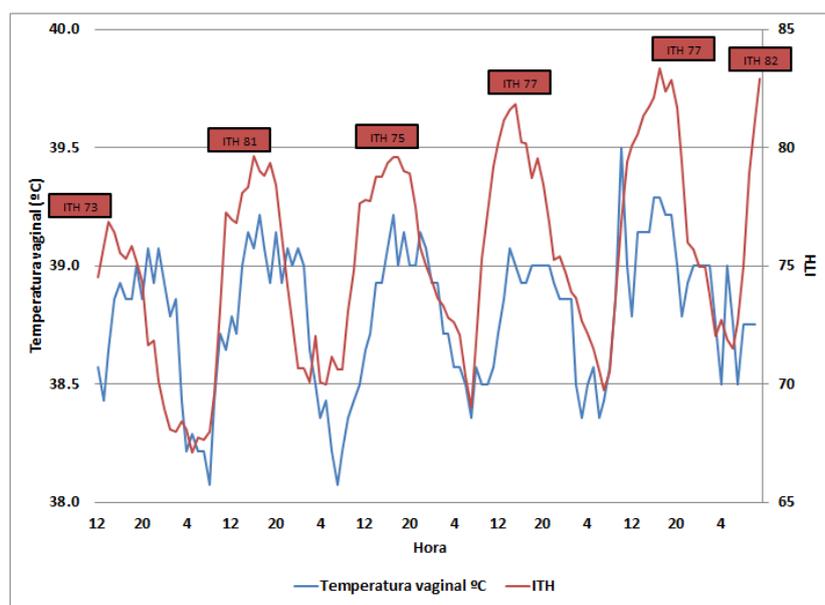


Figura 5. Temperatura vaginal °C (eje de ordenadas principal) e ITH (eje de ordenadas secundario) horario. Período: 7 al 12 de enero 2016. Los números en recuadro indican el ITH medio diario. Umbral de temperatura 39°C.

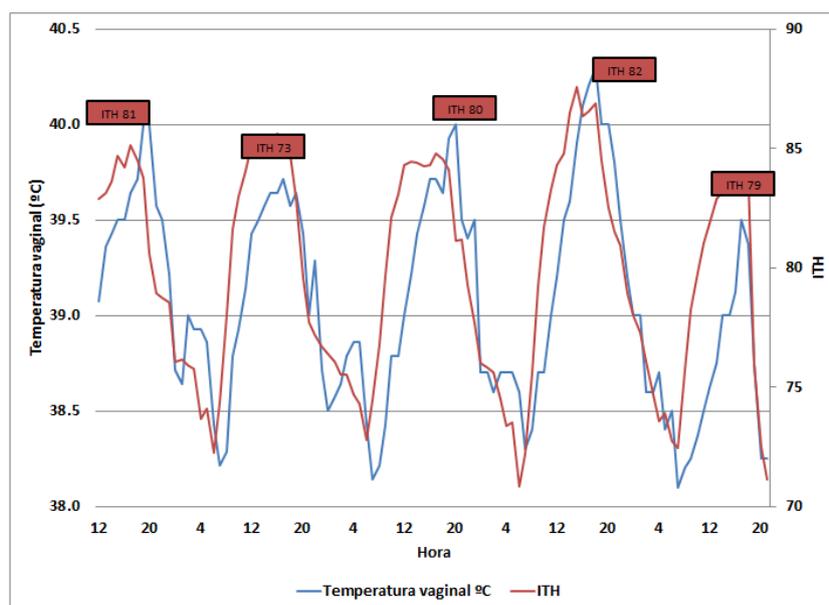


Figura 6. Temperatura vaginal °C (eje de ordenadas principal) e ITH (eje de ordenadas secundario) horario. Período 20 al 24 de enero 2016. Los números en recuadro indican el ITH medio diario. Umbral de temperatura 39°C.

Cortisol

Los muestreos fueron realizados el 15 de enero y 26 de febrero. Los valores se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Valores de Cortisol en sangre ($\mu\text{g dl}^{-1}$).

Muestras	15 enero	26 febrero	Promedio
Media \pm desvío estándar	1,43 \pm 0,99	1,31 \pm 0,92	1,37 \pm 0,95
Máximo	4,8	4,1	4,8
Mínimo	0,1	0,2	0,1

El cortisol fue más elevado en comparación a otras determinaciones que informan valores de $0,9 \mu\text{g dl}^{-1}$ (Negrao, 2004) y $0,45 \mu\text{g dl}^{-1}$ (Schutt, 1985).

Producción y composición de la leche

La producción de leche por animal fue de $27,7 \pm 1,9$ litros $\text{VO}^{-1} \text{ día}^{-1}$, con un mínimo de 22,5 y un máximo de 31,89 litros $\text{VO}^{-1} \text{ día}^{-1}$ (Figura 6). El ITH condicionó la producción, observándose una relación inversa entre ambos. La composición de la leche se presenta en la tabla 3.

Tabla 3: Calidad composicional de la leche.

Parámetros	Grasa (grs 100 ml^{-1})	Proteína (grs 100 ml^{-1})	RCS (cel ml^{-1}) ¹
Promedio \pm desvío	2,93 \pm 0,25	3,28 \pm 0,09	390154 \pm 282608
Máximo	3,41	3,46	1008790
Mínimo	2,61	3,2	189970

La relación grasa: proteína estuvo invertida debido a la calidad de la fibra ingerida por los animales. El RCS presentó un valor medio.

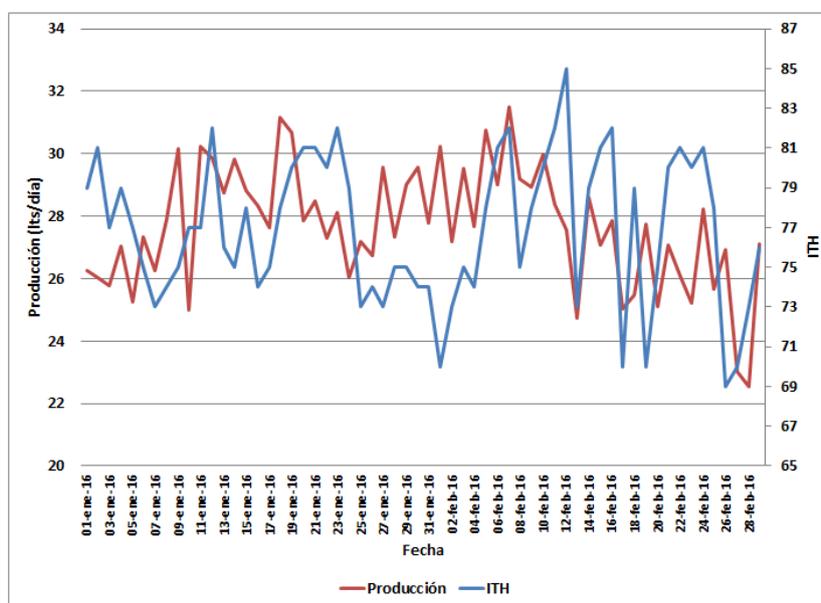


Figura 6. Producción de leche en kilogramos vaca⁻¹ día⁻¹ (eje de ordenadas principal) e ITH (eje de ordenadas secundario). Período: enero-febrero 2016.

Producción de leche y frecuencia de ordeño durante los tratamientos

Considerando que la proporción de pastura (alfalfa)/verde de verano (soja) en la dieta era del 22% del consumo de materia seca diario, a grandes rasgos se puede inferir que no hubo diferencias en producción de leche, ni en la frecuencia de ordeño con una o dos vías de pastoreo nocturnas (de 18:00 a 06:00 horas) (Tabla 4).

Tabla 4: Producción y frecuencia de ordeño promedio.

Tratamiento	Período	Producción (lts VO ⁻¹ día ⁻¹)	Frecuencia de ordeño
2 vías	4 al 19 enero 2016	28,38	2,59
1 vía	20 enero al 7 febrero 2016	28,46	2,45
2 vías	8 al 29 febrero 2016	27,25	2,43

En la figura 7 se muestra la producción de leche diaria en función del número de ordeños por día. El promedio de ordeños por día del período analizado fue 2,48, con un máximo de 2,94 y un mínimo de 1,95.

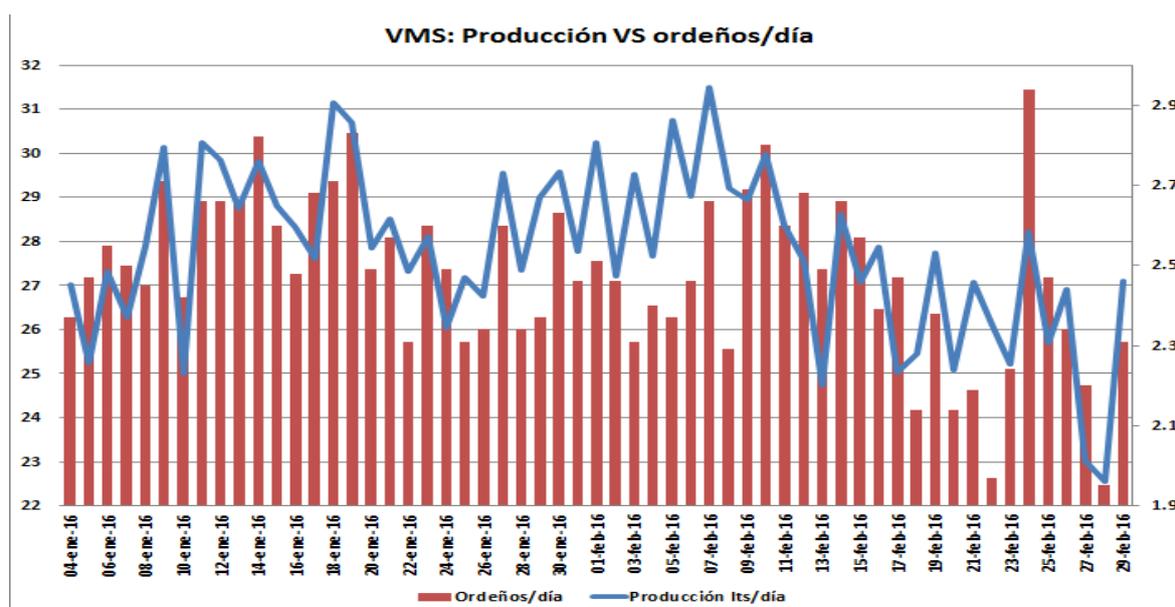


Figura 7. Producción de leche (eje de ordenadas principal) y ordeños por día (eje de ordenadas secundario). Período: enero-febrero 2016.

Bienestar y Comportamiento animal

Los animales pasaron un 18% del tiempo comiendo pastura y PMR, 43% descansando, 38% rumiando, 0,5% bebiendo y 0,3% jadeando, coincidente con los datos reportados por Dawkins (2004), Tucker (2009) y DeVries et al (2005) (figura 8).

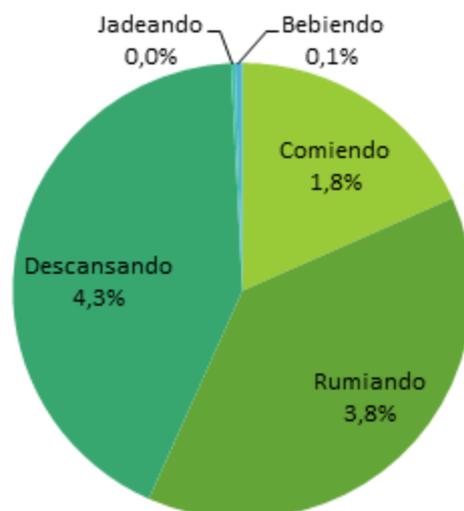


Figura 8. Comportamiento animal en VMS a lo largo del día.

A su vez, pasaron un 63% del tiempo parados, un 36% echados y 1% andando (figura 9). Estos datos coinciden con Tucker (2008), indicando que el estrés calórico en vacas lecheras reduce el tiempo de echado, ya que al estar paradas maximizan la pérdida de calor corporal.

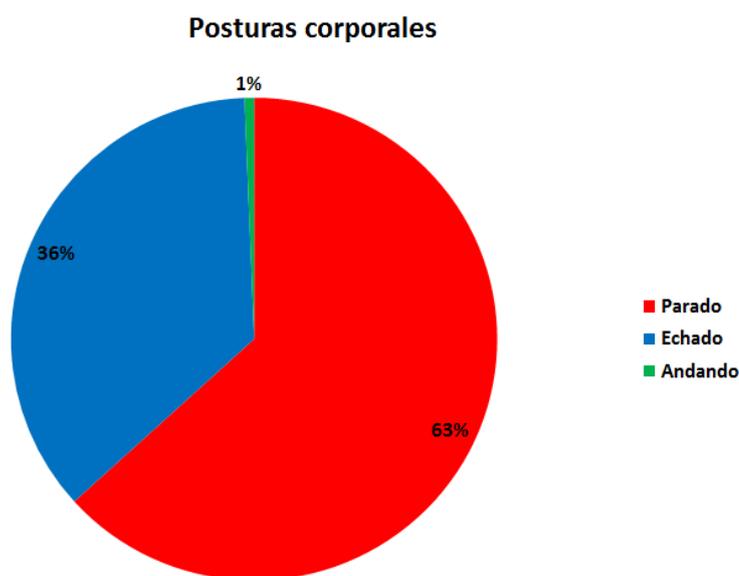


Figura 9. Posturas corporales en VMS a lo largo del día

CONCLUSIÓN

El período estival en la zona de Rafaela es crítico para la producción de leche. Con este primer trabajo, durante el verano con un sistema VMS, se pudo observar que ni la frecuencia de ordeño ni la producción decaen si los animales reciben confort durante las horas con mayor ITH del día y pastorean durante la noche. Una sola vía de pastoreo nocturno no difirió con dos,

considerando que el sistema VMS estaba funcionando con la mitad del número máximo de animales. Es de interés, seguir profundizando el estudio con la capacidad máxima de animales.

BIBLIOGRAFÍA

- Berbigier, P., 1988. Bioclimatologie des ruminants domestiques en zone tropicale. Paris. INRA.
- Dawkins M.S., 2004. Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare*.
- DeVries T.J., Von Keyserlingk M., 2005. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. *Journal of Dairy Science*.
- Dobson, H., Owen, J., Foster, R., 1986. Department of Clinical Veterinarian. University of Liverpool. 14th World Congress Disease of Cattle. Dublin.
- Cook, N. B., Mentink, R. L., Bennett, T. B., Burgi, K., 2007. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*.
- Ghiano, J., Gastaldi, L., Franco, L., Ruyver, R., Gattinoni, N., Ramis, V., Espíndola, A., Toffoli, G., 2016. Monitoreo semanal de estrés calórico. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Instituto de Clima y Agua, Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias. [http://inta.gob.ar/documentos/estres-calorico-informe-de-pronosticos-y-monitoreos-del-indice-de-temperatura-y-humedad-ith.\[16/08/2016\]](http://inta.gob.ar/documentos/estres-calorico-informe-de-pronosticos-y-monitoreos-del-indice-de-temperatura-y-humedad-ith.[16/08/2016])
- Ghiano, J., Taverna, M., Gastaldi, L., Walter, E., Pairola, M., Solis, F., 2014. Estrés calórico. Enfriamiento de vacas mediante la combinación de mojado y ventilación forzada. Ediciones INTA. <http://anterior.inta.gov.ar/lecheria/menosestres/> [16/08/2016]
- Hertig, B., 1972. Medición del medio ambiente físico. Principios de la Adaptación Animal. Hafez, E. ed. México
- Mader, T. L., Johnson, L. J., Gaughan, J. B., 2014. A comprehensive index for assessing environmental stress in animals. *Journal of Animal Science*.
- Martin, P., Bateson, P., 1991. La medición del comportamiento. Alianza Universidad. Versión española de Fernando Colmenares, 1º edición. Ed. Alianza. Madrid - España.
- Negrao, J. A., Porcionato, M. A., De Passille, A. M., Rushen, J., 2004. Cortisol in Saliva and Plasma of Cattle After ACTH Administration and Milking. *Journal of Dairy Science*.
- NRC (National Research Council), 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy of Science Press, Washington, DC.
- Reneau J., 2012. Easing milking time heat stress. University of Minnesota Extension Web site. <http://www.extension.umn.edu/agriculture/dairy/health-and-comfort/easing-milking-time-heat-stress/> [16/08/2016]. Publicado en Julio de 2012. Acceso 25 de febrero de 2016.
- Rhoads, M. L., Rhoads, R. P., VanBaale, J. J., Collier, R. J., Sanders, S. R., Weber, W. J., Crooker, B. A., Baumgard, L. H., 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows. I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *Journal of Dairy Science*.
- Schutt, D. A., Fell, L. R., 1985. Comparison of total and free cortisol in bovine serum and milk or colostrum. *Journal of Dairy Science*.
- Silanikove, N. 1992. Effects of water scarcity and hot environment on appetite and digestion in ruminants: a review. *Livestock Production Science*.
- Smith JF, Brouk MJ, Harner JP. Heat abatement strategies for optimal dairy cattle performance. En: Proceedings of the Four-State Dairy Nutrition and Management Conference.
- Thatcher, W. W. 1974. Effects of season, climate, and temperature on reproduction and lactation. *Journal of Dairy Science*.
- Thom, E.C. 1958. The discomfort index. *Weatherwise*.
- Tucker, C. B., Rogers, A. R., Shutz, K. E., 2007. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Appl. Anim. Behav. Sci.*
- Tucker CB, Rogers AR, Schutz KE. 2008. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Applied Animal Behaviour Science*.

- Tucker 2009. Behaviour of cattle. In: The Ethology of Domestic Animals. 2nd ed. Per Jensen, ed. CABI. Oxfordshire, UK.
- Valtorta, S.E., Gallardo, M.R, Castro H.C., Castelli, M.E., 1996. Artificial shade and supplementation effects on grazing dairy cows in Argentina. Trans. Amer. Soc. Agric. Eng.
- Valtorta, S. E., Leva, P.E., Garcia, M.S., Rodríguez, R.O., 2008. Régimen agroclimático de olas de calor en la Provincia de Santa Fe, Argentina. Revista FAVE. Ciencias Agrarias.
- Zimbelman, R. B., R. P. Rhoads, M. L. Rhoads, G. C. Duff, L. H. Baumguard, and R. J. Collier, 2009. A re-evaluation of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe temperature humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows. Proceedings of the 24th Southwest Nutrition and Management conference, Tempe, AZ



SANIDAD

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN LA CUENCA LECHERA CENTRAL DE ARGENTINA

VANZINI, V.

INTA EEA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227

Correo-e: vanzini.victor@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa producida por bacterias del género *Brucella*, que eventualmente se transmite al hombre constituyendo una de las zoonosis más importantes a nivel mundial. El riesgo de contraer brucelosis es más elevado para quienes trabajan con animales susceptibles a la misma, sean estos productores agropecuarios, veterinarios, trabajadores rurales o personal de frigoríficos.

En los bovinos de las provincias de Córdoba y Santa Fe es causada casi exclusivamente por *Brucella abortus* biovar 1. Si bien existe *B. suis*, esta especie está circunscripta a los porcinos y sólo se realizaron hallazgos aislados en bovinos.

La brucelosis produce pérdidas en la producción pecuaria debido a los abortos o muertes perinatales, pérdidas de lactancias de las hembras infectadas, aumento de la tasa de reposición por venta anticipada, retenciones de placenta luego del aborto o parto, con el consecuente gasto en medicamentos y atención profesional. A todos estos inconvenientes deben sumarse las restricciones que afrontan, especialmente las empresas lácteas de nuestro país, para exportar estos productos a mercados de países desarrollados.

El programa de control de la brucelosis bovina se basa en la vacunación sistemática de las hembras jóvenes con *B. abortus* cepa 19 y en el diagnóstico serológico y la segregación de animales positivos. El programa de control de la brucelosis tiene un grado de aplicación dispar en el país, siendo la provincia de Santa Fe la que presenta un trabajo sustentable a lo largo de los últimos 40 años, desde el inicio del plan piloto en los departamentos Las Colonias y Castellanos (decreto provincial 04385/65, Res. MAG-SELSA 001/65).

Para la vigilancia epidemiológica en ganado lechero, el programa de control y erradicación de la brucelosis prevé la realización de tres controles cuatrimestrales (SENASA, Resol. 438/06, Col. 23).

ASPECTOS PRODUCTIVOS

En la provincia de Santa Fe se aloja aproximadamente el 12,5% del stock bovino nacional, ocupando el segundo lugar, luego de la provincia de Buenos Aires (SSPP, 2010). El stock bovino provincial está conformado por un 65,7% de ganado de cría, 17,3% ganado lechero y el 17% restante corresponde a invernada, “*feedlot*” y cabañas (SSPP, 2010). Durante el año 2006, la cría de ganado bovino (2,6%) y la producción de leche (1,1%) participaron con el 3,7% del producto bruto geográfico provincial, a valores constantes relativos al año 1993 (Terán, 2008).

El ganado de cría se concentra principalmente en siete departamentos del norte de la provincia (9 de Julio, Gral. Obligado, San Cristóbal, Vera, San Javier, Garay y San Justo) que

albergan el 74,6% del stock (SSPP, 2010). Por su parte, el sistema productivo lechero está integrado por 4261 tambos, el 81,2% de éstos están distribuidos principalmente en los departamentos Castellanos (30,1%), Las Colonias (24,9%), San Cristóbal (18,7%) y San Martín (7,5%) (Ministerio de la Producción, 2011).

La provincia de Santa Fe es una de las tres principales productoras de leche del país alcanzando los 3712 millones de litros en el año 2011, lo cual representa el 32% del total nacional (MAGyP, 2013).

En los departamentos Castellanos y Las Colonias se produce aproximadamente el 55% de la leche de Santa Fe. Adicionando lo que se produce en San Cristóbal, San Martín y La Capital, el valor asciende al 90% de la producción provincial.

La capacidad industrial instalada asciende a unas 174 plantas lácteas pertenecientes a 151 empresas radicadas principalmente en el centro de la provincia (53%), en los departamentos Castellanos, Las Colonias y San Martín (Ministerio de la Producción de Santa Fe, 2010; Terán, 2008).

Esta provincia es la de mayor importancia industrial del sector lácteo argentino. Si bien la cantidad de bovinos lecheros, el volumen de leche producido y el número de plantas procesadoras es inferior al de Córdoba, la capacidad industrial instalada excede a las necesidades provinciales, estimándose que ingresa un 20% de leche proveniente de otras provincias. Del total nacional, un 35% se industrializa en la provincia (Terán, 2008).

En el período 1994-2000, Santa Fe fue incrementando paulatinamente la intervención en las exportaciones de productos lácteos. En 1994 participaba con un 39% hasta alcanzar el 61% (92.174 tn) en el año 2000 (MAGIC).

La provincia de Córdoba es la mayor productora de leche del país y conforma, junto a la provincia de Santa Fe, la cuenca lechera central. Como consecuencia de las favorables condiciones de mercado, esta actividad mostró un gran dinamismo manifestado en el incremento constante de la producción verificado en los últimos años. Los departamentos donde se concentra más de la mitad de la producción provincial son San Justo (34%) y Gral. San Martín (20%).

La provincia de Córdoba aporta aproximadamente el 35% y Santa Fe el 33% de la producción nacional, respectivamente. Los departamentos San Justo (Cba.) y Castellanos y Las Colonias (Sta. Fe) contribuyen con aproximadamente el 30% del total nacional.

El área lechera del centro este, cuenta con una superficie de 2,25 millones de hectáreas. El 80% de la superficie se dedica a la ganadería. El rubro principal es la producción de leche y en menor medida la carne.

ANTECEDENTES NORMATIVOS

En la provincia de Santa Fe, las primeras acciones relativas al control de la brucelosis bovina se iniciaron en el año 1945. La entonces Dirección de Fomento Agrícola Ganadero, que posteriormente dio origen al Ministerio de Agricultura Ganadería Industria y Comercio (MAGIC), actualmente Ministerio de la Producción; elaboraba en los laboratorios del Instituto Experimental de Investigación y Fomento Agrícola Ganadero la vacuna antibrucélica a base de *Brucella abortus* cepa 19 y la distribuía gratuitamente entre los productores interesados en vacunar a sus terneras.

Además realizaba el diagnóstico serológico en muestras de suero sanguíneo enviadas por los médicos veterinarios de la actividad privada o en muestras obtenidas por profesionales del citado organismo.

En el año 1963, tal lo establecido en el decreto-ley nacional 6640/63, las industrias lácteas comenzaron a bonificar a los productores que realizaban el saneamiento de los rodeos lecheros. Esta medida con sustento económico favoreció el control de la enfermedad.

En el año 1965 se iniciaron acciones conjuntas con la Nación para incorporar los distintos departamentos de la provincia de Santa Fe a las campañas de vacunación antibrucélica (Decreto provincial 04385/65, Resol. MAG-SELSA 001/65). El Plan Piloto inicial incorporó los departamentos Castellanos y Las Colonias. Posteriormente se extendió a toda la provincia.

El decreto 2488/91 dejó sin efecto lo establecido en la normativa 6640/63 con la consecuente pérdida del incentivo económico. Ante esta situación, la mayoría de los productores abandonaron el saneamiento de sus rodeos.

En el año 1994 el SENASA dictó la resolución N° 043/94 que establecía la obligatoriedad de controlar y erradicar la brucelosis en los departamentos Las Colonias, Castellanos y San Martín. En el año 1996, por medio de la resolución N° 204/96, se incorporó al programa el departamento La Capital. En el año 1999 fueron reemplazadas por la Res. 115/99 que ponía en vigencia el “Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis bovina, etapa 1999-2001”.

En el año 2001, como consecuencia del brote de fiebre aftosa, el control de la brucelosis perdió relevancia. En febrero de 2002 se restableció el programa de control y erradicación de la brucelosis bovina en todo el país, pero con exigencias mínimas que incluían la vacunación antibrucélica en simultáneo con la campaña de vacunación antiaftosa (SENASA, Res. 150/02). Tal lo previsto en esa resolución y teniendo en cuenta el grado de avance en el control alcanzado, la Comisión Provincial de Sanidad Animal (COPROSA) presentó el “Plan Superador de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina de la Provincia de Santa Fe”, el cual fue aprobado por el SENASA (Res. 497/02). Los departamentos Castellanos y Las Colonias conforman la zona 2, de control y erradicación obligatoria (Figura 1).

En la provincia de Córdoba y en particular en el departamento San Justo está vigente el Plan Superador de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina en el Departamento San Justo (Freyre – Devoto) de la Provincia de Córdoba (SENASA, Res. 905/2004). El plan está enfocado a ganado lechero con un fuerte sustento en la vigilancia epidemiológica no sólo como herramienta para la detección precoz del ingreso de la enfermedad a un rodeo, sino también para el rastreo de establecimientos infectados sin antecedentes sanitarios, focalizando las tareas de saneamiento (Figura 1).

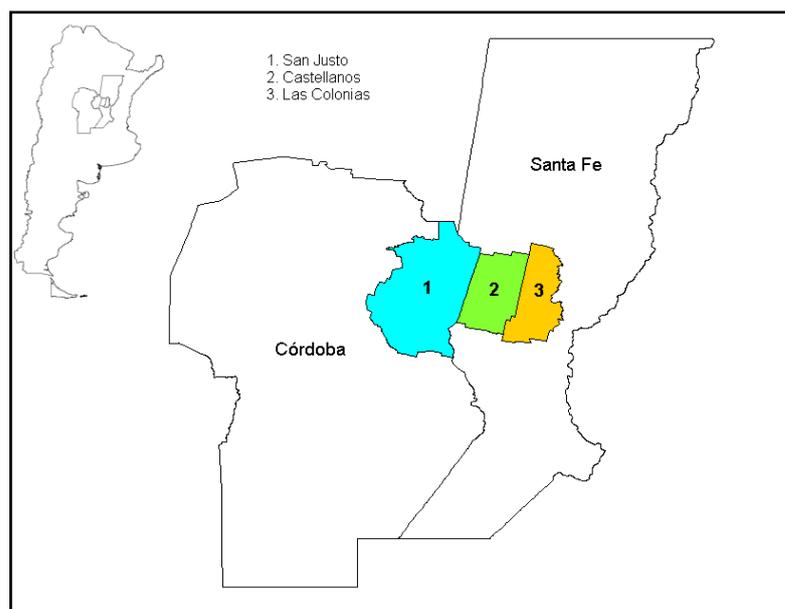


Figura 1: Departamentos de la cuenca lechera central de Córdoba y Santa Fe, incluidos en los planes superadores de control y erradicación de la brucelosis bovina.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

La vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en el ganado lechero, se viene realizando desde hace muchos años en la Argentina. Las empresas lácteas realizaban la prueba del anillo en leche (PAL ó *Ring Test*) en sus laboratorios autorizados por el SENASA, sin embargo, el sistema no llegó a afianzarse y quedó reducido a la mera información que en ocasiones la empresa le enviaba al productor.

En el año 1994 se firmó un convenio sanitario entre el SENASA y las industrias lácteas integrantes del Centro de la Industria Lechera (CIL). En el mismo se propuso utilizar la prueba PAL aplicada en muestras de leche del total de un ordeño (MLTO) para la detección de establecimientos negativos, seguido de un control serológico negativo en muestras de suero sanguíneo de todas las categorías de animales elegibles, declarándolos “Aptos para la exportación”. El estatus se mantenía con tres PAL anuales y un control serológico en muestras de suero sanguíneo, ambos negativos.

En el año 2006, el SENASA estableció que para la vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en ganado lechero se utilicen la prueba PAL y el enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-i) aplicadas en MLTO cada cuatro meses (Res. 438/06).

Las industrias lácteas ejecutan los obteniendo MLTO del tanque refrigerado, que representa a la totalidad de las vacas en lactancia. Las muestras se analizan mediante las pruebas PAL o ELISA-i en laboratorios autorizados de la Red de Laboratorios del SENASA. La industria láctea emite y envía al productor un informe transcribiendo el resultado obtenido por el laboratorio que realiza el análisis. Un resultado positivo constituye un diagnóstico presuntivo de la presencia de la enfermedad, el cual debe ser confirmado por medio del análisis de muestras individuales de suero sanguíneo.

El objetivo de este trabajo es reunir la información disponible sobre la vigilancia epidemiológica de la brucelosis en bovinos lecheros utilizando información generada en el

laboratorio de inmunología de la INTA EEA-Rafaela, analizando los resultados desde el año 2003 de tambos ubicados en tres departamentos de las provincias de Córdoba y Santa Fe. La información será de utilidad para el análisis, toma de decisiones y eventuales modificaciones del plan de control y erradicación de la brucelosis bovina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron MLTO obtenidas del tanque refrigerado. Tal como lo indica la resolución vigente (SENASA, Res. 497/02, Col. 100/05), las empresas lácteas realizan la toma de muestras en tres rondas anuales. Se obtuvieron entre 1 y 3 ml de leche por tambo y se conservaron congelados hasta el procesamiento. En la mayoría de los casos no se agregaron conservantes. Las empresas que dentro de su sistema de calidad utilizan conservantes para preservar la composición físico-química de la leche, emplearon azidiol (azida sódica 3,6% + cloramfenicol 0,15%) a una concentración final del 0,02%, que no interfiere con la prueba (Vanzini et al., 2012). Para el análisis de las MLTO se utilizó la prueba ELISA-i (Vanzini et al., 1998, 2001). Los resultados se expresaron en porcentaje de positividad (PP). Se utilizaron reactivos provistos por la Canadian Food Inspection Agency (CFIA), Nepean, Ontario, Canadá. Se consideró positivo a las muestras con un $PP \geq 23$ (Vanzini et al, 2001, Nicola y Elena, 2009).

Todos los establecimientos cuyas MLTO resultaron positivas, fueron remuestreados dentro de los 15 días y sometidos a un nuevo análisis. Aquellas MLTO que resultaron positivas nuevamente fueron consideradas como tal e informadas.

En este trabajo se consideraron infectados a aquellos establecimientos que resultaron positivos en dos de los tres muestreos anuales o cuando al analizar muestras de suero sanguíneo individuales se hubieran detectado animales positivos según el criterio establecido por el SENASA (Nicola y Elena, 2009).

En los departamentos Castellanos y Las Colonias, las MLTO analizadas entre 2003 y 2015 osciló entre el 37 y 58 % ($48\% \pm 5$). En el departamento San Justo el número de MLTO analizadas en 2015 representó el 39% (Vanzini y col., 2015; SENASA, com. pers.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los departamentos Castellanos y Las Colonias, en los últimos siete años, la proporción de tambos positivos no superó el 0,7 % (tabla 3). Estos resultados, aún cuando no se analizó la prevalencia de cada establecimiento, indican que se está en condiciones para iniciar la etapa de erradicación de la enfermedad.

INTA – ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA.
INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2016**Tabla 3:** Distribución anual de los resultados de la prueba ELISA-i por departamentos de las provincias de Córdoba y Santa Fe.

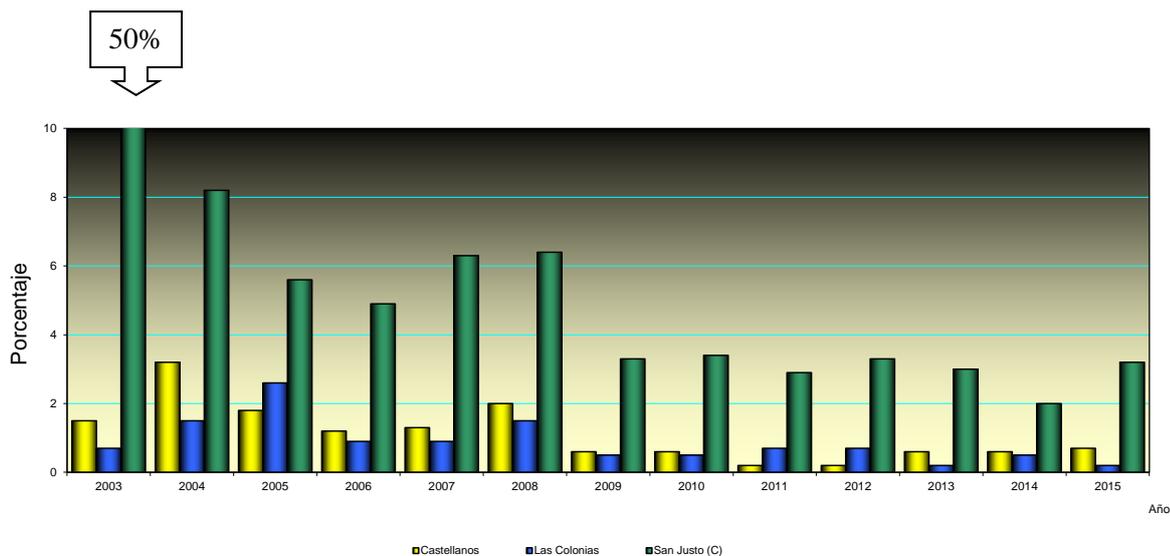
Departamento	2003			2004			2005			2006			2007		
	n	Pos	%	n	Pos	%	n	Pos	%	n	Pos	%	n	Pos	%
Castellanos	787	12	1,5	377	12	3,2	622	11	1,8	597	7	1,2	531	7	1,3
Las Colonias	594	4	0,7	546	8	1,5	499	13	2,6	685	6	0,9	636	6	0,9
<i>Totales Zona 2</i>	1381	16	1,2	923	20	2,2	1121	24	2,1	1282	13	1,0	1167	13	1,1
San Justo	28	14	50,0	281	23	8,2	700	39	5,6	629	31	4,9	574	36	6,3

Departamentos	2008			2009			2010			2011			2012		
	n	Pos	%												
Castellanos	512	10	2,0	533	3	0,6	505	3	0,6	529	1	0,2	516	1	0,2
Las Colonias	653	10	1,5	626	3	0,5	664	3	0,5	582	4	0,7	568	4	0,7
<i>Totales Zona 2</i>	1165	20	1,7	1159	6	0,5	1169	6	0,5	1111	5	0,5	1084	5	0,5
San Justo	576	37	6,4	576	19	3,3	561	19	3,4	596	17	2,9	607	20	3,3

Departamentos	2013			2014			2015		
	n	Pos	%	n	Pos	%	n	Pos	%
Castellanos	516	3	0,6	543	3	0,6	546	4	0,7
Las Colonias	450	1	0,2	569	3	0,5	566	1	0,2
<i>Totales Zona 2</i>	966	4	0,4	1112	6	0,5	1112	5	0,4
San Justo	558	17	3,0	553	11	2,0	567	18	3,2

n: Número de MLTO analizadas. **Pos:** Positivo

En el departamento San Justo, a partir del inicio del plan superador hacia finales del 2004 donde la proporción de MLTO positivas alcanzó el 8,2 %, se observa una reducción sostenida hasta menos de la mitad en los últimos 6 años (Figura 2).



Figura

2: Evolución de la proporción de MLTO positivas ELISA 2003 – 2015, en departamentos de las provincias de Santa Fe y Córdoba.

La mejora en la situación epidemiológica del departamento San Justo (Córdoba), adquiere especial relevancia desde el punto de vista epidemiológico ya que ante un eventual inicio de la etapa de erradicación en los departamentos Castellanos y Las Colonias en la provincia de Santa Fe, tal como está previsto en el plan superador vigente, el estatus sanitario del departamento San Justo no presenta riesgo importante para reinfecciones. Los departamentos limítrofes de la provincia de Santa Fe tampoco constituyen riesgo sanitario importante, debido al avance en el control de la enfermedad observado en los últimos años (Vanzini y col., 2015).

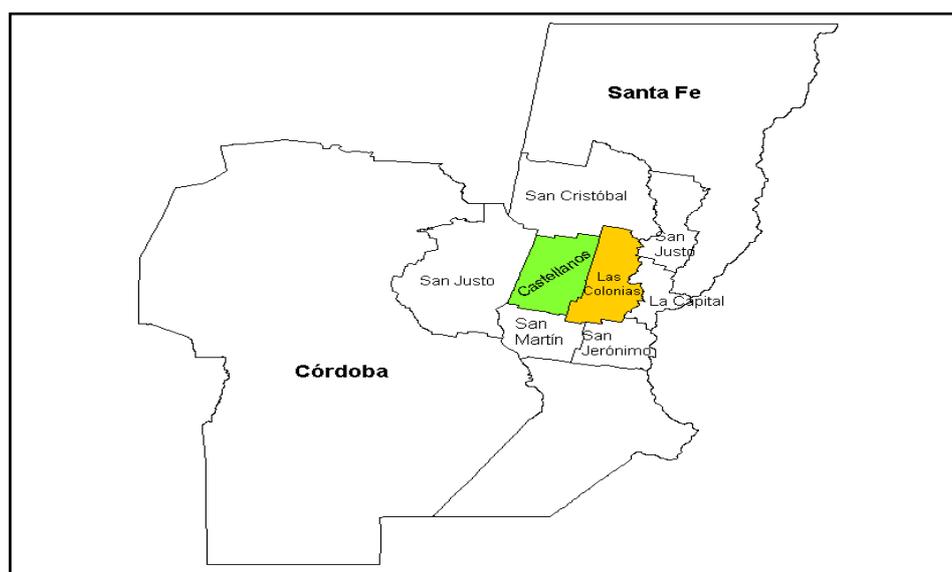


Figura 3: Zona de control y erradicación de la brucelosis bovina de la provincia de Santa Fe (Res. 497/02). Departamentos Castellanos y Las Colonias

CONSIDERACIONES FINALES

En el ganado lechero de los departamentos Castellanos y Las Colonias, en los últimos siete años, se observa una situación estable con menos del 1% de establecimientos positivos a la prueba ELISA. Esto sugiere que con la planificación vigente se ha alcanzado el límite más bajo de brucelosis. Por lo tanto, para lograr la erradicación de la enfermedad, objetivo propuesto en esos departamentos en el plan de control y erradicación (SENASA, Res. 497/02), se debería considerar una reformulación de la estrategia de intervención.

De acuerdo a la evolución de la situación epidemiológica observada, los próximos pasos deberían estar dirigidos a la erradicación de la enfermedad y la creación de un área libre en los departamentos Castellanos y Las Colonias y desde allí extenderla en función de la evolución epidemiológica. Aplicando el criterio establecido en el Código Sanitario para los Animales Terrestres (OIE, 2016) para que la zona sea declarada libre de brucelosis bovina con vacunación, la proporción de establecimientos con infección brucélica no debe ser superior al 0,2% y una prevalencia intrapredio inferior al 0,1%, metas no muy lejanas de alcanzar. Para el mantenimiento del estatus, es imprescindible consolidar el sistema de vigilancia epidemiológica vigente para ganado de leche (PAL o ELISA) e implementar un sistema de muestreo en frigoríficos y remates ferias para ganado de carne y leche.

El monitoreo anual de establecimientos libres mediante la obtención de muestras de sangre no parece una medida que se pueda mantener en el tiempo por la cantidad de recursos humanos y tiempo que requiere, además del costo. La vigilancia epidemiológica en la futura etapa de erradicación será la principal herramienta de monitoreo. Actualmente en ganado lechero, el análisis de muestras de leche se realiza cada cuatro meses en laboratorios de la red de SENASA, pero los resultados no siempre están disponibles para su análisis e inmediata implementación de las medidas apropiadas. En la futura etapa de erradicación se debería contemplar la centralización de la información, analizarla e implementar las medidas correctivas en el menor tiempo posible, para evitar la dispersión de la enfermedad e intensificar las acciones en los establecimientos que no logran la erradicación. Para que la cobertura de la vigilancia epidemiológica alcance al ganado de cría, también se deberían realizar muestreos sistemáticos en lugares donde se concentran animales (remates ferias, exposiciones) e industrias frigoríficas.

El control de movimientos debe asegurar que a la zona libre únicamente ingresen animales procedentes de establecimientos libres de brucelosis. La implementación de esta medida debería ser progresiva a través de un común acuerdo entre el SENASA y los entes sanitarios involucrados.

BIBLIOGRAFIA

MAGyP. Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. Resultados recientes de la lechería argentina (2013).
http://64.76.123.202/site/_subsecretaria_de_lecheria/lecheria/07_Estad%C3%ADsticas/index.php

Consulta realizada: 16/05/2013

Ministerio de la Producción de Santa Fe (2010). Sistema Sanitario Productivo y Participativo. Parte I: Caracterización del rodeo bovino y de los distintos sistemas productivos en Santa Fe. 4° Publicación con datos correspondiente al año 2008. Ministerio de la Producción, Santa Fe. 9-60

Ministerio de la Producción de Santa Fe (2011). Registro de tambos. Sistema Integrado de Vacunación contra la Fiebre Aftosa y control y erradicación de la Brucelosis Bovina. Dirección General Sanidad Animal - Sectorial de Informática. pp 75.

- Nicola, A.; Elena, S. (2009). Manual de diagnóstico serológico de la Brucelosis bovina. Versión 3.0. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). pp 95.
- OIE (2016). Código Sanitario para los Animales Terrestres. Capítulo 8.4. Infección por *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*. Organización Mundial de Sanidad Animal. www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/ 23-junio-2016.
- Terán J. C. Caracterización de la cadena agroalimentaria de la leche en la provincia de Santa Fe. Informe anual – 2008 <http://inta.gob.ar/documentos/caracterizacion-de-la-cadena-agroalimentaria-de-la-leche-en-la-provincia-de-santa-fe/> 05-marzo-2014. Archivo pdf. pp 21
- Vanzini, V., Aguirre, N., Lugaresi, C., Echaide, S. T. de, Canavesio, V. G. de, Guglielmone, A., Marchesino, M. and Nielsen K., (1998). Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in dairy cattle in Argentina. *Prev. Vet. Med.* 1998;36:211-217.
- Vanzini, V.; Aguirre, N.; Valentini, B.; Torioni de Echaide, S.; Lugaresi, C.; Marchesino, M. and Nielsen, K. (2001). Comparison of and indirect ELISA with the *Brucella* milk ring test for detection of antibodies to *Brucella abortus* in bulk milk samples. *Vet. Microbiol.* 82, 55-60.
- Vanzini, V.R.; Seffino, R.; Aguirre, N. P.; Torioni de Echaide, S.M. (2012) Evaluación del desempeño de una prueba ELISA aplicada al diagnóstico de la brucelosis bovina en muestras de leche con conservantes. AAVLD, XIX Reunión Científico Técnica, CABA, 7-9 de noviembre de 2012. Resúmenes, 154-155.
- Vanzini, V.; Bergamasco, M.; Cervera, M.; Aguirre, N.; Torioni de Echaide, S.; Gramaglia, J.; Sodiro, A.; Estrubia, A.; Lenarduzzi, L.; Muñoz, P.; Carbajales, J.; Gonzalez, N.; Aufranc, C.; Canal, A. (2015). Reseña epidemiológica de la brucelosis bovina en la Provincia de Santa Fe. INTA – Ministerio de la Producción, Sta. Fe. Publicación Miscelánea. pp 34. http://inta.gob.ar/busqueda/p/buscar/rese%C3%B1a%20epidemiologica%20de%20la%20brucelosis%20bovina%20en%20la%20provincia%20de%20santa%20fe%2C%20pdf/type/0__all

TUBERCULOSIS BOVINA EN FAUNA SILVESTRE

*ABDALA, A. A.

INTA EEA Rafaela, Ruta 34 km 227; Sanidad Animal- Epidemiología y mastitis

* Autor de contacto: abdala.alejandro@inta.gob.ar

Importancia

La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad bacteriana crónica que afecta al bovino y a otras especies de mamíferos. Además, dicha enfermedad es una zoonosis, que puede afectar a los humanos al contagiarse por inhalación de aerosoles, ingestión de leche no pasteurizada o sus subproductos provenientes de bovinos enfermos. En los países desarrollados, los programas de erradicación han reducido o eliminado la tuberculosis en el ganado bovino, siendo muy poco frecuente la enfermedad en humanos. En algunos países y regiones, la existencia de reservorios silvestres sigue, dificultando su completa erradicación. La TBb es frecuente en países subdesarrollados, ocasionando pérdidas económicas importantes por disminución de la producción, decomiso en frigorífico y restricciones en el comercio internacional.

Agente etiológico

El *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), agente causal de la TBb, es una micobacteria que integra el denominado Complejo Mycobacterium Tuberculosis (CMT). Este grupo se halla conformado por las siguientes especies estrechamente relacionadas y responsables de producir la tuberculosis (TB) humana y de los animales: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium bovis*- Calmette y Guérin (BCG), *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium pinnipedii* y *Mycobacterium mungi*.

Características del *M. bovis*

M. bovis es un patógeno obligado que puede sobrevivir por períodos sustanciales en el medio ambiente bajo condiciones favorables. Esta bacteria mezclada con materia fecal, sangre y orina puede sobrevivir por 150 a 332 días a una temperatura de 12 a 14°C y al resguardo de la luz solar. Esta supervivencia disminuye de 18 a 31 días con temperaturas de 24-43°C y expuesto a la luz solar (Morris et al., 1994). La supervivencia del *M. bovis* en pasturas y suelo se ve afectada por factores como la temperatura, la humedad, la exposición a la luz solar, el oxígeno, la presencia de antibióticos naturales disueltos en el suelo, los tipos de microflora asociados (Morris et al., 1994). En carcasas de animales sobre pasturas el nivel de infección disminuyó rápidamente después de 2 semanas, no encontrándose *M. bovis* después de la cuarta semana (O'Reilly y Daborn, 1995).

Las micobacterias son bien conocidas por poseer resistencia a los antisépticos y desinfectantes, ubicadas en la escala de bacterias más resistentes solo por debajo de las esporuladas. Los antisépticos y desinfectantes que poseen actividad anti-micobacterianas son el fenol, el ácido peracético, el peróxido de hidrógeno, el alcohol y el glutaraldehído. El hipoclorito de sodio al 4%,

el ácido crésílico al 3% o el fenol al 5% son los más utilizados y seguros en la destrucción del bacilo, aunque el alcohol etílico al 70% en agua lo destruye rápidamente (SENASA, 1999b).

Especies Afectadas

El ganado bovino es el huésped definitivo del *M. bovis*, pero puede infectar otros mamíferos domésticos como cerdo, cabras, camélidos, ovejas, gatos, perros y un número variado de especies de animales silvestres.

Vías de transmisión

Vía aerógena

La TBb es primariamente una enfermedad respiratoria y la transmisión por vía aerógena es el mecanismo de contagio primordial intraespecie y entre especies (O'Reilly y Darbon, 1995) (Figura 1).

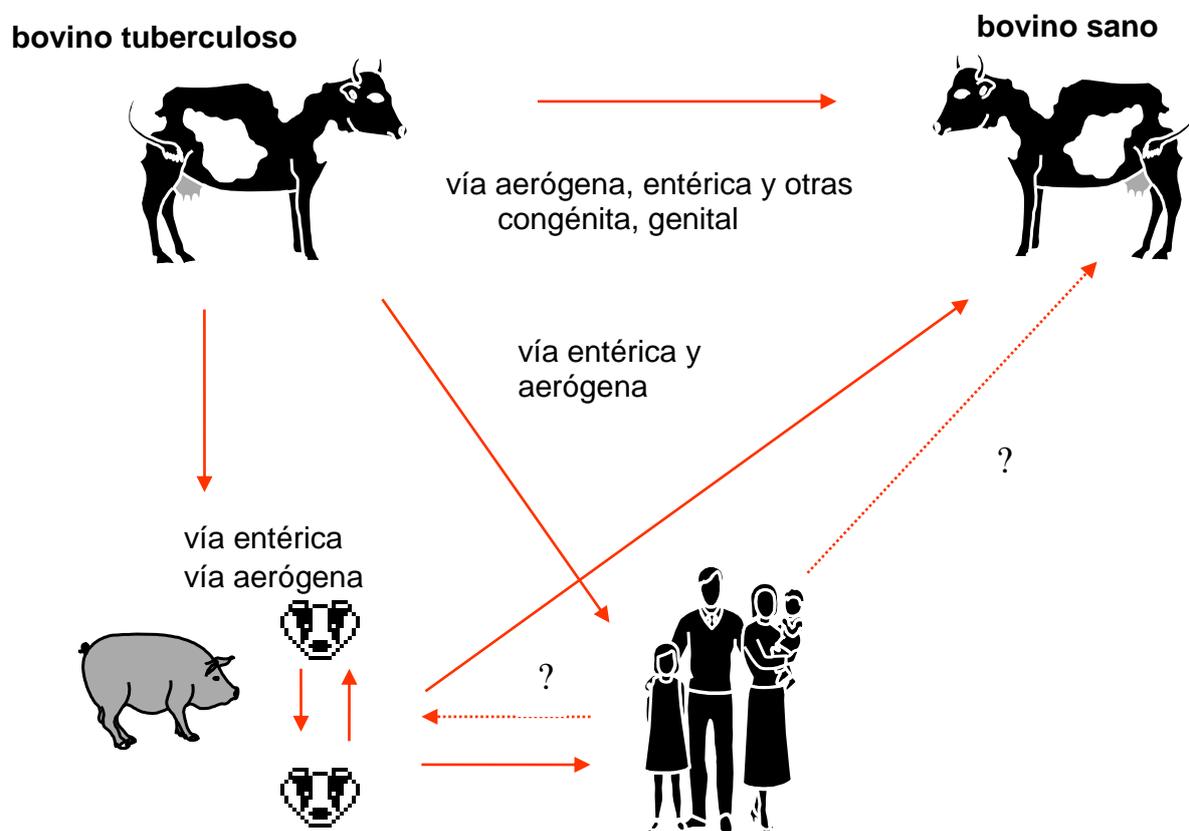


Figura 1: Vías de transmisión del *Mycobacterium bovis*

Los resultados de infecciones experimentales realizadas por vía aerógena y digestiva, junto con la distribución de lesiones halladas en los bovinos naturalmente infectados, demuestran que entre el 80 al 90% se infecta por inhalación (Morris et al., 1994). Para el caso de *M. bovis*, la dosis infectante por vía respiratoria sería tan baja como un bacilo para producir una lesión en

comparación con los millones que requiere la vía digestiva (Morris et al., 1994 y Phillips et al., 2003). Esta observación fue comprobada muchos años después, cuando se demostró que una dosis de 1 unidad formadora de colonias (UFC) puede establecer la patología tuberculosa por esta vía en bovinos, con igual desarrollo y respuesta inmunitaria que dosis 1.000 veces mayores (Dean et al., 2005). El 94% de los bacilos sobreviven en aerosoles durante los primeros 10 minutos de exposición al aire, pudiendo algunos permanecer viables hasta 12 horas en estas condiciones (Gannon et al., 2007). Luego de la inoculación ocurre un período de latencia, más prolongado en los animales en los que se aplicaron las dosis menores de infección, pudiendo variar de esta manera el aislamiento en mucus nasal entre los 11 (106 UFC) y los 18 días (104 UFC) post-inoculación (Neill et al., 1988). Este período de latencia estaría influenciado por factores tales como el tipo de cepa de *M. bovis* y la velocidad de respuesta inmunológica por parte del hospedador. Una vez comenzada la excreción, ésta permanece varias semanas, para luego decaer y hacerse intermitente. El comportamiento de los animales infectados naturalmente se asemejaría a las infecciones provocadas con una baja dosis de bacilos, donde luego de 7 a 8 semanas decae la eliminación, siendo dificultoso su aislamiento o estando ausente del moco nasal. Esta intermitencia permite que algunos animales eliminen *M. bovis* por aerosoles hasta las 34-38 semanas post infección (Neill et al., 1988). La excreción de bacilos en las infecciones naturales comienza a partir de los 87 días post-infección, incluso en bovinos negativos al test de tuberculina (Neill et al., 1992).

Vía Digestiva

Esta es la segunda vía de importancia de infección en los bovinos. Si bien los animales infectados pueden contaminar las pasturas por la eliminación de *M. bovis* en materia fecal (MF), se requerirían grandes dosis de estos bacilos para lograr establecer infección por esta vía. Ejemplo de ello son las inoculaciones experimentales en donde 3 de 4 terneros se lograron infectar con una dosis casi 5.000 veces mayor que la requerida para infectar un bovino por vía aerógena (Palmer et al., 2004). Por eso, la transmisión de la tuberculosis entre bovinos a través de pasturas contaminadas sería un evento poco común, donde la supervivencia del bacilo está directamente condicionada en el medio ambiente por el clima.

En general, el rol de la contaminación del medio ambiente como fuente de infección para los bovinos es de poca significancia en relación con la transmisión directa de bovino a bovino (Morris et al., 1994). Esta vía digestiva adquiere relevancia en la infección de terneros por el consumo de leche proveniente de vacas tuberculosas. Entre el 1 y 2% de las vacas tuberculosas presenta lesiones en glándula mamaria proveniente de la diseminación hematogena (Morris et al., 1994; Hardie y Watson, 1992). La excreción de *M. bovis* por leche en vacas afectadas también sería muy baja, del orden del 1 al 2% (Flamand et al., 1994). Sin embargo, el suministro de leche cruda proveniente de vacas positivas a tuberculina a terneros bajo sistemas de crianza intensivos, produjo brotes de TBb cuando estos animales llegaron a los 8-9 meses de edad. Los animales afectados presentaron lesiones en pulmón, ganglios linfáticos mesentéricos, hígado y SNC (Bernardelli et al., 1994).

Otras vías de transmisión

La vía congénita puede ocurrir en el 12 al 50% de los terneros nacidos de vacas con metritis tuberculosa, pudiendo ser ésta la causa de la presentación de lesiones en el sistema nervioso central (O' Reilly y Darbon, 1995). Otros autores han encontrado que el 1% de los terneros nacidos de vacas tuberculosas están congénitamente infectados, presentando lesiones en el hígado, en el pulmón y varios nódulos linfáticos de la carcasa (Tweddle et al., 1994).

La transmisión genital puede ocurrir si los órganos reproductivos se encuentran afectados, pero es extremadamente rara (Neill et al., 1994).

Período de incubación

Los síntomas de la tuberculosis tardan meses en desarrollarse en el ganado. Las infecciones también pueden permanecer latentes durante años y reactivarse durante períodos de estrés o en animales viejos.

Los terneros infectados por consumo de leche cruda, proveniente de vacas infectadas, pueden desarrollar la enfermedad en forma grave a las pocas semanas de infección, mientras que otros pueden alcanzar la edad adulta sin presentar síntomas.

Desarrollo de lesiones.

Las micobacterias patógenas producen una lesión granulomatosa característica en los tejidos tanto de humanos como en los de una larga lista de animales domésticos y silvestres (Thoen y Barletta, 2004). Cuando un bovino es expuesto a *M. bovis*, varios factores ejercen una influencia significativa sobre los eventos subsiguientes. Algunos de estos factores son inherentes al bacilo, otros al huésped y otros al medio ambiente (Pollock y Neill, 2002).

Estos granulomas (tubérculos) es donde se localizan las bacterias, son generalmente de aspecto amarillentos y caseosos, pudiendo estar calcificados y rodeados por un tejido fibroso (encapsulados). Su tamaño y localización es muy variable desde unos pocos milímetros a algunos centímetros de diámetro, ubicados principalmente en los bovinos en los ganglios linfáticos, particularmente los que se encuentran en la cabeza y el tórax. También son frecuentes en los pulmones, bazo, hígado y en algunas ocasiones en el sistema nervioso y medula. En casos aislados se pueden observar múltiples granulomas pequeños afectando diversos órganos, denominándose a esta presentación tuberculosis generalizada.

Las lesiones a veces aparecen en los genitales de la hembra, pero son poco frecuentes en los genitales del macho. En algunas especies, como los ciervos, las lesiones suelen tener el aspecto de abscesos en lugar de los típicos tubérculos. La formación de estos granulomas es un intento de parte del huésped de localizar la infección y lograr a través de los mecanismos inflamatorios e inmunitarios la destrucción de los bacilos (Thoen y Chiodini, 1993).

Rol de la fauna silvestre en la tuberculosis bovina

En las últimas décadas, numerosos países implementaron programas de control y erradicación de TBb en sus rodeos bovinos, basados en la detección de los animales infectados y su inmediata faena (denominado “test and slaughter”). A pesar de haber logrado progresos satisfactorios en extensas regiones, en algunas áreas persistieron las reinfecciones en los rodeos

saneados. Una de las causas para que esto ocurriera fue la presencia de fauna silvestre infectada (Morris et al., 1994).

La infección por *M. bovis* fue detectada en un amplio rango de animales silvestres ubicados en regiones como América del Norte, Europa, África y Nueva Zelandia (Morris et al., 1994; O'Reilly y Darbon, 1995, de Lisle et al., 2002) y con manifestaciones diferentes según las especies (Corner, 2006). La enfermedad produce no solo un impacto sobre la fauna, sino que es un grave perjuicio económico por lo que significa la presencia de un reservorio para los animales domésticos que pueden entrar en contacto.

Las especies silvestres afectadas por *M. bovis*, pueden clasificarse de acuerdo a la dinámica de la infección en hospedadores de mantenimiento o reservorios y en hospedadores finales (Morris et al., 1994; de Lisle et al., 2002).

Factores que afectan la transmisión del *M. bovis* por parte de la fauna silvestre

Los factores inherentes al animal y a la población influyen la transmisión dentro y entre poblaciones de animales.

Factores relevantes al animal: vías de ingreso, localización de lesiones, vías y niveles de excreción, vía de ingreso más importante para las especies domésticas en riesgo y dosis mínima infectante de acuerdo a la vía de ingreso.

Factores relevantes a la población: el riesgo de transmisión depende del número de animales infectados y del número de animales susceptibles en la población. Cuánto son capaces de infectar los individuos de una especie y si cumplen con las condiciones necesarias para esto (Corner, 2006).

Para cada vía de ingreso, las situaciones pueden diferir, tornándose importante la distancia entre tiempo y espacio, entre la fuente de infección y el animal susceptible. Relacionados con el tiempo y espacio, está la duración de la interacción entre infectado y huésped susceptible, el efecto del tiempo sobre la viabilidad del bacilo excretado y la supervivencia de este en el medio ambiente. Para una efectiva transmisión, el *M. bovis* debe sobrevivir en el medio y en una cantidad suficiente para infectar al huésped. Esta supervivencia de los bacilos fuera del animal es importante en la duración del riesgo.

La alteración del medio ambiente y el manejo poblacional de la fauna pueden producir cambios que lleven a introducir la enfermedad o exacerbar su presencia en los animales silvestres. Estos cambios tienden a incrementar la interacción entre los animales silvestres y los animales domésticos, facilitando la transmisión (Corner, 2006).

Especies de animales silvestres infectados por *M. bovis* involucrados en la transmisión a los bovinos

Estos últimos huéspedes silvestres denominados de “mantenimiento” porque la infección se mantiene entre los individuos de la misma especie, son los que resultan ser un importante impedimento para la erradicación de esta enfermedad en algunos países: la comadreja cola de cepillo – “Brush-tailed possum” - (*Trichosurus vulpecula*) (Figura 2) en Nueva Zelandia, los tejones o badger europeo (*Meles meles*) (Figura 3) en el Reino Unido e Irlanda, los alces (*Cervus elaphus manitobensis*) y el bisonte (*Bison bison athabasca*) en Canadá, el kudu (*Tragelaphus*

strepsiceros) y búfalo africano (*Syncerus caffer caffer*) (Figura 5) en el Parque Nacional Kruger (PNK) en Sud África. El ciervo de cola blanca “white-tailed deer” (*Odocoileus virginianus*) (Figura 4) en el estado de Michigan, EEUU. Otras especies son huéspedes “accidentales”, ya que pueden infectarse a partir de los bovinos, pero no son una fuente de reinfección importante para otros bovinos. Forman parte de este grupo muchas especies de ciervos y rumiantes silvestres, elefantes, rinocerontes, zorros, coyotes, visones, primates, zarigüeyas, nutrias, focas, leones marinos, liebres, mapaches, osos, jabalíes verrugosos, felinos mayores (incluidos leones, tigres, leopardos, guepardos y lince) y varias especies de roedores. Los mamíferos carnívoros son predadores naturales y adquieren la enfermedad al capturar presas afectadas por la enfermedad.



Figura 2. Comadreja cola de cepillo – (*Trichosurus vulpecula*).
www.ozanimals.com/



Figura 3. Tejón o badger europeo (*Meles meles*). (www.tvbenavente.es/)



Figura 4. Ciervo de cola blanca - (*Odocoileus virginianus*)
<http://animaldiversity.org/>



Figura 5. Búfalo africano - (*Syncerus caffer caffer*). <http://animaldiversity.org/>

Cada una de estas especies tiene características particulares sobre el desarrollo de la enfermedad, pero en todas ellas la vía respiratoria es la más importante y también es la vía por la

cual pueden contagiar a otros individuos de su especie y a los bovinos. En los ciervos y grandes ungulados ésta sería la principal vía de infección y de eliminación de *M. bovis*.

La vía digestiva también es importante en aquellos animales que en determinadas ocasiones pueden consumir despojos de bovinos afectados por TBb como los tejones, comadreas, zorros, ratas y jabalíes.

La vía la pseudo-vertical (Coleman y Cooke, 2001) ocurre en la comadreja cola de cepillo por el estrecho contacto madre-cría que se produce al completar gran parte de su desarrollo en la bolsa de este marsupial. La transmisión horizontal ocurre en los tejones (Morris *et al.*, 1994) por descargas de aerosoles provenientes de las vías respiratorias en las actividades de reproducción, las peleas entre machos, la cohabitación en cuevas o escondites y el acicalamiento entre individuos.

En estadios finales de la enfermedad en tejones y comadreas, el desarrollo de las lesiones es importante, afectando ganglios linfáticos superficiales, que pueden abscedarse y drenar al exterior exudado conteniendo *M. bovis* siendo una fuente de contaminación de pastos (Gallagher y Clifton-Hadley, 2000). Como al estar tan afectados alteran su comportamiento, siendo fácilmente olfateados o lamidos por bovinos, también sus despojos pueden servir de fuente de infección para otras especies silvestres que tienen como hábito consumir carroña como los hurones, los cerdos salvajes y los armiños (Morris *et al.*, 1994).

La intervención que hace el hombre sobre la fauna silvestre ha facilitado la dispersión de la enfermedad dentro de algunas especies, es el caso de los ciervos en el estado de Michigan (USA) donde con fines de explotación cinegético, se suministraba alimentos durante los inviernos para aumentar el número de individuos, promoviendo de esta manera el mayor contacto entre individuos en estos sitios de alimentación y con ello la transmisión del *M. bovis* (Schmitt *et al.*, 2002). Con el jabalí (Figura 6) en algunas áreas de España ocurrió algo semejante por el aumento de los cotos de caza, en superficies que no suelen sobrepasar las 500 ha y donde los jabalíes se mantienen de forma artificial en densidades muy superiores a las que puede alcanzar en su estado natural (Rosell *et al.*, 2001).



Figura 6. Jabalí – (*Sus scrofa*) (www.elsemiarido.com/)

Para controlar esta infección en las diferentes especies se ejecutaron matanzas como las organizadas en los años 1970 y 1980 para disminuir la presencia de tejones en áreas rurales de UK. La disminución de la población de tejones fue efectiva para el control de la TB en los bovinos (Ó Máirtín *et al.*, 1998; Griffin *et al.*, 2005), pero igualmente las infecciones persistieron, siendo los

bovinos y no lo tejones, los responsables de las mismas, que aun estando bajo regímenes de control, son una fuente importante de infección, persistencia y diseminación de la enfermedad (Defra, 2007). Una parte de la sociedad se opuso al exterminio considerando que el animal era autóctono de las Islas Británicas y que debería ser protegido. Hoy en día se trabaja en el desarrollo de vacunas para esta especie, considerando que puede ser una buena alternativa para evitar la difusión de la enfermedad en los tejones e indirectamente disminuir la infección en los bovinos.

En el caso de la comadreja cola de cepillo que es exótica de Nueva Zelanda, su remoción del ecosistema no tiene resistencia por parte de la sociedad. El control a través de cebos tóxicos, hizo decrecer la población de comadrejas y disminuyó la prevalencia de TB en los bovinos. El exterminio total de esta especie es un hecho impracticable, sugiriéndose que lo más promisorio a largo plazo sería el desarrollo de una vacuna junto con su control biológico (Palmer, 2007).

La disminución de la población de ciervos fue puesta en práctica por el estado de Michigan con medidas como el incremento del número de ejemplares que se podían abatir anualmente por parte de los cazadores deportivos y con la prohibición de las prácticas de alimentación y cebado. Esto produjo el descenso de la prevalencia aparente en la población de ciervos desde los 4,9% en el año 1995 al 1,7% en el 2004 (O'Brien et al., 2006).

Para el caso de los jabalíes en España, se propone el uso de instalaciones especiales para alimentar solo a los individuos jóvenes y el cumplimiento de normas como no dejar restos de vísceras de los animales cazados en el campo. La obtención de vacunas para la fauna parece ser la medida que a largo plazo resulte más eficaz para controlar la infección en este reservorio (Ballesteros et al., 2009; Garrido et al., 2011).

Otras especies hospedadoras de mantenimiento

Además de las especies silvestres nombradas anteriormente, existen otras que también son catalogadas como de mantenimiento de la infección por *M. bovis*, pero su importancia epidemiológica se encuentra muy limitado a una ecorregión en particular. Son los casos del bisonte (*Bison bison athabasca*) y el alce o elk (*Cervus elaphus manitobensis*) en Canadá. Ambas especies se encuentran separadas geográficamente ocupando la primera el Wood Buffalo National Park (WBNP) en la provincia de Alberta y la segunda el Riding Mountain National Park en la provincia de Manitoba (RMNP) (Nishi et al., 2006). A pesar de la existencia de TB en estos ungulados, no se ha reportado evidencia de enfermedad en otras especies silvestres en este país (Wobeser, 2009).

Son varios los ungulados de África en los que se ha descrito la infección por *M. bovis* como el kudu menor (*Tragelaphus imberbes*) y el ñu azul (*Connochaetes taurinus*) en Tanzania (Cleaveland et al., 2005), el antílope Lechewe (*Kobus leche*) en Sudáfrica (de Lisle et al., 2001) y en Tanzania (Munyeme et al., 2010) y el antílope jeroglífico (*Targelaphus scriptus*) en Zambia (Cleaveland et al., 2005).

En otros países como Nueva Zelanda la cabra salvaje (*Capra hircicus*) (Coleman y Cooke, 2001) y en Australia el búfalo de agua o asiático (*Bubalus arnee*) (Corner, 2006) han sido reportados como infectados por *M. bovis*.

Situación en Argentina

En Argentina existe desde 1999 un plan oficial de control y erradicación de TBb SENASA 1999, reemplazado por su continuador Res 128/2012 (SENASA, 2012) basados en premisa de “test and slaughter”, aunque sin contemplar la indemnización a los productores por el descarte de los animales positivos, una efectiva trazabilidad en faena y un rígido control de movimientos. Requiriendo prioritariamente de la cooperación entre los ganaderos y sus asociaciones, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), los servicios provinciales de salud animal, los colegios profesionales de veterinarios, las universidades y las empresas lácteas. Desde su puesta en marcha, el número de rodeos bovinos declarados libres ha ido en constante aumento y el nivel de la prevalencia nacional obtenida anualmente a través de la inspección en frigoríficos ha disminuido paulatinamente desde 6,9 % en el año 1969 al 0,3% en el 2014 (SENASA 2016). Sin embargo, la distribución de la TBb en el rodeo nacional reconoce áreas más afectadas que otras. Estos conglomerados geográficos coinciden con las zonas lecheras de la Argentina, siendo el más significativo por su nivel de infección el que agrupa a los departamentos centrales de la provincia de Santa Fe (Castellanos, La Capital, Las Colonias, San Jerónimo y San Justo) y parte del departamento San Justo, ubicado en la provincia de Córdoba (Pérez et al., 2002). Trabajos realizados en los departamentos Castellanos y Las Colonias, evidenciaron prevalencias en vacas y rodeos lecheros del orden del 7,7% y 30% para el primero y del 4,1% y 15,6% para el segundo (Abdala et al., 1999; Abdala et al., 2002). En el vecino departamento cordobés de San Justo, la prevalencia de animales con lesiones compatibles con TB fue del 3,4% (Abdala y Tarabla, 2004).

Diversos factores de manejo y ambiente pueden explicar las variaciones de incidencia y prevalencia entre regiones y entre rodeos de una misma región (Morris et al., 1994). El factor ambiental ha sido poco estudiado en Argentina, especialmente el que involucra a la participación de la fauna silvestre local. El aislamiento de *M. bovis* en animales silvestres de Argentina fue realizado en liebre (*Lepus europaeus*) (Kantor et al., 1984), y en jabalí (*Sus scrofa*) (Bernardelli et al., 2004). La liebre y el jabalí son especies de origen europeo y desde su introducción al país a fines del siglo XIX y principios del XX, comparten el hábitat con bovinos criados en sistemas típicamente extensivos. Es la liebre europea, sobre la que se desarrolló la primera búsqueda sistemática de *M. bovis* en una especie silvestre en Argentina. Se inspeccionaron 181.000 liebres cazadas a campo y procesadas en un frigorífico de Río Cuarto (Prov. de Córdoba), de los cuales solo 20 presentaron lesiones compatibles con TB, sin embargo, no se pudo aislar *M. bovis* de estas lesiones (Raviolo et al., 2005).

BIBLIOGRAFÍA

- Abdala, A.A.; Tarabla, H.D.; Bertero. S.; Torres, P. Vigilancia Epidemiológica de la Tuberculosis Bovina en el Depto. Castellanos, Santa Fe 1999. Revista de Medicina Veterinaria 80, 357-360.
- Abdala, A. A.; Tarabla, H. D.; Bertero, S 2002. Estimación de la prevalencia de tuberculosis bovina en rodeos lecheros del departamento Las Colonias, Santa Fe. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias 1, 13 –20.
- Abdala, A.A.; Tarabla, H.D. 2004. Prevalencia de tuberculosis bovina en el Depto. San Justo (Provincia de Córdoba, Argentina) según información obtenida en frigoríficos. Veterinaria Argentina 21, 21-29.
- Ballesteros C, Garrido JM, Vicente J, Romero B, Galindo RC, Minguijón E, Villar M, Martín-Hernando MP, Sevilla I, Juste R, Aranaz A, de la Fuente J, Gortázar C. 2009. First data on Eurasian wild boar response to oral immunization with BCG and challenge with a *Mycobacterium bovis* field strain. Vaccine. 48, 6662-8.

- Bernardelli, A., Franceschi, G. Costa, E.; Sanguinetti, R., Torres, P. Pianovi, C., Idiart, J. 1994. Enzootia tuberculosa en terneros de crianza artificial. Descripción de un foco. *Revista de Medicina Veterinaria* 75, 251-254.
- Bernardelli, A.; Zumárraga, M.; Alonso, B.; Cataldi, A. Y Sanguinetti, R. 2004. Tuberculosis en fauna salvaje. XIX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Octubre 24-28, 2004 Buenos Aires, Argentina.
- Cleaveland, C., Mlengeya, T., Kazwala, R. R., Michel, A., Kaare, M. T., Jones, S. L., Eblate, E., Shirima, G. M., and Parcker, C. 2005. Tuberculosis in Tanzanian Wildlife. *Journal of Wildlife Diseases* 41, 446-453.
- Coleman, J. D., Cooke, M. M. 2001. *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. *Tuberculosis* 81, 191-202.
- Corner, L. A. L. 2006. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: How to assess the risk. *Veterinary Microbiology* 112, 303-312.
- Dean, G. S., Rhodes, S. G., Coad M., Whelan, A. O., Cockle, P. J., Clifford, D. J. Hewinson, R. G. and Vordermeier H. M. 2005. Minimum Infective Dose of *Mycobacterium bovis* in Cattle. *Infection and Immunity* 73, 6467-6471.
- Defra. Bovine TB: The Scientific Evidence. Final Report of the Independent Scientific Group on Cattle TB 2007. http://www.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/disease/atoz/tb/isgreport/final_report.pdf [Accedido enero de 2011].
- Delahay, R. J.; De Leeuw, A. N. S.; Barlow, A. M.; Clifton-Hadley, R. S. and Cheeseman, C. L. 2002. The status of *Mycobacterium bovis* infection in UK Wild mammals: A review. *The Veterinary Journal* 164, 90-105.
- de Lisle, G.W.; Mackintosh, C.G.; and Bengis, R.G. 2001. *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 20, 86-111.
- de Lisle, G.W.; Bengis, R.G.; Schmitt, S.M. and O' Brien D.J. 2002. Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 21, 371-334.
- Flamand, J. R. B.; Greth, A. Haagsma, J. Griffin, F. 1994. An outbreak of tuberculosis in captive herd of Arabian oryx (*Oryx leucoryx*) diagnosis and monitoring. *Veterinary Record* 134, 115-118.
- Gallagher J.; Clifton-Hadley, R.S. 2000. Tuberculosis in badger; a review of the disease and its significance for other animals. *Research in Veterinary Science* 69, 203-217.
- Gannon B W., Hayes, C. M. Roe, J. M. 2007. Survival ratio of airborne *Mycobacterium bovis*. *Research in Veterinary Science* 82, 169-172.
- Griffin, J. M., Williams, D. H., Kelly, G. E., Clegg, T. A., O'Boyle, I., Collins, J. D., More, S. J. 2005. The impact of badger removal on the control of tuberculosis in cattle herds in Ireland. *Preventive Veterinary Medicine* 67, 237-266.
- Garrido JM, Sevilla IA, Beltrán-Beck B, Minguijón E, Ballesteros C, Galindo RC, Boadella M, Lyashchenko KP, Romero B, Geijo MV, Ruiz-Fons F, Aranaz A, Juste RA, Vicente J, de la Fuente J, Gortázar C. 2011. Protection against tuberculosis in Eurasian wild boar vaccinated with heat-inactivated *Mycobacterium bovis*. *PLoS ONE* 6(9): e24905. doi: 10.1371/journal.pone.0024905.
- Hardie, R. M. and Watson J. M. 1992. *Mycobacterium bovis* in England and Wales: past, present and future. *Epidemiology and Infection* 109, 23-33.
- Kantor, I. N.; de la Vega E.; Bernardelli A. 1984. Infección por *Mycobacterium bovis* en liebres en la Provincia de Buenos Aires. *Revista Argentina de Medicina Veterinaria*, 65, 268-270.
- Morris, R.S.; Pfeiffer, D.U.; Jackson, R. 1994. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology*. 40, 153-177.
- Munyeme, M., Muma, J. B., Siamudaala, V. M., Skjerve, E., Munag`andu, H. M., Tryland, M. 2010. Tuberculosis in Kafue lechwe (*Kobus leche Kafuensis*) of the Kafue Basin in Zambia. *Preventive Veterinary Medicine* 95, 305-308.
- Neill, S. D., Hanna, J., O' Brien, J. J. McCracken, R. M. 1988. Excretion of *Mycobacterium bovis* by experimentally infected cattle. *Veterinary Record* 123, 340-343.
- Neill, S. D., Hanna, J., Mackie, D. P. and Bryson, T. D. G. 1992. Isolation of *Mycobacterium bovis* from the respiratory tracts of skin test-negative cattle. *Veterinary Record* 131, 45– 7.

- Nishi, J. S, Shury, T., Elkin, B. T. 2006. Wildlife reservoirs for bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Canada: Strategies for management and research. *Veterinary Microbiology* 112, 325-338.
- O'Brien, D. J., Schmitt, S. M., Fitzgerald, S. D., Berry, D. E., Hickling G. J. 2006. Managing the wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis*: The Michigan, USA, experience. *Veterinary Microbiology* 112, 313-323.
- Ó Máirtín, D., Williams, D. H., Griffin, J. M., Dolan, Eves, J.A. 1998. The effect of badger removal programme on the incidence of tuberculosis in Irish cattle population. *Preventive Veterinary Medicine* 34, 47-56.
- O'Reilly, L.M.; Daborn, C.J. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle Lung Dis.* 76, 1-46.
- Palmer, M. V.; Waters, W. R.; Whipple D. L. 2004. Investigation of the transmission of *Mycobacterium bovis* deer to cattle through indirect contact. *American Veterinary Medical Association* 11, 1483-1489.
- Palmer, M V. 2007. Tuberculosis: a reemerging disease at the interface of domestic animals and wildlife. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 315, 195-215.
- Perez, A.M.; Ward, M. P.; Torres, P.; Ritacco, V., 2002. Use of spatial statistic and monitoring data to identify clustering of bovine tuberculosis in Argentina. *Preventive and Veterinary Medicine* 56, 63-74.
- Phillips, C. J. C., Foster, C. R. W., Morris, P. A., Teverson, R. 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Research in Veterinary Science* 74, 1-15.
- Pollock J. M. and Neill S. D. 2002 *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. *The Veterinary Journal* 163, 115-127.
- Raviolo, J.; Speciale, W.; Giraud, J.; Di Cola, G. 2005. Principales causas de decomisos en liebres de frigorífico. 12° Simposio Internacional de la Asociación Mundial de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (WAVLD) Nov. 2005 Montevideo Uruguay.
- Rosell, C., Fernández-Llario, P. y Herrero, J. 2001. El Jabalí (*Sus Scrofa* LINNAEUS, 1758) *Galemys* 2, 2001. <http://www.secem.es/galemys/pdf>. [Accedido 16/11/11].
- Schmitt, S. M, O'Brien, D. J., Bruning-Fann C. S., Fitzgerald, S. D. 2002. Bovine tuberculosis in Michigan wildlife and livestock. *Ann N Y Acad Sci.* 969, 262-268.
- SENASA, Secretaría de Agricultura, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Argentina. 1999a. Plan Nacional de Control y erradicación de la Tuberculosis Bovina. Resolución N° 115/99.
- SENASA, Secretaría de Agricultura, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Argentina. 1999b. Actualización en Tuberculosis pp. 74.
- SENASA, Secretaría de Agricultura, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Argentina. 2012. Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la República Argentina. Resolución N° 128/2012. www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1526&io=20050 [Accedido 12/2012].
- SENASA, Ministerio de Agroindustria www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y ESTRAT/TUBERCULOSIS/situacion_tuberculosis_bovina_rep_argentina_2015.pdf [Accedido 8/2016].
- Tweddle, N. E, Livingstone P. 1994. Bovine tuberculosis control and eradication programs in Australian and New Zealand. *Veterinary Microbiology* 40, 23-39.
- Thoen, C. O. y Chiodini R. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals 1993. Gyles, C. L. y Thoen, C. O. with twenty-eight contributors. IOWA State University Press/AMES, pp 44-56.
- Thoen, C. O. and Barletta, R. G. 2004. *Mycobacterium*. Pathogenesis of Bacterial Infection in Animals. 3rd Edition. C.L. Gyles, J.F.Prescott, J. G. Songer and C. O. Thoen. Blackwell Publishing Ltd, pp 69-76.
- Wobeser, G. 2009. Bovine tuberculosis in Canadian wildlife: An updated history. *Canadian Veterinary Journal* 50, 1169-1176.

Mycobacterium bovis* EN FAUNA SILVESTRE DE LA CUENCA LECHERA DE SANTA FE (ARGENTINA)**^{1*} ABDALA, A. A.; ² GARBACCIO, S.; ² ZUMÁRRAGA, M. ; ¹ TARABLA, H. D.*1 INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina.**2 INTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Castelar, ArgentinaAutor de contacto: abdala.alejandro@inta.gob.ar*

Publicado en: Rev. Argent. Microbiol. 2015; 47 (3): 174-183

INTRODUCCIÓN

El agente causal de la Tuberculosis bovina (TBb) es el *Mycobacterium bovis*, que produce infecciones en animales domésticos, silvestres y el hombre. En las últimas décadas numerosos países ejecutaron programas de control y erradicación de TBb en sus rodeos bovinos, basándose en la detección de los animales infectados y su inmediata faena (“*test and slaughter*”). A pesar de haber logrado progresos satisfactorios en extensas regiones, en algunas áreas persistieron las reinfecciones en los rodeos saneados. La causa principal de que esto ocurriera fue la presencia de fauna silvestre infectada (Clifton-Hadley et al., 1995; de Lisle et al., 2001; Gallagher et al., 2000; Morris; et al., 1994; Ryan et al., 2006).

En Argentina existe desde 1999 un plan oficial de control y erradicación de TBb (SENASA 1999; SENASA 2012), basado en la misma premisa, aunque sin contemplar la indemnización a los productores por el descarte de los animales positivos. Desde su puesta en marcha el número de rodeos bovinos especialmente lecheros que fueron declarados libres, han ido en constante aumento. Sin embargo, los conglomerados geográficos más afectados coinciden con las zonas lecheras, siendo el más significativo el que agrupa a los departamentos centrales de la provincia de Santa Fe (Castellanos, La Capital, Las Colonias, San Jerónimo y San Justo) y parte del departamento San Justo, de la provincia de Córdoba (Pérez, et al., 2002). Los departamentos Castellanos y Las Colonias, evidenciaron prevalencias en vacas y rodeos lecheros del orden del 7,7% y 30% para el primero, y del 4,1% y 15,6% para el segundo respectivamente (Abdala, et al. 1999; Abdala et al., 2002). Diversos factores de manejo y medio ambiente pueden explicar las variaciones de incidencia y prevalencia entre regiones y entre rodeos de una misma región²⁷. Morris La participación de la fauna silvestre local ha sido poco estudiada en Argentina, comunicándose aislamientos circunstanciales de *M. bovis* en liebres (*Lepus europaeus*) (Kantor, et al., 1984), jabalí (*Sus scrofa*) (Bernardelli, et al., 2004) y puma (*Puma concolor*) en cautiverio (Quse y Falzoni, 2008). Hasta el momento no se han realizado estudios sistemáticos sobre la infección de fauna autóctona por *M. bovis* y su relación con las especies de interés pecuario, por tal motivo el objetivo del presente trabajo es determinar si la fauna silvestre existente en la cuenca lechera de Santa Fe está infectada con *M. bovis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización de Rodeos Lecheros

Se seleccionaron 5 rodeos lecheros ubicados en la denominada Cuenca lechera Santa Fe, que permitieron la captura de animales silvestres en sus predios (Figura 1).

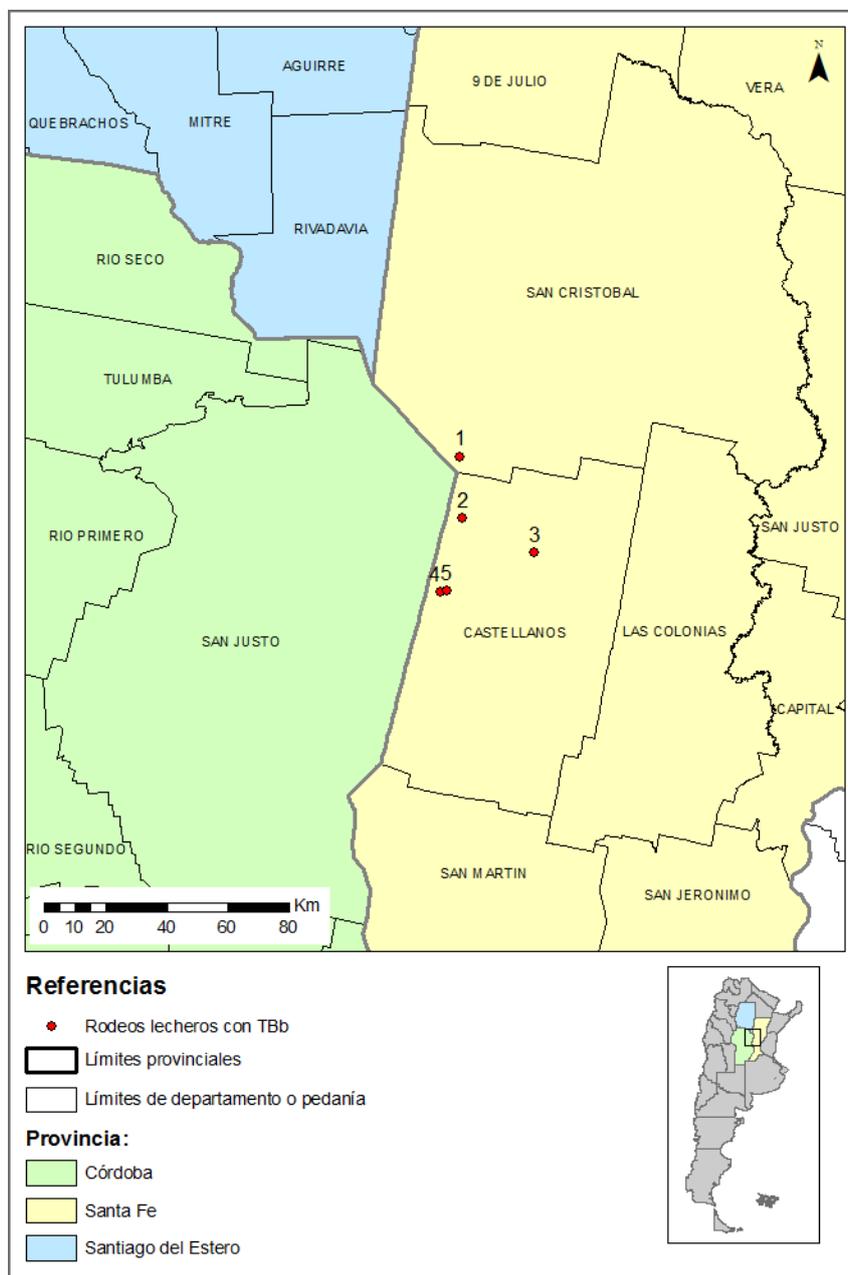


Figura 1: Ubicación de los rodeos lecheros donde se realizaron las capturas de animales silvestres

Tres de estos rodeos presentaron prevalencias elevadas en sus vacas a la prueba de tuberculina ano-caudal, variando del 7 al 29% de animales positivos. Los dos restantes tuvieron nuevamente reaccionantes positivos a tuberculina (2 al 4% sobre el total del rodeo) luego de haber finalizado ambos un programa de saneamiento de esta enfermedad. En uno de estos dos últimos rodeos se había aislado previamente una cepa de *M. bovis* a partir de lesiones visibles detectadas en frigorífico en uno de sus bovinos.

Las labores de muestreo de fauna se realizaron durante los años 2007, 2008 y primer semestre del 2009.

Captura de animales

Se procuró la captura de todas las especies de mamíferos silvestres existentes en los predios. Para tal fin se utilizaron trampas tipo Tomahawk para los roedores pequeños y otra de diseño semejante, pero de dimensiones superiores para las especies de mayor tamaño. Las trampas se colocaron en línea, separadas por 2 o 3 metros entre sí, en áreas donde naturalmente se refugian los animales silvestres. Estas incluyeron las zonas perimetrales a las pasturas utilizadas por los bovinos, donde existía cobertura de árboles y pajonales naturales, en proximidad de instalaciones de ordeño y en los sitios donde se depositan los bovinos muertos de estos establecimientos.

Los roedores capturados fueron manipulados y sacrificados siguiendo normas estándares para roedores del Centers for Disease Control and Prevention (Mills, et al., 1995). En el caso de animales del orden Xenarthra (peludos), Didelphimorphia (comadreas) y Galactis (hurón) se siguieron las recomendaciones del CICUAE INTA-CICVyA (CICUAE INTA-CICVyA, 2007), suministrándose xilazina (Rompun[®], Bayer Argentina) IM en dosis de 5 mg/kg de peso como tranquilizante, previo a la aplicación intracardíaca del eutanásico (T61[®], Intervet Argentina S.A). Las labores de colocación de trampas se realizaron en 2-3 períodos de cinco días por cada establecimiento, entre los meses de mayo a septiembre. Para la captura de zorros y liebres se recurrió al empleo de armas de fuego. Se contó con la autorización expresa del Gobierno de la provincia de Santa Fe (Res. 0040/08 Exp. N° 02101-00009273-3).

Las carcasas de los animales se mantuvieron refrigeradas desde su captura-sacrificio hasta su procesamiento, no superando las 8 horas post-mortem.

Toma de muestras en bovinos

Se procuró el aislamiento de *M. bovis* en los bovinos de todos los rodeos donde se hicieron las capturas de animales silvestres, a fin de determinar la cepa/s presentes y spoligotipos (spo). Se realizaron necropsias en tres de los establecimientos y de solo un bovino en cada uno de ellos. Las muestras se obtuvieron de las lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis (TB) cuando se observaron y de ganglios retrofaríngeos y mediastínicos cuando los bovinos no presentaban lesiones. Las muestras se acondicionaron en recipientes estériles, se refrigeraron inmediatamente después de su obtención y se mantuvieron a – 18°C hasta su procesamiento. En el establecimiento donde no se pudo realizar necropsias, se procuró el aislamiento de *M. bovis* a través de hisopados nasales realizados a un número de 10 animales positivos a tuberculina en dos oportunidades. La toma de muestras se realizó con hisopos estériles contruidos artesanalmente e introducidos unos 8-10 centímetros en los ollares de los bovinos y colocados posteriormente en tubos de 50 mililitros de

capacidad conteniendo 15 mililitros de buffer fosfato estéril. Estas muestras fueron mantenidas congeladas a -18°C hasta su procesamiento en el laboratorio de bacteriología.

Toma de muestras en animales silvestres

Para todas las especies silvestres se aplicó una rutina de necropsia que consistía en la apertura de cavidades por línea media, observación macroscópica de presencia de lesiones compatibles con TB en órganos. Se tomaron muestras individuales de pulmón y alícuotas de bazo, hígado y riñón, colocándolas en contenedores estériles. En los mamíferos de mayor tamaño se recolectaron ganglios retrofaríngeos, submandibulares, tonsilas y preescapulares. Todas las muestras con destino a bacteriología se conservaron a -18°C hasta su procesamiento.

Cultivos bacteriológicos

Las muestras de tejido fueron trituradas utilizando un homogeneizador mecánico (Stomacher Basic 470, Sedward) y decontaminadas por la técnica de Petroff. Ambos procesos se realizaron siguiendo la metodología recomendada por el Manual de Micobacterias de la AAVLD (Jorge et al., 2005). Posteriormente se sembraron por duplicado en medios de Löwestein-Jensen y Stonebrink. Los desarrollos en cultivos fueron coloreados con Ziehl Neelsen (ZN) para identificación morfológica de las micobacterias.

Técnicas moleculares

La identificación de los aislamientos con tinción de ZN positiva como pertenecientes al Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), se realizó por la técnica de PCR-IS6110, utilizando los cebadores: - INS1 CGTGAGGGCATCGAGGTGGC y - INS2 CGTAGGCGTCGGTGACAAA de acuerdo a lo descrito por Hermans y col. (Hermans et al., 1991).

La tipificación molecular de los aislamientos identificados como pertenecientes al CMT se efectuó utilizando la técnica de Spoligotyping de acuerdo a lo descrito por Kamerbeek y col. (Kamerbeek et al., 1997).

Análisis Estadístico

La búsqueda de asociaciones entre aislamiento de *M. bovis* en comadreja overa y variables independientes (sexo, prevalencia de infección en vacas lecheras, tamaño del rodeo y rodeos re infectados (si/no), se efectuó mediante el Test Exacto de Fischer, (OR) e intervalo de confianza del 95%, utilizándose el software SatWin Ep. Scope V. 2.0[®].

RESULTADOS

Se capturaron un total de 95 mamíferos obteniéndose el aislamiento de *M. bovis* en 9 individuos, resultando en una prevalencia de infección del 9,4%. Siete aislamientos se realizaron sobre comadreja overa (*Didelphys albiventris*) uno en zorro gris (*Lycolapex gymnocercus*) y en rata (*Rattus norvegicus*). La prevalencia de infección en comadreas resultó del 12,7% (Tabla 1). Ninguno de los individuos presentó lesiones macroscópicas compatibles con TB.

Los aislamientos obtenidos en comadrejas fueron a partir del conjunto de ganglios de cabeza (n = 4), pulmón (n = 2) y pool de hígado, bazo y riñón (n = 1). En el zorro se obtuvo a partir de nódulos mesentéricos y en la rata de pulmón (Tabla 1).

Tabla 1: detalle de las especies capturadas.

Especie	Total de Capturas	Machos	Hembras	Presencia de lesión macroscópica	Aislamiento de <i>M. bovis</i>	Cantidad de individuos afectados/sexo	Sitio anatómico del aislamiento	Spoligotipo de <i>M. bovis</i> (frecuencia de aislamiento)
Ratón de campo (<i>Akodon</i> sp.)	4	1	3	no				
Laucha de campo (<i>Calomys</i> sp.)	3	1	2	no				
Colilargo (<i>Oligoryzomys</i> sp.)	2	1	1	no				
Rata (<i>Ratus norvegicus</i>)	9	4	5	no	sí	1 ♀	pulmón	12 (1)
Ratón común (<i>Mus musculus</i>)	1	1		no				
Cuis común (<i>Cavia aperea</i>)	7	4	3	no				
Comadreja overa (<i>Didelphys albiventris</i>)	55	23	32	no	sí	5 ♂ 2 ♀	Nódulos linfáticos de cabeza y carcasa; pulmón y pool de hígado, bazo y riñón	12 (2), 34 (4) y 122 (1)
Peludo (<i>Chaetophractus vellosus</i>)	7	6	1	no	-		-	
Zorro gris (<i>Lycolapex gymnocercus</i>)	2	1	1	no	sí	1 ♂	Nódulo mesentérico	96 (1)
Huron menor (<i>Galictis cuja</i>)	1	-	1	no				
Liebre europea (<i>Lepus europaeus</i>)	4	3	1	no				
TOTAL	95	45	50			9		

No se encontraron asociaciones significativas entre aislamientos y sexo en las capturas de comadreja overa ($p = 0,418$), prevalencia de infección en el rodeo de vacas ($p = 0,29$), el tamaño del rodeo ($p = 0,293$). Los rodeos con reinfección tuvieron 4 veces más riesgo de aislamiento de *M. bovis* en la fauna silvestre capturada dentro de sus predios que los rodeos infectados ($p = 0,045$).

La tipificación molecular de los aislamientos obtenidos de fauna silvestre, permitió la caracterización de los mismos como pertenecientes a la especie *M. bovis*. Se identificaron 4 spo diferentes. A partir de 4 comadrejas y una rata se aisló en cuatro ocasiones spo 34 y en tres el spo 12. Se detectó en una sola oportunidad el spo 96 obtenido en el zorro y el 122 proveniente de una comadreja (Tabla 1).

En todos los establecimientos involucrados se obtuvo al menos una cepa de *M. bovis* en alguna de las especies de animales silvestres capturados (Tabla 2).

Tabla 2: detalle de los rodeos bovinos donde se realizaron las capturas de animales silvestres.

Rodeo	% de bovinos reaccionantes positivos a tuberculina AC	Necropsia de bovinos/ inspección frigorífico	Lesiones macroscópicas compatibles con TB en bovinos	Hisopados nasales	Aislamiento en bovinos	Spoligotipos aislados en bovinos	Aislamiento en fauna silvestre (cantidad y especie)
1	29 vacas en lactancia	Si - necropsia	no	si	no	-	Si (1 zorro)
2	Reinfección 4 rodeo total	Si - frigorífico	si	no	si	21	Si (3 comadrijas)
3	13 vacas en lactancia	Si - necropsia	no	si	no	-	Si (1 rata)
4	Reinfección 2 % rodeo total	no	-	si	no	-	Si (3 comadrijas)
5	7, 3 % vacas en lactancia	Si - necropsia	si	no	si	98	Si (1 comadreja)

Se realizaron necropsias de bovinos en 3 de los 5 establecimientos, observándose lesiones macroscópicas de TB en un animal y obteniéndose aislamiento (Tabla 2). Los intentos realizados en obtener más aislamientos, utilizando la técnica de hisopados nasales sobre bovinos positivos a tuberculina, no produjeron resultados positivos. Los *M. bovis* aislados de estos establecimientos correspondieron al spo 21 para el establecimiento 2 (obtenido en frigorífico) y spo 98 para el establecimiento 5 (Tabla 2).

DISCUSIÓN

El aislamiento de *M. bovis* en fauna autóctona de Argentina está en relación con la capacidad de *M. bovis* de infectar a un amplio rango de hospedadores (Delahay et al., 2002; O'Reilly et al., 1995).

La infección en especies de carnívoros y omnívoros parece ocurrir como consecuencia de la presencia de la infección en bovinos u otros rumiantes (Bruning-Fann et al., 1998; Defra, 2011; Delahay et al., 2007; Renwick et al., 2006; Schmitt et al., 1997; Serrano et al., 1999; Witmer et al., 2010).

La prevalencia de infección por *M. bovis* del 9,4% detectada sobre el total de animales silvestres capturados es elevada, debiendo estar relacionada a los altos niveles de infección que presentaban los rodeos bovinos que cohabitaban con ellos. Infecciones elevadas (> 4 %) también fueron observadas en carnívoros y omnívoros en un área donde existe un huésped silvestre de mantenimiento como es el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Witmer et al., 2010) en el estado de Michigan, USA (Bruning-Fann et al., 1998).

La prevalencia de infección (12,7%) por *M. bovis* obtenida en comadrijas overas (*Didelphis albiventris*) fue superior a la descrita en comadrijas de Norteamérica (*Didelphis*

virginiana), las cuales adquieren la infección por consumo de despojos de ciervos de cola blanca (*O. virginianus*) y donde tampoco presentaron lesiones visibles o sospechosas de TB (Bruning-Fann et al., 1998; Witmer et al., 2010).

El aislamiento de *M. bovis* en animales silvestre sin lesiones visibles ha sido reportado tanto en especies consideradas como reservorios (Clifton-Hadley et al., 1993), como de hospedadores finales (Bruning-Fann et al., 1998; Delahay et al., 2007; Lugton et al., 1997). Esta falta de identificación de lesiones en animales silvestres infectados puede deberse a varios factores como ser la metodología utilizada en las necropsias y muestreos y los relacionados con la virulencia de la cepa de *M. bovis*, la resistencia natural del huésped, la especie y la edad del animal (Gavier-Widen et al., 2009).

El aislamiento de *M. bovis* en ratas (*Rattus norvegicus*) fue comunicado previamente en dos relevamientos de fauna silvestre, publicados en 1982 (Little et al., 1982) y en el 2002 (Delahay et al., 2002) correspondiente a las áreas endémicas del sur del Reino Unido como el Dorset y Gales, donde se informaron niveles bajos de infección del orden 2,2% y 1,2% respectivamente. Se considera a esta especie como muy resistente a la enfermedad ya que la inoculación experimental con dosis altas de *M. bovis* no produce desarrollo de lesiones (Delahay et al., 2002; Little et al., 1982). Esto hace de la rata un hospedador poco probable de transmitir la infección a otras ratas o especies de animales, siendo poco probable que ocurra la excreción de *M. bovis* (Little et al., 1982).

El hallazgo de la infección en uno de los dos zorros capturados es coincidente con otros trabajos del Reino Unido (Delahay et al., 2002; Delahay et al., 2007; Little et al., 1982) y USA (Bruning-Fann et al., 1998; Bruning-Fann et al., 2001) en los que también se obtuvo *M. bovis* de zorros. En estos casos los aislamientos de *M. bovis* se obtuvieron siempre a partir de linfonódulos como los faríngeos, mediastínicos, bronquiales y mesentéricos, los cuales en su mayoría eran sin lesiones visibles (Bruning-Fann et al., 2001; Delahay et al., 2002; Delahay et al., 2007; Little et al., 1982). La actividad de consumir carroña de estos animales, hace que la principal vía de ingreso de la infección sea la digestiva, al consumir despojos de los animales reservorios de TB presentes en su medio ambiente (Bruning-Fann et al., 2001; Delahay et al., 2007; Little et al., 1982; O'Brien et al., 2006; Witmer et al., 2010). La vía digestiva puede ser una vía de excreción de *M. bovis* en los zorros a pesar de no encontrarse lesiones macroscópicas en estos animales, esta incertidumbre en el desarrollo de lesiones indicaría que el riesgo de transmisión a los bovinos no parecía ser alto (Delahay et al., 2007). La baja cantidad de zorros obtenidos en el presente trabajo, se debió a las dificultades que la captura de esta especie presenta en la provincia de Santa Fe al no estar legalizada su caza, impidiendo de esta manera poder contar con ayuda de cazadores deportivos, lo cual hubiera permitido obtener mayor número de muestras, para determinar con mayor justeza el peso de la infección en la especie.

Los aislamientos obtenidos en comadrejas overas a partir de ganglios de la cabeza (4/7) y de pool de órganos como bazo, hígado y riñón (1/7), indicaría que la vía digestiva podría ser la principal vía por la cual las comadrejas adquieren la infección, estando en consonancia con su capacidad de alimentarse de carroña. La localización en pulmón de *M. bovis* (2/7) es otra de las vías probables de entrada de la bacteria en esta especie, requiriéndose un estrecho contacto entre comadreja y el animal infectado excretor. La comadreja es un animal nocturno que merodea las

instalaciones rurales en búsqueda de alimento, la interacción con bovinos puede darse en estos espacios o bien en la proximidad de su hábitat, que, para el caso de los rodeos lecheros seleccionados, fueron las estrechas arboledas y pajonales ubicados contiguos a los alambrados perimetrales de las pasturas. Otra posible explicación del aislamiento de *M. bovis* en pulmón de esta especie, puede deducirse de su comportamiento. Estos animales son principalmente solitarios y de carácter agresivo entre congéneres, siendo esta conducta bien pronunciada entre machos. Durante la época de apareamiento las hembras suelen ser agresivas con los machos, pero estos no responden la agresión¹⁹. Es probable que durante estos contactos ocurra la eliminación de aerosoles por parte de individuos afectados, trasladando de esta manera la infección a otro. En el presente trabajo las infecciones se detectaron mayoritariamente en machos, pero sin peso estadístico ($p=0,418$). Esta ruta de los aerosoles se mostró eficaz en infecciones experimentales en comadreas de Norteamérica (*D. virginiana*), lográndose el desarrollo de lesiones, particularmente en pulmones (Fitzgerald et al., 2003). Esta susceptibilidad al *M. bovis* de comadreas muy semejantes a las de América del Sur fue comprobada también por otras vías como la digestiva e intramuscular (Fitzgerald et al., 2003). La eliminación de *M. bovis* fue evaluada en materia fecal, resultando que muy pocos animales eliminaban la bacteria por esta vía, independientemente de la ruta y dosis utilizada para establecer la infección (Diegel et al., 2003; Fitzgerald et al., 2003).

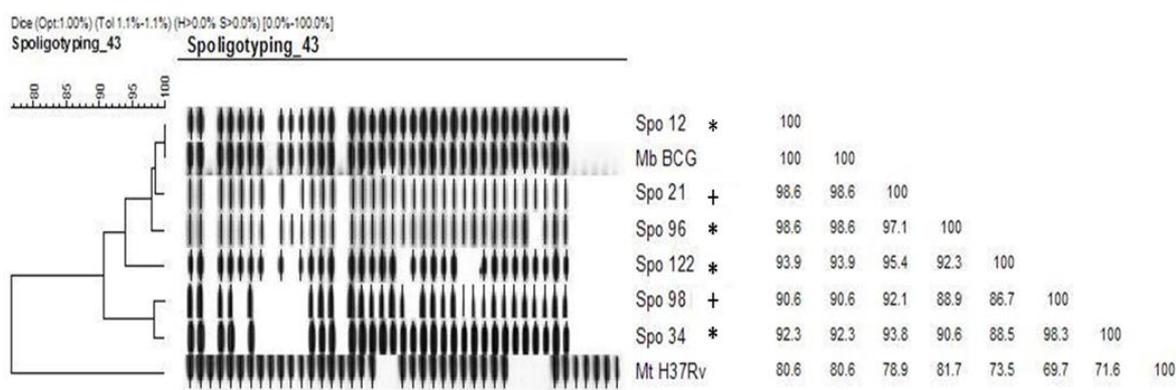
La no observación de lesiones visibles a pesar de los aislamientos en varios individuos de comadreas, haría suponer de una lenta evolución de la enfermedad cuando la infección ocurre naturalmente en la especie, sin afectar la condición corporal de los individuos. En forma similar la condición corporal como el comportamiento no pareció estar afectados en las comadreas originarias de Norteamérica que desarrollaron lesiones en las inoculaciones experimentales, aunque estos animales no sobrepasaron los 90 días post-inoculación ya que fueron sacrificados (Fitzgerald et al., 2003). Debido a la semejanza entre ambas comadreas *D. virginiana* y *D. albiventris*, ya que pertenecen al mismo género junto con otras especies más dentro del continente americano (Wilson & Reeder 2005), es de esperar una susceptibilidad similar de la comadreja sudamericana *D. albiventris* al *M. bovis*. En el estado de Michigan (USA) se considera a *D. virginiana* como un probable hospedador circunstancial o “spillover hosts” de *M. bovis* y que, si bien puede ser un potencial reservorio, no jugaría un rol mayor en la transmisión del organismo a los ciervos y bovinos (Diegel et al., 2002; Fitzgerald et al., 2003). Estos antecedentes también permitirían formular la hipótesis que la especie *D. albiventris* podría ser otro hospedador circunstancial o “spillover hosts” de *M. bovis*.

Los spo obtenidos en los dos aislamientos realizados de bovinos (21 y 98), no se correspondieron con los aislados en los animales silvestres. Esto es debido a las pocas oportunidades que se tuvo de realizar necropsias en los bovinos y obtener material para cultivo. El uso de hisopados nasales como método para obtener aislamientos de *M. bovis* a partir de bovinos vivos y positivos a la PT, no se mostró competente para tal fin por lo menos en este trabajo. Ambos spo han sido previamente detectados en aislamientos de bovinos en Argentina, siendo el spo 21 el segundo en frecuencia a nivel nacional (Zumárraga et al., 1999).

Los patrones de spo 34 (4/9) y 12 (3/9) de *M. bovis* obtenidos de seis ejemplares de comadreas y en la rata, también registran numerosas notificaciones de aislamiento en los bovinos

de Argentina, encabezando este ranking el spo 34 que agrupa al 45% de los mismos (Cataldi et al., 2002; Zumárraga et al., 1999; Zumárraga et al., 2005). En la provincia de Santa Fe, estos ocupan el primer y tercer lugar en frecuencia de aislamientos sobre bovinos (Zumárraga, comunicación personal). El spo 96 obtenido del zorro es el segundo aislamiento registrado en el país ya que el primero fue realizado sobre un puma en cautiverio (Traversa comunicación personal). Por otra parte, éste se diferencia del spo 12 por la ausencia de un sólo espaciador (el n° 35) estando ambos patrones relacionados en un 98,6% (Figura 2). Esto sería un posible indicador que el spo 12 habría sido el precursor del spo 96, originado mediante la pérdida del espaciador 35. Cabe destacar que según la teoría evolutiva de las micobacterias del Complejo *M. tuberculosis* propuesta por Brosch y col. (Brosch et al., 2002), la misma habría sido unidireccional en el sentido de pérdida de material genético en forma progresiva. En el mismo marco evolutivo, el spo 98 habría derivado del spo 34 por la pérdida del espaciador 23 (Figura 2).

Figura 2: Dendrograma y matriz de similitud que muestran la relación entre los spoligotipos de *M. bovis* aislados de los animales silvestres y de los bovinos y las cepas de referencia *M. bovis* BCG y *M. tuberculosis* H37Rv.



El spo 122 obtenido de una comadreja es un patrón único y exclusivo tanto de hospedador como de país (Argentina), no habiéndose detectado en otra especie o país, no estando registrado en la base de datos internacional <http://www.mbovis.org>. Este spo se diferencia del spo 21 por la ausencia de los espaciadores 22, 28 y 29 (Figura 2).

Esta correlación entre los spo circulantes en los bovinos de Argentina y los obtenidos en los animales silvestres objeto de captura, indica el pasaje de la infección de estos a las especies silvestres en una de las zonas lecheras más importantes de la Argentina.

CONCLUSIONES

Las especies autóctonas de comadreja overa, zorro gris y rata son susceptibles a adquirir la infección de *M. bovis*, cuando comparten hábitat con bovinos con alto nivel de infección. La presencia de spol de *M. bovis* en fauna silvestre detectados previamente en bovinos demuestra la transmisión desde el bovino hacia los otros hospedadores.

Debido a los aislamientos obtenidos en comadreja overa, puede considerarse a esta especie como probable hospedador circunstancial o “spillover hosts” de *M. bovis*. Sin embargo, la importancia que la infección hallada en esta especie silvestre pueda tener sobre los programas de control y erradicación de la TBb vigentes en esta región de Argentina, se conocerá cuando los niveles de infección de los rodeos bovinos decrezcan notoriamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdala AA, Tarabla HD, Bertero S, Torres P. 1999. Vigilancia Epidemiológica de la Tuberculosis Bovina en el Depto. Castellanos, Santa Fe. Rev Med Vet ;80:357-60.
- Abdala AA, Tarabla HD, Bertero S. 2002. Estimación de la prevalencia de tuberculosis bovina en rodeos lecheros del departamento Las Colonias, Santa Fe. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias. 1:13 –20.
- Bernardelli A, Zumárraga M, Alonso B, Cataldi A y Sanguinetti R. 2004. Tuberculosis en fauna salvaje [CD-ROM]. XIX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, resumen 409word00633. Buenos Aires, Argentina.
- Brosch R Gordon SV, Marmiesse M, Brodin P, Buchrieser C, Eiglmeier K, Garnier T, Gutierrez C, Hewinson G, Kremer K, Parsons LM, Pym AS, Samper S, van Soolingen D, and Cole ST. 2002. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. PNAS. 99:3684–89.
- Bruning-Fann C S, Schmitt S M, Fitzgerald S D, Payeur J B, Whipple, DL, Cooley TM, Carlson T, Friedrich P. 1998. *Mycobacterium bovis* in coyotes from Michigan. J Wildl Dis.34:632-36.
- Bruning-Fann CS, Schmitt SM, Fitzgerald SD, Fierke J S, Friedrich PD, Kaneene JB, Clarke KA, Butler KL, Payeur JB, Whipple D L, Cooley TM, Miller JM, Muzo DP. 2001. Bovine tuberculosis in free-ranging carnivores from Michigan. J Wildl Dis. 37:58-64.
- Cataldi AA, Gioffré A, Santángelo MP, Alito A, Caimi K, Bigi F, Romano MI, Zumárraga M. 2002. El genotipo de *Mycobacterium bovis* mayoritario en la Argentina lo es también en las Islas Británicas: ¿la tuberculosis bovina provino de Gran Bretaña?. Rev Argent Microbiol. 34:1-6.
- Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de experimentación del Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas del INTA (CICUAE INTA-CICVyA) [On line] <http://inta.gob.ar/documentos/cicuae-comite-institucional-para-el-cuidado-y-uso-de-animales-de-experimentacion>. Consultado julio de 2007.
- Clifton-Hadley R S, Wilesmith JW, Stuar FA. 1993. *Mycobacterium bovis* in the European badger (*Meles meles*): epidemiological findings in tuberculous badger from a naturally infected populations. Epidemiol Infect. 111:9-19.
- Clifton-Hadley RS, Wilesmith JW, Richards MS, Upon P & Johnston S. 1995. The occurrence of *Mycobacterium bovis* infection in cattle in and around an area subset to extensive badger (*Meles meles*) control. Epidemiol Infect. 114:179-93.
- Defra. Bovine TB: The Scientific Evidence. Final Report of the Independent Scientific Group on Cattle TB 2007. [On line] http://www.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/disease/atoz/tb/isgreport/final_report.pdf. Consultado enero de 2011.
- Delahay RJ, De Leeuw, ANS, Barlow AM, Clifton-Hadley RS and Cheeseman, CL. 2002. The status of *Mycobacterium bovis* infection in UK Wild mammals: A review. Vet J. 164:90-105.
- Delahay RJ, Smith GC, Barlow AM, Walker N, Harris A, Clifton-Hadley RS. Cheeseman CL. 2007. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: A survey prevalence and semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. Vet J;173: 287-301.
- de Lisle GW, Mackintosh CG, and Bengis RG. *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. Rev Sci Tech. 20:86-111.
- Diegel KL, Fitzgerald S D, Berry DE, Church SV, Reed WM, Sikarskie JG and Kaneene JB. 2002. Experimental inoculation of north American opossums (*Didelphis virginiana*) with *Mycobacterium bovis*. J Wildl Dis. 38:275-81.

- Fitzgerald SD, Zwick LS, Diegel KL, Berry DE, Church SV, Sikarskie JG, Kaneene JB and Reed WM. 2003. Experimental aerosol inoculation of *Mycobacterium bovis* in North American opossums (*Didelphis virginiana*). J Wildl Dis. 39:418-23.
- Gallagher J; Clifton-Hadley RS. 2000. Tuberculosis in badger; a review of the disease and its significance for other animals. Res Vet Sci 69:203-17.
- Gavier-Widen D, Cooke M, Gallagher J, Chambers MA and Gortázar C. 2009. A review of infection of wildlife host with *Mycobacterium bovis* and the diagnostic difficulties of the “no visible lesion” presentation. N Z Vet J. 57:122-31.
- Gordon C. (2004). *Didelphis albiventris*[On line], Animal DiversityWeb. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/didelphis_albiventris.html. Consultado el 22 septiembre de 2011
- Hermans PWM, van Soolingen D, Bik EM, De Hass PEW, Dale JW and van Embden JDA. 1991. Insertion element IS987 from *Mycobacterium bovis* BCG is located in a hot-spot integration region for insertion elements in *Mycobacterium tuberculosis* complex strain. Infect Immun 9:2695-705.
- Jorge MC, Alito A, Bernardelli A, Canal A, Cataldi A, Cicuta M, Gentile F, Kistermann J, Magnano G, Martinez Vivot M, Orinai S, Paolicchi F, Pérez A, Rictacco V, Romano M, Scheneider M y Torres P. editores. 2005. Manual de Diagnóstico de Micobactrias de Importancia en Medicina Veterinaria. Asociación Argentina de Veterinarios de Diagnóstico, 1º edición. S. Fe, Argentina, Imprenta Acosta Hnos, 132 pp.
- Kamerbeek J, Schouls L, Koll A, Van Agterveld M, Van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, Molhuizen H, Shaw R Goyal M, and Van Embden J. 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol. 35:907-14.
- Kantor I N, de la Vega E, Bernardelli A. 1984. Infección por *Mycobacterium bovis* en liebres en Provincia de Buenos Aires. Rev Med Vet. 65:268-70.
- Little T W A, Swan C, Thompson HV and Wilesmith J W. 1982. Bovine tuberculosis in domestic and wild mammals in an area of Dorset. III. The prevalence of tuberculosis in mammals other than badgers and cattle. J Hyg (Lond). 89:225-34.
- Lugton I W, Wobese G, Morris RS, Caley P. 1997. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in feral ferrets (*Mustela furo*) in New Zealand. Pathology and diagnosis. N Z Vet J. 45:140-50.
- Mills JN, Chils JE, Zsiazek, TG, Peters CJ. 1995. Methods for trapping and sampling small mammals for virologic testing. CDC, Atlanta, pp.7-32.
- Morris RS, Pfeiffer, DU, Jackson R. 1994. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. Vet Microbiol. 40:153-77.
- O'Brien DJ, Schmitt SM, Fitzgerald SD, Berry DE, Hickling GJ. 2006. Managing the wildlife reservoir of *Mycobacterium bovis*: The Michigan, USA, experience. Vet Microbiol. 112:313-23.
- O'Reilly LM, Daborn C. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. Tuber Lung Dis. 76:1-46.
- Perez AM, Ward MP, Torres P, Ritacco V. 2002. Use of spatial statistic and monitoring data to identify clustering of bovine tuberculosis in Argentina. Prev Vet Med. 56:63-74.
- Quse V, Falzoni E. y Fundación Temaikén. 2008. Patología en fauna silvestre - Manual y atlas. Ed. Vazquez Mazzini. Argentina; 63-68.
- Renwick AR, White PCL and Bengis RG. 2006. Bovine tuberculosis in southern African wildlife: a multi-species host-pathogen system. Epidemiol Infect. 135: 529-40.
- Ryan TJ, Livingstone PG, Ramsey DS, De Lisle GW, Nugent G, Collins DM, Buddle BM. 2006. Advances in understanding disease epidemiology and implications for control and eradication of tuberculosis in livestock: The experience from New Zealand. Vet Microbiol. 112:211-19.
- Schmitt SM, Fitzgerald SD, Cooley TM, Bruning-Fann CS, Sullivan L, Berry D, Carlson T, Minnis RB, Payeur JB, Sikarskie J. 1997. Bovine tuberculosis in free-ranging white-tailed deer from Michigan. J Wildl Dis. 34:749-58.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y calidad Agroalimentaria) Plan Nacional de Control y erradicación de la Tuberculosis Bovina. Res. N° 115/99. Mimeo. 1999;62.

- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y calidad Agroalimentaria). Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la República Argentina. Res. N° 128/2012. [On line] www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1526&io=20050 Consultado diciembre de 2012.
- Serraino A, Marchetti G, Sanguinetti V, Rossi MV, Zanoni RG, Catozzi L, Bandera A, Dini W, Mignone W, Franzetti F and Gori A. 1999. Monitoring of transmission of tuberculosis between wild boars and cattle: genotypical analysis of strains by molecular epidemiology techniques. *J Clin Microbiol.*37:2766-771.
- Wilson DE & Reeder DM. 2005. Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference (3rd ed.), Johns Hopkins University Press. [On line] <http://www.press.jhu.edu>. Consultado septiembre de 2011.
- Witmer G, Fine AE, Gionfriddo J, Pipas M, Shively K, Piccolo K and Burke P.2010. Epizootiologic survey of *Mycobacterium bovis* in wildlife and farm environments in northern Michigan. *J Wildl Dis.*37:58-64.
- Zumárraga M, Martin C, Samper S, Alito A, Latini O, Bigi F, Roxo E, Cicuta ME, Errico F, Castro Ramos M, Cataldi A, van Soolingen D and Romano MI. 1999. Usefulness of spoligotyping in molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis*-related infections in South América. *J Clin Microbio* 137:296-303.
- ZumarragaMJ, Meikle V, Bernardelli A, Abdala A, Tarabla H, Romano MI, Cataldi A. 1999. Use of touch-down polymerase chain reaction to enhance the sensitivity of *Mycobacterium bovis* detection. *J Vet Diagn Invest.*17: 232-38.

AGRADECIMIENTOS

A Roxana Galarza, Miguel Marin, Oscar Warnke, Santiago Nava, Mario Argañaraz y Ariel Risso por su valiosa colaboración en las tareas de campo. A Marcelo Signorini por su colaboración en el análisis estadístico. A los compañeros del Área de Recursos Naturales y Suelos de la EEA INTA Rafaela. A los colegas veterinarios Adalberto Racca, Juan M. Feroglio, Elvio Ballari, Julio Rho y Rubén Morra por su estimada ayuda en la selección de los rodeos y a los productores y su personal que colaboraron y permitieron los muestreos en sus campos.

Financiación

Proyecto Específico AESA - 202831 “Tuberculosis” Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.



NUTRICIÓN

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN LECHEROS CONFINADOS VS. PASTORILES

¹BRETSCHNEIDER, G.; ²SALADO, E.E. *

¹INTA Balcarce, AER Necochea, Necochea, Buenos Aires

²INTA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina, Ruta 34, km 227

*Autor de contacto: bretschneider_g@inta.gob.ar

En un análisis de la evolución histórica de la rentabilidad de los sistemas agropecuarios en el sur de Santa Fe, Ramírez y col. (2007) concluyeron que el sostenimiento de los sistemas agropecuarios depende de la diversificación productiva, la cual mediante sistemas mixtos de alta productividad permite aprovechar las oportunidades futuras que presenten los mercados. Por lo tanto, la implementación de planteos agrícola-ganaderos requerirá de la intensificación de los tambos, que mediante un mejor uso de los recursos disponibles (suelo, pasturas, animales, personal) permitiría hacer frente a la incertidumbre económica generada por la volatilidad de los mercados y/o por las políticas nacionales a la exportación.

Por esta razón y aunque la información local acerca de los sistemas estabulados es escasa, el confinamiento de las vacas lecheras en nuestro país está recibiendo actualmente particular atención. Paradójicamente, en Estados Unidos (EUA), donde los sistemas estabulados basados en el uso de raciones totalmente mezcladas (TMR, por sus siglas en inglés) son muy populares, la utilización del pastoreo en la alimentación del ganado lechero ha sido fuertemente considerada en los últimos años. La razón de este fenómeno está esencialmente asociada a la necesidad que tienen los productores estadounidenses de reducir los costos de producción, principalmente del alimento y de la mano de obra, los cuales representan, en conjunto, más del 50 % de los mismos. Sobre este aspecto, se mostró con un alto grado de asociación, que el costo de producir un litro de leche se incrementa significativamente a medida que disminuye la proporción de pastura en la dieta y que, además, los sistemas confinados demandan más mano de obra que los sistemas pastoriles. Es por esto que en EUA el pastoreo rotativo es un sistema de alimentación atractivo para muchos productores que buscan reducir los costos fijos de producción para poder mantenerse en el negocio.

Actualmente, algunos investigadores sostienen que la intensificación extrema mediante el uso de TMR, llevaría no sólo a la pérdida de las ventajas competitivas que tiene el pasto para producir leche a un bajo costo sino que también produciría el alejamiento de los potenciales mercados diferenciados que buscan leche y/o productos lácteos de vacas alimentadas sobre pasturas por su mayor contenido de ácido linoleico conjugado (Dillon y col., 2008), el cual es considerado un potente anticancerígeno.

Es de destacar que las vacas lecheras de alto mérito genético no pueden alcanzar su máximo potencial de producción únicamente en base al consumo de pasto (Kolver y Muller, 1998). Por lo tanto, las mismas requieren del suministro diario de concentrado energético para cubrir la demanda nutricional debida a la producción de leche. Estudios para determinar el nivel óptimo de concentrado energético en la dieta que permita maximizar la producción de leche sin afectar el funcionamiento ruminal de las vacas lecheras que pastorean praderas de alfalfa de alta calidad,

fueron realizados durante la primavera del año 2008 y 2009 en el tambo experimental de INTA Rafaela. Los resultados preliminares indican que el umbral de suplementación que maximiza la producción de leche, sin afectar la salud del rodeo, es de 7 Kg de balanceado con una proporción de 70% de maíz. Debido a que por encima de un determinado nivel de suplementación la respuesta productiva por cada unidad adicional de suplemento es menor (García y Fulkerson, 2005), niveles muy altos de suplementación podrían no resultar en una mayor rentabilidad. De esta manera, los estudios realizados buscaron optimizar no sólo el uso de recursos sino también la eficiencia del sistema.

Para muchos productores estadounidenses la decisión de adoptar el sistema pastoril está también influenciada por otras ventajas, entre las cuales se incluyen:

- La mejor salud del rodeo: la exposición al piso de concreto durante el confinamiento incrementa los problemas de locomoción del ganado lechero. En general, el pastoreo es reconocido como un sistema más favorable para la salud de las patas y pezuñas del rodeo. Por otro lado, los sistemas pastoriles presentan menor incidencia de mastitis (24,2%) que los sistemas confinados (42,8%) (Washburn y col., 2002). Consecuentemente, las pérdidas de vacas por descarte y muerte debido a mastitis se incrementan con el confinamiento.
- El menor capital requerido: la decisión estratégica es aquella que enmarca una explotación agropecuaria dentro un sistema de producción definido. Por lo tanto, este tipo de decisión requiere un alto grado de reflexión y juicio por parte de quienes deciden el destino de un negocio. En comparación con el sistema pastoril, un tambo estabulado requiere una gran inversión de capital (instalaciones, maquinarias, sistema de manejo de efluentes, etc.) que podría convertirse en capital perdido si el negocio no funciona y la capital tierra es vendido.
- El beneficio sobre la calidad de vida: el confinamiento requiere de tareas extras como, por ejemplo, limpieza y mantenimiento de las instalaciones para estabulación, recolección y manejo de la bosta de los corrales, preparación y suministro de dos TMR por día, etc. De esta manera, muchos productores ven al tambo estabulado como un sistema con alta demanda de horas-hombre que reduce el tiempo libre para descanso y recreación que hacen a la calidad de vida.

Otro sistema de alimentación, que también incluye el uso de pasturas, es la combinación de la TMR y el pastoreo, lo cual se conoce como raciones parcialmente mezcladas (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura no es una parte física de la TMR. Este sistema de alimentación semi-confinado, permite que aquellos productores que apostaron por el sistema totalmente estabulado abaraten el costo de la dieta y mejoren la salud del rodeo. Actualmente, en INTA Rafaela, los autores de este artículo están evaluando esta alternativa de alimentación.

La información disponible hasta la fecha sobre el impacto del confinamiento del ganado lechero alimentado con TMR, en relación a otros sistemas de alimentación, sobre la producción de leche (Kg/día), el consumo de materia seca (CMS, Kg MS/vaca/día) y la eficiencia de conversión (EC, Kg Leche/Kg CMS) se resume en la Figura 1.

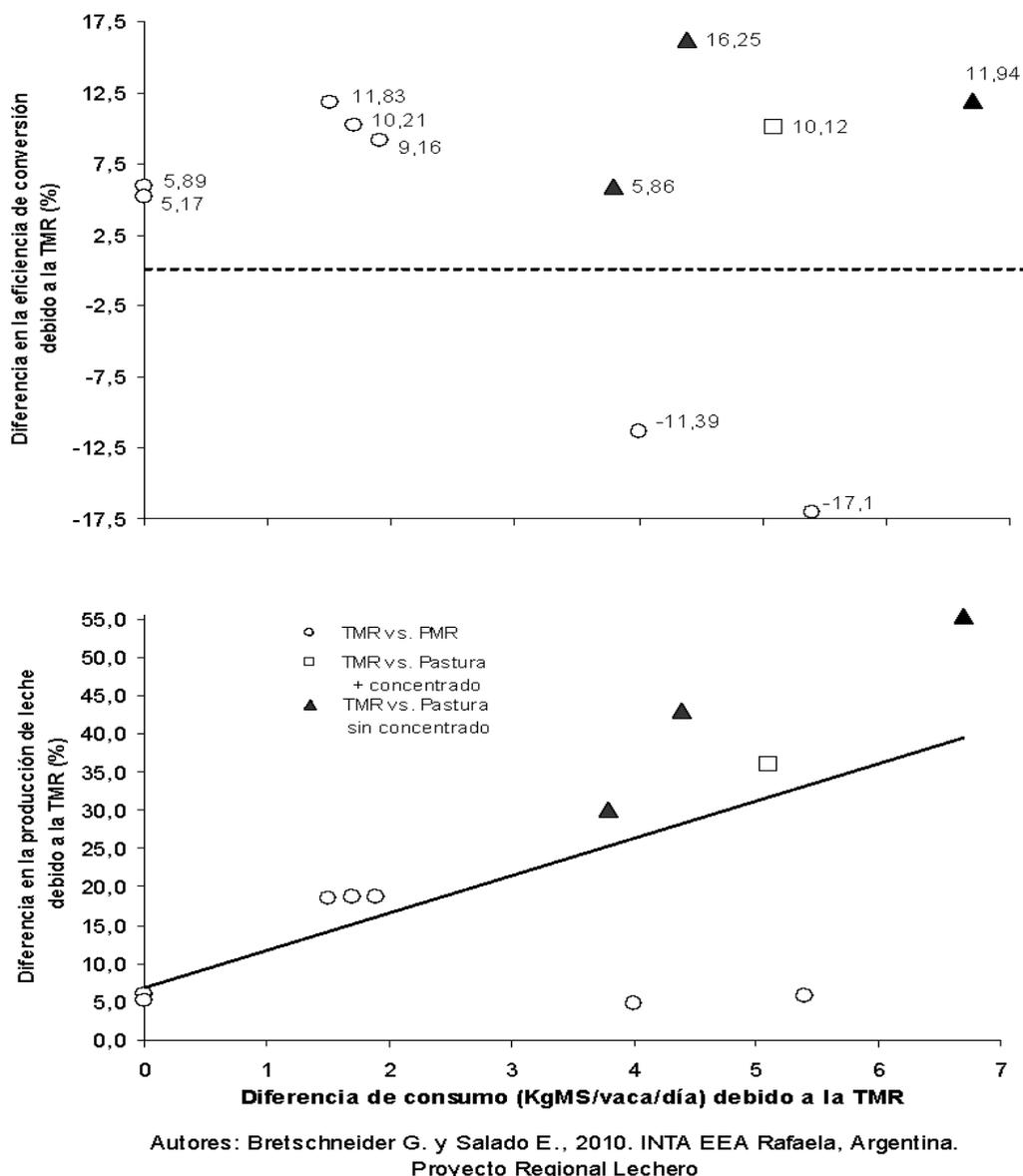


Figura 1. Efecto de la ración totalmente mezclada (TMR) sobre el consumo de materia seca (CMS, Kg MS/vaca/día), la producción de leche (Kg/día) y la eficiencia de conversión (EC, Kg Leche/Kg CMS). Las respuestas sobre las variables productivas fueron evaluadas a partir de las siguientes comparaciones: TMR vs. PMR (ración parcialmente mezclada, ○), TMR vs. Pastoreo suplementado con concentrado energético (□) y TMR vs. Pastoreo sin suplementación energética (▲). Las diferencias porcentuales para la producción de leche y EC fueron obtenidas como sigue: $[(\text{TMR} - \text{dieta } x) / \text{dieta } x] \times 100$.

En la Figura 1 se muestra que, en comparación a otros sistemas de alimentación, las vacas lecheras confinadas y alimentadas con TMR incrementaron la producción de leche en un rango del 5 al 55%. En términos generales, este incremento se asoció a un aumento del CMS. En comparación a este último sistema de alimentación, el CMS fue menor (- 3,8 Kg a - 6,7 Kg) para las vacas alimentadas en sistemas pastoriles con o sin suplementación energética, e igual o menor (- 1,5 Kg a

- 5,4 Kg) para los animales en sistemas semi-confinados alimentados con PMR. En general, y en relación a los otros sistemas de alimentación revisados en este trabajo, las TMR mejoraron la EC en un rango de 5,17% a 16,25%. Sin embargo, también se registraron disminuciones en la EC de hasta 17,1% para las vacas alimentadas con TMR con respecto a aquellas alimentadas con PMR. Dentro de cada grupo de comparaciones, se detectó una amplia variación en la respuesta a las TMR. Este fenómeno podría estar relacionado al potencial productivo de las vacas utilizadas (mérito genético), es decir a la capacidad de derivar los nutrientes consumidos principalmente a la producción de leche en lugar de destinarlos a reservas corporales, y/o a la diferente respuesta del animal a una dieta determinada (interacción genotipo-ambiente). En este sentido, se demostró que en condiciones de pastoreo, las vacas Holando Neocelandés (HN) tuvieron una mayor EC (3,4%) que la contraparte Americana (HA), mientras que en condiciones de confinamiento y alimentadas con TMR, las vacas HA fueron más eficientes (2,3%) que las vacas HN (Kolver y col., 2002).

Con respecto a este último punto, investigadores australianos (Fulkerson y col., 2008) realizaron un estudio de sistemas de 5 años de duración comparando la productividad de vacas de alto (59 a 63 % de genes americanos) y bajo (17 a 20 % de genes americanos) mérito genético para producción de leche en un sistema predominantemente pastoril, suplementadas con tres niveles de concentrado y encontraron una interacción genotipo-ambiente (nivel de concentrado) significativa. Así, la respuesta de las vacas, en términos de producción de leche, grasa y proteína al nivel de concentrado aumentó y el comportamiento reproductivo disminuyó con el incremento del mérito genético. Estos resultados coinciden con los publicados por investigadores irlandeses (Dillon y col., 2006) en una revisión bibliográfica sobre las consecuencias de la selección por mayor nivel de producción en sistemas lecheros basados en pasturas, abarcando un período de 14 años (1990-2003). Los autores sostienen que este criterio de selección, el cual está generalmente acompañado con un incremento de la proporción de genes Holstein Americano, está asociado con mayores niveles de producción individual, menores notas de condición corporal, mayores respuestas a la suplementación con concentrados y reducidos índices de fertilidad y supervivencia. Estas conclusiones concuerdan con las de Kadarmideen (2004), quien estimó los parámetros genéticos y fenotípicos para nota de condición corporal (CC), días a primer servicio, tasa de no retorno, recuento de células somáticas (CCS), producción de leche (305 días), grasa y proteína, utilizando 8930 registros de lactancias de vacas (hijas de 243 toros diferentes) en 1830 rodeos pertenecientes a la Asociación Holstein de Suiza y observó una correlación genética antagónica entre producción de leche vs. fertilidad, nota de CC y CCS, lo cual demuestra que la selección por producción solamente llevaría a una disminución del mérito genético para estos caracteres funcionales.

Finalmente, los investigadores australianos e irlandeses concluyen que la existencia de interacciones genotipo-ambiente sugiere que el germoplasma seleccionado en el futuro debería testearse dentro del sistema de producción en el cual será utilizado y que de continuar incorporando genética americana, los productores deberán aumentar los niveles de suplementación con concentrados y/o abandonar el servicio estacionado, lo cual redundaría en incrementos de los costos de producción de leche.

En consecuencia, de lo discutido en el párrafo precedente, surge la siguiente reflexión: ¿En Argentina, qué camino deberíamos seguir: ¿modificar los sistemas de producción, adaptándolos al

creciente potencial genético-productivo de las vacas (por la importación de semen Holstein Americano) o buscar la genética ajustada a nuestros sistemas productivos? Según el Dr. Hector Molinuevo, este último sería “un desafío razonable con altas posibilidades de éxito” (Molinuevo, 2001).

Según White y col. (2002) si bien la producción de leche obtenida bajo pastoreo y con suplementación energética es significativamente menor que la producción de vacas confinadas y alimentadas con una dieta TMR, existen variables que hacen al sistema pastoril económicamente competitivo. Estas variables incluyen el menor costo de la dieta base pastura (31%), la menor incidencia de mastitis y la reducción en la mano de obra e instalaciones requeridas (por ejemplo; para el manejo y tratamiento de los efluentes). Es decir, los menores costos de producción asociados al pastoreo son más que suficientes para compensar la menor producción de leche y mantener o mejorar la rentabilidad con respecto al sistema confinado basado en TMR. A partir de un análisis de sensibilidad también se demostró que en escenarios de bajo precio de la leche y de alto costo del alimento (situaciones no poco frecuentes), incrementos en la producción de leche de hasta un 36% en vacas de alta producción (45 L/día) confinadas y alimentadas con TMR, no fueron suficientes para revertir la mejor rentabilidad a favor del sistema pastoril (Tozer, y col., 2003).

Es importante aclarar que en estos análisis no se tiene en cuenta la posibilidad de liberar superficie para la agricultura que brindarían los sistemas estabulados. Al respecto la información es escasa. Resultados preliminares de una experiencia llevada a cabo en el país (Totoras, Sta. Fe), indican que este valor rondaría el 25%.

Finalmente, de la información presentada surge la pregunta: ¿Qué sistema de producción garantiza la sustentabilidad a los pequeños y medianos productores y los ayuda a mantenerse en el negocio a través del tiempo? Si la respuesta es un sistema de producción “minimalista”, es decir, un sistema que optimice la respuesta animal con la mínima inversión posible, entonces el pastoreo no puede quedar de lado.

BIBLIOGRAFÍA

- Dillon, P., D.P. Berry, R.D. Evans, F. Buckley y B. Horan. 2006. Consequences of genetic selection for increased milk production in European seasonal pasture based systems of milk production. *Livestock Science* 99: 141-158.
- Dillon, P., T. Hennessy, L. Shalloo, F. Thorne, y B. Horan. 2008. Future outlook for the Irish dairy industry: A study of international competitiveness, influence of international trade reform and requirement for change: Review. *Int. J. Dairy Technol.* 61:16-29.
- Fulkerson, W.J., T.M. Davison, S.C. Garcia, G. Hough, M.E. Goddard, R. Dobos y M. Blockey. 2008. Holstein-Friesian Dairy Cows Under a Predominantly Grazing System: Interaction Between Genotype and Environment. *J. Dairy Sci.* 91: 826-839.
- García, S.C. y W.J. Fulkerson. 2005. Opportunities for future Australian dairy systems: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 45: 1041-1055.
- H.N. Kadarmideen. 2004. Genetic correlations among body condition score, somatic cell score, milk production, fertility and conformation traits in dairy cows. *Animal Science*, 79:191-201.
- H.A. Molinuevo, 2001. ¿Por qué no, una genética adaptada al sistema de producción de leche en pastoreo?. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce-INTA. <http://www.elsitioagricola.com/gacetillas/balcarce/bl20020103/GeneticaAdaptada.asp> (13/06/2011).

- Ramírez, L. M., S. B. Zuliani, J. C. Porstmann, y G. I. López (Ex Aequo). 2007. Evolución histórica de la rentabilidad de la agricultura y el tambo en el sur de Santa Fe. Periodos 1993-94 a 2004-05. *Rev. Invest. Fac. C. Agra.* N° 11. 12: 23-34.
- P.R. Tozer, F. Bargo y L.D. Muller. Economic analyses of feeding systems combining pasture and total mixed ration. 2003. *J. Dairy Sci.* 86: 808-818.
- Washburn, S.P., S.L. White, J.T. Green, Jr. y G.A. Benson. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85:105–111.
- S.L. White, G.A. Benson, S.P. Washburn y J.T. Green, Jr. 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 85:95–104.

SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN COMBINANDO PASTURA Y RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA: RESPUESTA PRODUCTIVA Y COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE VACAS LECHERAS

^{1*}SALADO, E.E.; ¹MACIEL, M.G.; ²BRETSCHNEIDER, G.; ¹CUATRIN, A.; ¹CASTIGNANI, H.

¹ INTA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina, Ruta 34, km 227

² INTA Balcarce, AER Necochea, Necochea, Buenos Aires

*Autor de contacto: salado.elay@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La competencia de la agricultura por el uso de la tierra y su consecuente aumento de valor ha generado interrogantes sobre la continuidad de los sistemas ganaderos con alternativas de dedicarse a la actividad agrícola, convertirse a sistemas mixtos o implementar estrategias que permitan aumentar la producción y ser más eficientes en el uso de la tierra. Este contexto genera una demanda creciente de información sobre sistemas de alimentación intensificados, que incluyan estrategias de confinamiento parcial o completo en reemplazo del pastoreo.

Los sistemas de producción de leche tienden a la intensificación con distintas variantes. Una de ellas consiste en la estabulación completa y el reemplazo total del pastoreo por raciones equilibradas llamadas raciones totalmente mezcladas (TMR, por sus siglas en inglés). Entre las principales ventajas atribuidas a este sistema de alimentación se destacan la de permitir la expresión del potencial de producción de leche en vacas de alto mérito genético, pero como contrapartida, los costos de producción suelen ser altos, principalmente de alimentación y mano de obra, los cuales representan en conjunto más del 50% de los mismos (Short, 2004). Otra alternativa a la intensificación es la combinación de TMR y pastoreo, lo cual se conoce como raciones parcialmente mezcladas (PMR, por sus siglas en inglés) debido a que la pastura no es una parte física dentro de las TMR. Este sistema de alimentación semi-confinado podría ser una alternativa útil para los productores lecheros que evalúan la transición hacia la adopción de sistemas confinados. El uso de la pastura como parte de la dieta reduciría los costos de las TMR y mejoraría la salud (problemas podales y mastitis) del rodeo (Soriano et al., 2001).

Estudios conducidos en EEUU comparando sistemas confinados vs. pastoriles (con o sin suplementación) mostraron consistentemente reducciones en el consumo de materia seca (MS), en la producción de leche, en el peso vivo (PV) y en la condición corporal (CC) para los sistemas basados en pasturas (Vibart y col., 2012), sin efectos significativos sobre la eficiencia reproductiva (Washburn y col., 2002). Sin embargo, la mayoría han sido de corta duración. Pocos estudios comparativos de largo plazo o de lactancia completa han sido conducidos en el extranjero (White y col., 2002; Fontaneli y col., 2005) y ninguno en el país.

En el presente artículo se presentan resultados obtenidos a partir de un ensayo realizado en el tambo experimental de la EEA Rafaela del INTA, cuyo objetivo fue evaluar los efectos de dos sistemas de alimentación (confinado vs. pastoril con suplementación) sobre la respuesta productiva y el desempeño reproductivo de vacas lecheras en un ensayo de larga duración. Adicionalmente, se evaluó la viabilidad económica de los 2 sistemas utilizando indicadores simples.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 50 vacas Holando Argentino de parición otoñal ($34,3 \pm 4,4$ kg leche, $586,6 \pm 59,4$ kg PV y $52,6 \pm 16,4$ días de lactancia al inicio) en un ensayo de 27 semanas. Todas las vacas fueron equipadas con transpondedores en el cuello que servían para registrar la producción diaria de leche y asignar concentrado de manera individual en la sala de ordeño (ALPRO versión 6.60/ DeLaval, Tumba, Suecia).

Durante las 3 semanas previas al inicio del ensayo (covariable), las vacas recibieron la dieta control (100% TMR) y luego fueron asignadas aleatoriamente en partes iguales a uno de 2 tratamientos (sistemas de alimentación) en 10 grupos (corrales) de 5 animales cada uno (5 grupos/tratamiento): Sistema confinado: 100% TMR sin acceso a pastura (TMR_100) y Sistema pastoril con suplementación: 75% TMR + 25% verdeo de avena (Av) durante otoño-invierno (PMR_75) y pastura de alfalfa (Al) + concentrado ($7,0 \text{ kg cab}^{-1} \text{ día}^{-1}$) durante la primavera (P+C). El Sistema pastoril con suplementación se definió en base a los resultados de ensayos previos realizados por el grupo de trabajo, cuyo objetivo fue generar estrategias de suplementación para sistemas pastoriles mejorados ajustadas por tipo de suplemento (concentrado o TMR) según época del año (primavera u otoño-invierno) a fines de mejorar la respuesta productiva del rodeo (Salado y col., 2011a; Salado y col., 2011b; Salado y col., 2012a; Salado y col., 2012b).

Para la formulación de la TMR se utilizó el programa NRC *dairy cattle* (2001) tomando como modelo una vaca de 600 kg de peso vivo que produce 40 kg de leche con una concentración de 35 g/kg de grasa y 116 g/kg de sólidos totales y que no gana ni pierde peso. Para el suministro de la TMR las vacas se alojaron en un *drylot* de 48 m de frente x 70 m de largo, dividido en 10 corrales de igual superficie. La ración fue distribuida en dos ofertas diarias a las 6 am y 4 pm: 50%/50% y 80%/20%, para TMR_100 y PMR_75, respectivamente. Las vacas del grupo PMR_75 permanecieron en los corrales de alimentación hasta que finalizaron el consumo de la cantidad preestablecida de TMR (12 h/día) y luego fueron conducidas a la parcela de pastoreo. Se empleó un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias con una asignación de pastura (Av y Al) no limitante del consumo. El remanente de pastura dejado por el “rodeo ensayo” fue aprovechado con otro rodeo. La ración del grupo TMR_100 fue ajustada en función de los requerimientos al comienzo de la segunda mitad de la lactancia.

La TMR de otoño-invierno (51,1% MS, 17,7% proteína bruta - PB, 35,4% fibra detergente neutro - FDN y 70,3% digestibilidad *in vitro* de la MS - DIVMS) estuvo compuesta (% MS) por silaje de maíz planta entera (37,1%), concentrado peletizado (19,2%), grano de maíz molido (5,3%), pellet de soja (9,7%), semilla de algodón (6,7%), poroto de soja (8,1%) y heno de alfalfa (14,0%). La TMR de primavera (49,4% MS, 16,4% PB, 37,8% FDN y 71,5% DIVMS) estuvo compuesta (% MS) por silaje de maíz planta entera (42,6%), concentrado peletizado (16,1%), grano de maíz molido (6,0%), pellet de soja (8,8%), semilla de algodón (5,2%), poroto de soja (2,6%) y heno de alfalfa (18,7%). La mitad del concentrado (90,0% MS, 18,3% PB, 18,4% FDN y 88,5% DIVMS) ofrecido a cada tratamiento se suministró con la TMR y la mitad restante en la sala de ordeño. La composición química de Av y Al (promedio \pm desvío estándar) fue $19,6 \pm 1,6\%$ y $22,4 \pm 1,5\%$ MS, $22,0 \pm 2,6\%$ y $26,8 \pm 2,8\%$ PB, $50,7 \pm 5,3\%$ y $40,6 \pm 4,2\%$ FDN, $82,7 \pm 1,8\%$ y $76,0 \pm 3,5\%$ DIVMS, respectivamente.

Semanalmente se estimó la disponibilidad forrajera (kg MS ha^{-1}) por el método de corte con tijera manual a ras del suelo, cortando una superficie total de 1 m^2 en cada muestreo (sobre la base de esta estimación se fijó el área de las franjas diarias según la asignación establecida) y se tomaron muestras representativas de la TMR, de los ingredientes que la componen, del concentrado experimental y de la pastura. Estas últimas se obtuvieron en el horizonte de pastoreo en forma manual simulando la selectividad de la vaca (*hand-plucking*) (Meijs y col., 1982). La producción de leche fue medida en forma individual y diaria durante todo el período experimental. La composición de la leche se evaluó a partir de muestras individuales tomadas quincenalmente. Se tomaron dos submuestras de leche a cada vaca en ordeños consecutivos (mañana y tarde), confeccionando luego una muestra única individual ponderada por la producción respectiva. Cada 3 semanas, luego del ordeño de la mañana, se registraron el PV y la CC usando una escala de 5 puntos (1= excesivamente flaca y 5= excesivamente gorda) con incrementos de 0,25 (Wildman y col., 1982) y se obtuvieron muestras de sangre por punción de vena coccígea. Se realizaron 4 determinaciones de consumo de MS total por repetición (Julio, Agosto, Septiembre y Octubre), según metodología descrita por Gallardo y col. (2005). El rodeoexperimental fue inseminado a tiempo fijo al inicio de la temporada de servicio (Mayo-Julio) y posteriormente, en el retorno, con detección de celo. El diagnóstico de gestación se realizó a través de ultrasonografía transrectal a los 30 y 60 días de comenzado el servicio.

Las variables cuantitativas se analizaron según un modelo con observaciones repetidas en el tiempo ajustado por covariable, considerando 2 períodos: otoño-invierno (Período I) y primavera (Período II), usando al animal como unidad experimental (proc. MIXED de SAS, 1999). Los datos de consumo de MS fueron sometidos a ANOVA para 2 tratamientos con 5 repeticiones. Las variables cualitativas se analizaron mediante diferencia de proporciones (InfoStat, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Tabla 1 se observa que la mayoría de las variables de producción y composición de leche analizadas resultaron significativamente mayores en TMR_100 para los dos períodos, excepto el tenor de grasa durante el Período I que resultó similar entre tratamientos. A su vez, el consumo de MS (CMS) total resultó significativamente mayor en TMR_100, mientras que la eficiencia de conversión (EC, $\text{kg Leche kg MS}^{-1}$) resultó similar entre tratamientos para el Período I y mayor en P+C para el Período II.

Tabla 1. Producción y composición de leche, consumo de MS y eficiencia de conversión según períodos y tratamientos.

Variable	Período I		Probabilidad Tratamiento ¹	Período II		Probabilidad Tratamiento ¹
	TMR_100	PMR_75		TMR_100	P+C	
Leche, kg día ⁻¹	33,7	32,3	***	28,8	27,8	***
LGC4%, kg día ⁻¹	33,4	31,6	***	28,3	25,1	***
Grasa, kg día ⁻¹	1,33	1,24	**	1,10	0,92	***
Grasa, %	3,95	3,84	NS	3,87	3,30	***
Proteína, kg día ⁻¹	1,19	1,13	**	0,99	0,93	***
Proteína, %	3,53	3,47	**	3,42	3,31	***
Lactosa, %	5,04	4,99	***	4,95	4,88	***
CMS total, kg día ⁻¹	26,8	25,6	***	24,5	22,1	***
EC						
kg Leche kg MS ⁻¹	1,26	1,27	NS	1,18	1,26	**
Kg LGC4% kg MS ⁻¹	1,24	1,24	NS	1,15	1,14	NS

¹Efecto tratamiento: *** (altamente significativo, $p \leq 0,01$), ** (significativo, $0,01 \leq p \leq 0,05$) y NS (no significativo, $p > 0,1$). LGC4%= leche grasa corregida al 4%. EC= eficiencia de conversión.

Estos resultados sugieren que los efectos favorables del sistema confinado (TMR_100) sobre la producción de leche estarían asociados a un mayor CMS. En este sentido, Kolver (2003) indicó que en vacas de alto mérito genético el 61% de la diferencia en producción entre un sistema puramente pastoril y uno confinado con suministro de TMR se explicaría por el mayor CMS de la TMR, mientras que la caminata y actividad de pastoreo y la eliminación de urea explicarían sólo el 24% y el 12%, respectivamente. En línea con lo expresado, a partir de una revisión bibliográfica, se demostró que a medida que aumenta la complejidad del sistema de alimentación (pastoreo + concentrado energético < semi-confinado [pastoreo + TMR] < confinado [TMR]) aumenta la producción de leche a expensas de un mayor CMS. Como consecuencia, la EC es pobremente modificada. Con respecto a los otros dos sistemas de alimentación revisados en el mencionado trabajo, el sistema confinado [TMR] mejoró la EC en un rango del 5 al 16%. Sin embargo, también se registraron disminuciones en la EC de hasta 17% en el sistema confinado [TMR] con respecto al semi-confinado [pastoreo + TMR]. Esta información está disponible en la Cartilla técnica N°8 (2010) de la EEA Rafaela (http://www.inta.gov.ar/lecheria/fichas/ficha_8.pdf).

El tratamiento TMR_100 incrementó la Δ PV y CC (Tabla 2), sin efectos significativos sobre los niveles circulantes de AGNE (parámetro indicador de lipomovilización). La pérdida de PV de las vacas del tratamiento P+C durante el Período II, estaría indicando movilización endógena de energía para sostener la producción de leche y contribuiría a explicar la mayor EC (kg Leche kg MS⁻¹) observada en este tratamiento.

Tabla 2: Variación (Δ) PV, CC y metabolitos plasmáticos según períodos y tratamientos.

Variable	Período I		Probabilidad Tratamiento ¹	Período II		Probabilidad Tratamiento ¹
	TMR_100	PMR_75		TMR_100	P+C	
Δ PV (kg/día)	0,694	0,336	***	0,437	-0,014	***
Δ CC	0,07	0,03	NS	0,11	0,05	***
AGNE(μ Eq l ⁻¹)	159,1	168,8	NS	125,5	140,1	NS

¹Efecto tratamiento: *** (altamente significativo, $p > 0,01$), ** (significativo, $0,01 > p > 0,05$) y NS (no significativo, $p > 0,1$). AGNE= ácidos grasos no esterificados.

A pesar de los efectos positivos del sistema confinado sobre la ganancia de PV y CC, los indicadores reproductivos evaluados resultaron similares entre tratamientos (Figura 1).

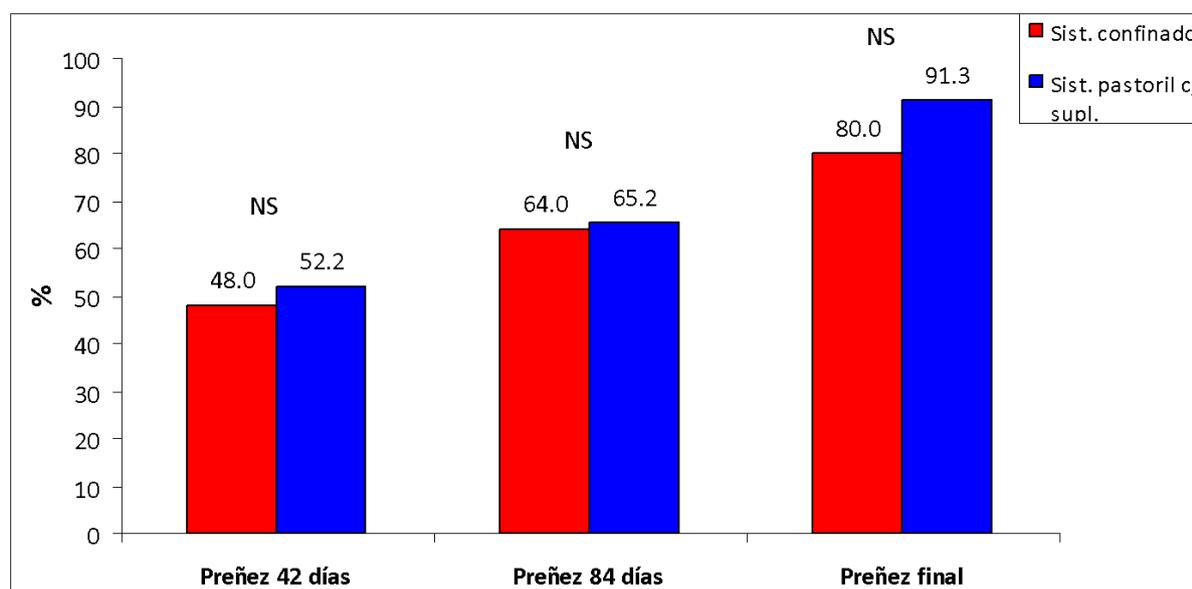


Figura 1: Desempeño reproductivo según tratamientos. NS: efecto tratamiento no significativo ($p > 0,1$).

Estos resultados coinciden con los de Washburn y col. (2002), quienes evaluaron los efectos de dos sistemas de alimentación (pastoril con suplementación vs. confinado) sobre la respuesta productiva y el desempeño reproductivo de vacas lecheras, en un estudio de 4 años involucrando 282 vacas Holstein y 222 Jersey. En dicho estudio, las vacas en condiciones de pastoreo tuvieron menores notas de CC y PV que las confinadas, sin embargo, el comportamiento reproductivo no difirió significativamente entre sistemas de alimentación, con porcentajes de preñez promedio en 75 días de servicio de 64,2% y 71,7% para los grupos confinado y en pastoreo, respectivamente.

La evaluación económica de los sistemas de alimentación estudiados se realizó utilizando como indicador el ingreso libre del costo de alimentación, expresado en litros leche vaca⁻¹ día⁻¹ (Litros libres de alimentación, Tabla 3). Este es un indicador comúnmente utilizado (White y col., 2002), ya que incluye la fuente primaria de ingresos de una explotación lechera (venta de leche) y el principal componente del costo de producción (alimentación).

Tabla 3. Evaluación económica según períodos y tratamientos.

Variable	Período I		Período II		Período total	
	TMR_100	PMR_75	TMR_100	P+C	Sist. confinado	Sist. pastoril con supl.
Ingresos leche (\$ VO ⁻¹ día ⁻¹) ¹	101,1	96,9	86,4	83,4	94,5	90,6
Costo ración (\$ VO ⁻¹ día ⁻¹) ²	29,2	25,4	22,8	15,0	26,2	20,5
Ingresos libres alimentación (%)	71,1	73,8	73,6	82,0	72,3	77,4
Litros libres alimentación	23,9	23,8	21,2	22,8	22,8	23,4

¹Precio del litro de leche: \$3.00. ²Precios a Junio de 2014. Para el cálculo se consideró la MS ofrecida. En el caso del costo de la MS de pastura (Av y Alf) se consideró una eficiencia de cosecha de 70%. VO= vaca ordeño.

A pesar de los mayores ingresos del sistema confinado (+4,3%) con respecto al sistema pastoril con suplementación, los litros libres de alimentación resultaron inferiores (-2,7%), debido a los mayores costos de la ración (+ 27,8%). Vale aclarar que para el cálculo de los costos de la ración no se tuvieron en cuenta los gastos de suministro, que serían mayores en el sistema confinado.

Estos resultados coinciden con los de la bibliografía internacional que indica que el retorno económico de los sistemas basados en pasturas resultó mayor (Soriano y col., 2001; Tucker, Rude y Wittayakun, 2001; White y col., 2002) o igual (Fontaneli y col., 2005) con respecto al de los tradicionales sistemas confinados basados en TMRs. Sólo en uno de los trabajos revisados (Tozer y col., 2003), el ingreso neto del sistema confinado para vacas de alto mérito genético (45 kg leche día⁻¹ al inicio) resultó superior a pesar de presentar los mayores costos de producción. Sin embargo, el análisis de sensibilidad de los resultados mostró que en escenarios de bajo precio de la leche y alto costo del alimento (situaciones no poco frecuentes en nuestro país) el sistema pastoril con suplementación resultó más rentable que el confinado.

Por otro lado, Elbehri y Ford (1995), citados por Tozer y col. (2003), informaron que los sistemas con pastoreo intensivo serían más rentables que los sistemas confinados basados en TMRs, siempre que la producción de leche de los primeros sea hasta un 6% inferior con respecto a la del rodeo confinado. En el presente trabajo, la diferencia en producción de leche a favor del sistema confinado estuvo dentro del rango informado por estos autores y fue de 4,3% (31,5 vs. 30,2 kg/día).

CONCLUSIÓN

En las condiciones del presente trabajo, el grupo de vacas bajo el sistema pastoril con suplementación produjo menos leche, tuvo menores costos de alimentación, más litros libres de alimentación y similar comportamiento reproductivo comparado con el grupo confinado.

Aunque muchos factores contribuyen al éxito económico de una empresa lechera, los resultados de este estudio indican que el sistema pastoril con suplementación puede ser una alternativa económicamente competitiva comparada con el sistema confinado.

Por lo tanto, una estrategia de alimentación viable para vacas de parición otoñal en la cuenca lechera central sería utilizar una PMR (75% TMR + 25% pastura) durante otoño-invierno que permita sostener altas producciones de leche y luego en primavera, cuando las vacas están en etapas

más avanzadas de lactancia, aprovechar los menores costos del pastoreo y utilizar las pasturas con una suplementación estratégica.

Finalmente, hay que tener en cuenta que para el confinamiento total de las vacas se requiere una elevada inversión en instalaciones (*drylots, freestalls*), mientras que para un confinamiento parcial combinado con pastoreo sólo se requeriría una pista de alimentación (*feedpad*) definida como un área de superficie dura diseñada únicamente para alimentación.

BIBLIOGRAFÍA

- Bretschneider, G. y Salado, E.E. Sistemas Confinados vs. Pastoriles. Ventajas y desventajas. INTA Proyecto Lechero, Ficha Técnica N° 8. Agosto 2010. http://www.inta.gov.ar/lecheria/fichas/ficha_8.pdf (22/08/2016).
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Fontaneli, R.S., L.E. Sollenberger, R.C. Littell y C.R. Staples. 2005. Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *J. Dairy Sci.* 88:1264–1276.
- Gallardo, M.R., Castillo, A.R., Bargo, F., Abdala, A.A., Maciel, M.G., Perez-Monti, H., Castro, H.C. y Castelli, M.E. 2005. Monensin for lactating dairy cows grazing mixed-alfalfa pasture and supplemented with partial mixed ration. *J. Dairy Sci.* 88: 644-652.
- Kolver, E.S. 2003. Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc. Nutr. Soc.* 62:291-300.
- Meijs, J.A.C., Walters, R.J.K. y Keen, A. 1982. Sward methods. En: Leaver J.D. (ed) *Herbage intake handbook*. The British Grassland Society, Grassland Research Institute, Hurley, U.K. pp. 11-37.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Salado, E.E., Bretschneider, G., Cuatrin, A., Bechara Baladi, J., Maggia, M., Roldán, A. y Sigauco, V. 2011a. Suplementación de vacas lecheras con niveles crecientes de concentrado: 1. Producción y composición de leche. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 31 (supl. 1): 340.
- Salado, E.E., Bretschneider, G., Scandolo, D. 2011b. Suplementación de vacas lecheras con niveles crecientes de concentrado: 2. Peso vivo, condición corporal, metabolitos y hormonas plasmáticas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 31 (supl. 1): 341.
- Salado, E.E., Bretschneider, G., Cuatrin, A. y Eyherabide, G. 2012a. Respuesta productiva de vacas lecheras alimentadas con distintos niveles de ración totalmente mezclada y pastura. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 32 (supl. 1): 177.
- Salado, E.E., Bretschneider, G. y Cuatrin, A. 2012b. Reemplazo de ración totalmente mezclada por pastura en vacas lecheras: peso vivo, metabolitos y hormonas plasmáticas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 32 (supl. 1): 178.
- SAS. 1999. *SAS/STAT® User's guide* (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Short, S. D. 2004. Characteristics and Production Costs of U.S. Dairy Operations. *USDA Statistical Bulletin No. 974–6*. 20 pp. ARMS of Milk Producers, USDA, ERS.
- Soriano, F.D., C.E. Polan y C.N. Miller. 2001. Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84:2460–2468.
- Tozer, P.R., F. Bargo y L.D. Muller. 2003. Economic analyses of feeding systems combining pasture and total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 86: 808-818.
- Tucker, W.B., B.J. Rude y S. Wittayakun. 2001. Case Study: Performance and economics of dairy cows fed a corn silage-based total mixed ration or grazing annual ryegrass during mid to late lactation. *Prof. Anim. Sci.* 17:195–201.
- R.E. Vibart, S.P. Washburn, J.T. Green Jr., G.A. Benson, C.M. Williams, D. Pacheco y N. Lopez-Villalobos. 2012. Effects of feeding strategy on milk production, reproduction, pasture utilization, and economics of autumn-calving dairy cows in eastern North Carolina. *J. Dairy Sci.* 95:997-1010.
- Washburn, S.P., S.L. White, J.T. Green, Jr. y G.A. Benson. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. *J. Dairy Sci.* 85:105–111.

- White, S.L., G.A. Benson, S.P. Washburn y J.T. Green, Jr. 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 85:95–104.
- Wildman, E.E., Jones, G.M., Wagner, P.E., Boman, R.L., Troutt, H.F. y Lesch, T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.

EL DESEQUILIBRIO MULTIVARIADO EN LA LACTANCIA TEMPRANA LA PROBLEMÁTICA ALIMENTICIA

¿HASTA DONDE PUEDE ESTAR AFECTANDO AL SISTEMA?

¹ COMERON, E.A., ¹ SCANDOLO, D., ¹ ROMERO, E.A., ¹ SALADO, E., ² ROSKOPF, S., ^{1,2} MACIEL, M.

¹ INTA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina, Ruta 34, km 227

²FCV de la UNL

*Autor de contacto: comeron.eduardo@inta.gob.ar

La relación entre la producción de leche y la reproducción

En las últimas décadas, el proceso de intensificación en lechería – caracterizado por el incremento en la producción de leche, el tamaño de los rodeos y las estrategias de manejo muchas veces alejadas del bienestar animal- se ha acompañado de una reducción en las tasas de concepción que apenas superan el 30 % (Butler, 2003; Butler y Smith, 1989; Lucy, 2001; Washburn et al., 2002). El logro de una aceptable eficiencia reproductiva, permite alcanzar y mantener niveles adecuados de producción de leche, con impacto directo en la rentabilidad de la empresa tambora (Pryce et al., 2004). Sin embargo, existen dudas sobre la existencia de antagonismos entre ambos factores. Algunos consideran que existen conflictos a nivel de la selección genética entre producción y fertilidad. Lucy (2001) considera que, luego de dos décadas, se constata que la caída en la fertilidad acompañó al incremento de la producción.

Butler (2003) mostró la existencia de divergencias entre la tasa de concepción (TC) y la producción de leche por vaca en un período largo de tiempo (1951 al 2001). Pero otros autores, como Leblanc et al., (2010), si bien rechazan esta afirmación por errores metodológicos, no descartan la existencia de cierta relación negativa entre producción y reproducción. Otros consideran que, la duración e intensidad del estro en los bovinos, es una variable reproductiva influenciada por el nivel de producción y que a partir de cierto valor del mérito genético (producción) hay un efecto antagónico en la eficiencia reproductiva (Pedernera et al, 2008).

Es evidente que la causa de una baja fertilidad en vacas lecheras Holando de aceptable producción (alrededor de >7.000 litros/lactancia), es multifactorial e involucra: al mejoramiento genético, la nutrición, el manejo reproductivo, las enfermedades y el estado de bienestar animal (Roche, 2006).

La incidencia de otros factores como por ejemplo la condición corporal (CC) (Lucy, 2001) son de suma importancia. En efecto, la CC es un indicador del estado nutricional de las vacas, donde 1 unidad equivale a 55 kg de peso vivo (60 kg en vaquillonas) (Roche et al., 2009).

La escala utilizada para el registro de condición corporal (CC) en vacas lecheras corresponde a la de Wrigth y Rusel (1984), correspondiendo al siguiente detalle:

1	Emaciada	3	Aceptable	5	Obesa
2	Delgada	4	Grasosa		

Existen diferentes escalas, pero todas ellas pueden ser utilizadas con el mismo objetivo. En la revisión realizada por Roche et al (2009) sobre la asociación entre CC y productividad, salud y

bienestar de vacas lecheras, se presentan 3 escalas: NZ= 10 puntos, Irlanda y USA= 5 puntos, Australia= 8 puntos. En ese trabajo, se realizaron las conversiones de valores entre esas escalas de manera de poder interpretarlas sin mayores inconvenientes.

La CC y sus cambios son más confiables como indicadores del estado nutricional que el peso corporal; ya que este último está afectado principalmente por la fase de gestación y la cantidad de alimento en el tracto gastrointestinal.

Claramente existe una correlación negativa entre la condición corporal sub-óptima y la fertilidad, y se ha propuesto que la CC debería ser utilizada como una herramienta de gestión para mejorar el rendimiento reproductivo (Pryce, et al., 2001).

Una menor CC al parto como a la inseminación, así como descensos de los valores superiores a un punto entre estos dos eventos, se asocia a un retardo en el reinicio de la actividad ovárica y a una disminución en la TC (Opsomer et al., 2000; Santos et al., 2009).

La merma de la CC desde el parto hasta el momento del pico de producción (8 a 12 semanas posparto), debería ser menor de 1 unidad (valor equivalente a 55 kg de peso vivo) y en lo posible deberían estar por encima de 2,5. Las vacas que tienen algún tipo de enfermedad bajan ligeramente más su CC que vacas saludables (Wildman y col, 1982).

En el Cuadro 1 se presenta el valor objetivo de CC y su rango según estado fisiológico o productivo y para la escala adoptada.

Cuadro 1. Condición corporal (CC) objetivo y rango aceptable en diferentes momentos (Garnsworthy y Topps, 1982; Gearthart y col, 1990).

Momento fisiológico	CC objetivo	Rango aceptable
Parto	3,50	3,25 a 3,75
Lactancia temprana	2,75	2,50 a 3,00
Lactancia media	3,00	2,75 a 3,25
Lactancia tardía	3,25	3,00 a 3,50
Período de secado	3,50	3,25 a 3,50

Luego del parto, el consumo voluntario de materia seca (CMS) no es suficiente para cubrir los requerimientos energéticos de vacas lecheras de media y alta producción, por lo cual los animales entran en balance energético negativo “BEN” (Sejrsen y Neimann-Sorensen, 1982). El BEN comienza pocos días antes del parto y alcanza su máximo nivel, aproximadamente, a los 12 días posparto (Butler y Smith, 1989; Canfield y Butler, 1990).

En estas situaciones, la energía necesaria para la producción de leche se obtiene a partir del alimento consumido y de la movilización de reservas corporales (Bell, 1995).

La utilización de reservas en el inicio de lactancia es un proceso fisiológico normal, que se vuelve perjudicial y afecta la salud cuando el proceso es excesivo. La magnitud de la caída en CC en inicio de lactancia depende no sólo del nivel de alimentación, sino también del nivel de producción y de la CC al parto. Las vacas de alta producción normalmente pierden más estado debido a un BEN más agudo en comparación con animales de menor mérito genético, especialmente si llegan al parto con una buena CC. Por el contrario, las vacas que paren con menor

CC pero que son alimentadas con dietas altas en concentrados y bien balanceadas, muestran menor variación en su CC en inicio de lactancia (Wattiaux et al, 1994).

La producción de leche que se puede lograr a partir de las reservas movilizadas, puede representar un 30 a 35% del total en el momento de la máxima producción. Cada kilo de peso movilizado representa 5,7 Mcal, las cuales son usadas con una eficiencia del 84%, se recupera así 4,8 Mcal por kg de peso ($5,7 * 0,84$). En 1 litro de leche hay retenidos 0,64 Mcal obteniéndose por kilo de peso perdido 7,5 litros de leche (4,8 Mcal/0,64).

El peso vivo y la CC son generalmente más altos en vacas manejadas en confinamiento (dietas RTM; raciones totalmente mezcladas) que en sistemas pastoriles o de base pastoril (RPM; raciones parcialmente mezcladas). Pero también se evidencian diferencias raciales donde, por ejemplo, la Holando presenta menores tasas de inseminación y de concepción, y menor CC que la Jersey (Washburn et al., 2002).

Las vacas que paren con CC superiores a las deseadas presentan mayores restricciones al consumo de alimentos en inicio de lactancia, agudizando su BEN. Esto induce una mayor movilización de grasas corporales que no pueden ser completamente metabolizadas por el hígado (Overton y Waldrom, 2004).

Una restricción prolongada de energía en la dieta, tiene como resultado una pérdida de peso y de CC y por ende, una disminución en la actividad ovárica, debido principalmente a que se suprime la secreción de LH, reduce las concentraciones del factor de crecimiento similar a insulina tipo I (IGF-I) y de glucosa (Richards y col, 1991), e incrementa las concentraciones en el plasma de hormona de crecimiento (GH) y NEFAs (Richards et al., 1989).

Vacas con buena CC al parto tienen mejor desempeño reproductivo, debido a la mayor frecuencia de pulsos de LH. Al evaluar la relación del balance energético y la actividad ovárica al posparto, se determinó que la primera ovulación posparto ocurre aproximadamente 10 días después del balance energético cero, concluyendo que a mayor déficit energético aumenta el atraso de la primera ovulación posparto (Butler et al., 1981). El BEN representa una condición fisiológica de desnutrición que perjudica la secreción de LH y la ovulación (Jolly et al., 1995).

La interacción con la nutrición

Una de las metas de un adecuado planteo nutricional consiste en evitar una caída importante y extendida de las reservas corporales para que se logre completar el proceso normal de recuperación y no afecte la eficiencia reproductiva. Bajo las condiciones de alimentación estabulada (dietas RTM) parecería a priori menos dificultoso cumplir con ese objetivo. Sin embargo, tanto en RTM como en cualquier otro sistema de alimentación, las variables que están interactuando son las mismas, aunque a una escala o valor diferente: el nivel o el potencial de producción del animal que se desea y la calidad de la dieta asociada a la calidad de los alimentos que la componen.

Hipotetizando, una proporción importante de la relación negativa entre producción y fertilidad se podría explicar desde el punto de vista nutricional ya sea por:

- la dificultad de cubrir los requerimientos totales diarios (consumo de MS, energía y proteína), y/o la imposibilidad de lograr dietas con una adecuada concentración de nutrientes por kg MS consumida, en vacas de alta producción y durante el primer tercio de la lactancia.

- los elevados valores de FDN en los forrajes, que afectan el consumo de MS y agravan el déficit de EM consumida diariamente.

La segunda causa señalada aumenta su incidencia con el nivel de producción, imposibilitando cada vez más la cobertura de los requerimientos totales diarios ya que el animal se encuentra en un periodo productivo con consumo restringido.

Como lo señalan Faverdin et al. (1987), en condiciones de alimentación estabulada, el pico de producción de leche puede ser alcanzado entre la 3^{ra} y la 6^{ta} semana de lactación. Mientras tanto la máxima capacidad de ingestión (CI) se logra entre la 12^a y la 16^a semana, y cae al momento del parto al 70 a 85% de su valor máximo. En el caso de vacas Holando que basan su alimentación en sistemas RPM con acceso al pastoreo (tradicional en la mayoría de las cuencas de Argentina), el pico de lactancia se alcanza a los 40 días del parto.

En razón de esta evolución divergente entre los requerimientos del animal y la capacidad de ingestión, no es posible obtener el equilibrio entre los aportes nutritivos y las necesidades en todo el momento del ciclo de producción (Sejrsen y Neimann-Sorensen, 1982), en particular en los animales de alto potencial de producción.

Retomando la hipótesis planteada respecto a las dietas, la imposibilidad de lograr una adecuada concentración de nutrientes por kg MS consumida se debe:

a) principalmente, a la baja calidad y sostenida participación de los **silajes de planta entera** en la dieta y para gran parte del año

b) adicionalmente, aunque en menor medida, a la inferior calidad de todos los otros alimentos, se citan:

- el **heno**: su importancia para la problemática bajo análisis depende de:
 - si su inclusión en la dieta consiste en aportar fibra efectiva, para lo cual se estima en términos prácticos entre el 7 % y el 10 % del total de MS ingerida, su calidad se relativiza.
 - si su participación en la dieta es en una proporción importante, su calidad pasa a ser primordial. En general, se han constatado valores elevados de FDN y FDA especialmente en muestras provenientes de rollos no tapados.
- las **pasturas**: (especialmente de alfalfa donde es dificultoso aprovecharla en su momento de mayor equilibrio cantidad: calidad por la imposibilidad de prever o anticiparse a tasas de crecimiento muy variables durante la primavera y parte de verano.
- los **concentrados y subproductos**: algunos de estos alimentos son más sensibles a perder calidad por condiciones de almacenamiento inapropiado (tanto en origen como en destino).

Una de las maneras más rápidas y sencillas de implementar para mejorar la calidad de la dieta o la concentración de nutrientes por kg de MS consumida es aportando una mayor cantidad de concentrados en la dieta en detrimento de los otros componentes. Se considera que en la cuenca central se reemplaza más heno y pastura que silaje, especialmente en el período otoño-invernal. Esto conlleva lógicamente a un encarecimiento del costo de producción y a una mayor dependencia de alimento comprado o adquirido fuera del establecimiento.

Centeno (2012) constató que, para la misma población de tambos bajo estudio, el proceso de intensificación entre el 2004 y el 2011 permitió duplicar la eficiencia productiva (5696 a 9839 litros/haVT/año). Pero esto se logró a expensas de un incremento importante de la proporción de concentrado en las dietas (del 25 % al 43 % de la MS total consumida) y una reducción en la pastura o verdeo de invierno (del 50 % al 27 % de la MS total consumida). Esto resultó en un incremento desmesurado de los gastos de alimentación (del 22 % al 50 % del Ingreso bruto), teniendo en cuenta las características del sector lácteo argentino. Dicho aumento se produjo por la importante erogación en alimento comprado como concentrado y subproductos, que pasó del 11 % al 30 % del costo. Por el contrario, se elevó solamente en un 10% los costos de alimento producido, como consecuencia de un aumento de la superficie destinada a cultivos para silaje de planta entera y una reducción del uso del suelo para pasturas/verdeos.

Observando la base de datos del Laboratorio de Análisis de Alimentos (Gaggiotti et al, 2010), se constata que de todos los que participan en las dietas tradicionales de la cuenca central, el **silaje de planta entera de maíz** podría ser el responsable principal de la problemática nutricional que afecta la CC y la eficiencia reproductiva. Son varios los motivos, pero se destacan los siguientes:

- participa de la dieta en un rango entre el 15 % y el 35 % de la MS consumida (datos censales de INTA Proyecto de lechería bovina),
- la caída en su calidad entre el valor real (media de las muestras) y el óptimo (alrededor de un 11%) es la segunda más importante de todos los otros alimentos de la dieta (2,17 y 2,43 Mcal EM/kgMS, respectivamente). Como referencia externa, en la base de datos del NRC (2001) el valor medio del silaje de maíz “normal” es de 2,38 Mcal EM/kgMS.

Respecto a los otros alimentos y según la Tabla del Laboratorio EEA Rafaela (Gaggiotti et al, 2010), para el **heno** la disminución de la calidad es muy importante, casi el 25 % entre el valor óptimo y el real: de 2,25 a 1,69 Mcal EM/kgMS con un valor medio reportado por el NRC de 2,03 Mcal/kgMS. Para la **pastura**, los valores según la base de datos considerada son de 2,47; 2,37 y 2,25 McalEM/kgMS para NRC, INTA óptimo, INTA media (cuadros 2, 3 y 4), respectivamente.

Esta menor concentración de cada alimento que compone la dieta tiene su consecuencia en la dificultad de completar los requerimientos diarios de una vaca de alta producción en su primer tercio de lactancia.

Para ejemplificar la problemática nutricional en los primeros 40-50 días de lactancia, para las condiciones de alimentación de la mayoría de las cuencas argentinas, se desarrolla a continuación un análisis comparativo de dietas similares pero que difieren en calidad (EM y FDN) según la base de datos considerada (NRC e INTA).

Determinación de los requerimientos de un animal de referencia:

- Vaca patrón de raza Holando con 50 días de lactancia, 600 kgPV y 40 l/día
- Dieta = 30 % Pastura : 30 % Silaje : 20 % Conc.proteico : 13 % Conc.energético : 7 % Heno.
- Consumo de MS : se estimó a partir de la ecuación de predicción del NRC (kgMS/v/d) = $(0,372 \times LGC + 0,0968 \times PV 0,75) \times (1 - e^{-(0,192 \times (SL + 3,67))})$
- FDN (kg/s/d) = $(1,2 * 600 \text{ kg PV}) / 100 = 7,200 \text{ kg}$

- Los requerimientos fueron estimados en 58 Mcal EM/día; 2,58 McalEM/kgMS; 17,5 %PB.; 7,2 kgFDN/día
- La pérdida en el periodo “Parto a 50 Días de lactancia”, de
 - CC = 3,25 y 2,50 respectivamente, resultando en una caída de 0,75 puntos.
 - La pérdida de peso fue de $= 0,75 \text{ CC} * 55 \text{ kg/1 CC} = -41,25 \text{ kg} / 50 \text{ días} = -0,825 \text{ kg/v/d}$ representarían 6 litros/día a partir de esa movilización de reservas

Determinación de los aportes alimenticios de una dieta tradicional

En los cuadros siguientes se detallan, las dietas, la calidad de los alimentos y los aportes de MS y energía. A los fines de concentrar la atención en la problemática energética, no se presentan los cálculos para proteína ya que fueron cubiertos los requerimientos de PB.

Se presentan a continuación tres cuadros (del 2 al 4) donde se detallan por fuente de información (NRC e INTA) la dieta tradicional, el consumo de MS, FDN y EM. El valor de FDN y EM/kgMS de cada alimento fue seleccionado de esas bases de datos.

Cuadro 2: Valores medios de calidad de alimentos según origen NRC (2001)

Alimento	Dieta (%)	EM	Consumo	EM
		Mcal/kg MS	(kg MS/d)	Mcal/día
Pastura	30	2,47	6,75	16,67
Silo maíz	30	2,38	6,75	16,07
Pellet Girasol	7	2,25	1,58	3,54
Exp Soja	8	3,63	1,80	6,53
Maiz	17	3	3,83	11,48
Heno alfa	8	2,03	1,80	3,65
				2,58

Cuadro 3.- Valores medios de calidad de alimentos según origen INTA (2010)

Alimento	Dieta (%)	EM Mcal/kgMS	FDN % MS	Consumo (kg MS/d)	EM Mcal/día	FDN (kg/d)
Pastura	30	2,37	39,1	6,75	16,00	2,639
Silo maíz	30	2,43	29,0	6,75	16,40	1,958
Pellet Girasol	7	2,22	31,9	1,58	3,50	0,502
Exp Soja	8	3,61	16,8	1,80	6,50	0,303
Maiz	17	3,06	9,4	3,83	11,70	0,360
Heno alfa	8	2,25	45,7	1,80	4,05	0,822
				22,50	58,15	6,585
					2,58	

Cuadro 4: Valores medios de calidad de alimentos según dietas tradicionales

Alimento	Dieta (%)	EM Mcal/kgMS	FDN %MS	Consumo (kg MS/d)	EM Mcal/día	FDN (kg/d)
Pastura	30	2,25	43,3	6,75	15,19	2,923
Silo maíz	30	2,17	48,8	6,75	14,65	3,294
Pellet Gir	7	2,23	32,9	1,58	3,51	0,518
Exp Soja	8	3,6	15,15	1,80	6,48	0,273
Maiz	17	3,05	9,42	3,83	11,67	0,360
Heno alfa	8	1,69	51,7	1,80	3,04	0,931
				22,50	54,54	8,299
					2,42	

Como se puede observar en los 3 cuadros se concluye que;

- La EM/kgMS de las muestras denominadas INTA 2010 Top (ver cuadro 3) son similares a la media del NRC 2001 (ver cuadro 2) considerados, diferenciándose de los de INTA 2010 “media” (ver cuadro 4) los cuales son hasta un 5% inferiores.
- Los requerimientos de EM son cubiertos cuando se utilizan valores de calidad esperada de los alimentos (de aceptables a óptimos; cuadro 2 y 3).
- Con los valores medios de EM (cuadro 4), no se cubren los requerimientos de EM diarios (54,54 vs 58,0 Mcal) siendo insuficiente el valor de EM/kgMS (2,42 vs 2,58 Mcal).
- En los tres casos la vaca de referencia o patrón estaría como mínimo, movilizand sus reservas a razón de una pérdida de peso de 0,825 kg/día, durante 50 días de lactancia lo cual aún se encuadra en niveles aceptables, aunque en el límite de ocasionar algún tipo de inconveniente al animal (cetosis).
- A partir de los 50 días de lactancia debería reducirse la pérdida de peso y comenzar a recuperarse la CC en todos los casos.

La vaca sometida a la dieta INTA “media” (cuadro 4) estará en una situación más comprometida para iniciar el proceso firme de recuperación de la CC ya que hay un déficit de 3,5 McalEM/d en el consumo de energía respecto a los otros 2 casos (cuadro 2 y 3). Por lo tanto, tienen más probabilidades de no alcanzar una eficiencia reproductiva similar. Pero su situación está aún más comprometida si consideramos los requerimientos y eventuales excedentes de FDN aportada esencialmente desde los forrajes. En el cuadro 5, se presentan los valores de los alimentos de INTA “media” con el ajuste por exceso de FDN de la dieta del cuadro 4 (8,300 kg) vs el requerimiento de FDN de la vaca patrón (7,200 kg/d).

Cuadro 5: Valores medios de calidad de alimentos correspondiente a INTA, 2010 y su ajuste de consumo hasta balancear el exceso de FDN

INTA 2010 ajuste FDN	Dieta (%)	EM Mcal/kgMS	FDN %MS	Consumo (kg MS/d)	EM Mcal/día	FDN (kg/d)
Pastura	30	2,25	43,3	6,08	13,68	2,633
Silo maíz	29	2,17	48,8	5,85	12,69	2,855
Pellet Girasol	8	2,23	32,88	1,58	3,52	0,520
Exp Soja	9	3,6	15,15	1,80	6,48	0,273
Maíz	19	3,05	9,42	3,83	11,68	0,361
Heno alfa	5	1,69	51,74	1,10	1,86	0,569
				20,24	49,92	7,210
					2,47	

Para poder establecer la corrección del excedente de FDN, se redujeron los % de participación en la dieta de los 3 alimentos con mayores valores de fibra. Como se observa, para reducir la FDN de la dieta del cuadro 4, al valor de requerimiento, se debió reducir el consumo de pastura (de 6,75 a 6,08 kg), el de silaje (6,76 a 5,85 kg) y el de heno (1,80 a 1,10 kgMS).

Esta doble corrección por exceso de FDN (a través de un menor consumo) y déficit de energía (EM), resultó en algo más de 8 Mcal EM/día por animal, que no estarán disponibles para la vaca sometida a la dieta del cuadro 5.

CONSIDERACIONES FINALES

En función del análisis efectuado y si bien habría que constatar los valores de calidad de los alimentos a nivel del comedero (“en boca del animal”), se indican por prioridad las siguientes conclusiones o recomendaciones:

- Existen aún demasiadas contradicciones sobre la existencia y/o la magnitud de los efectos, directos e indirectos, en la interacción producción: reproducción: alimentación.
- Algunas evidencias mostrarían además que el mérito genético (nivel de producción) podría estar condicionando la respuesta hasta un cierto valor (entre 6.500 y 8.000 litros/lactancia?).
- mejorar significativamente la calidad de los componentes de la dieta (incremento marginal (+0,2 a +0,3 Mcal EM/kgMS), especialmente en el silaje (desde el cultivo al suministro), luego en la pastura (eficiente en el uso) y finalmente en el heno (clasificado y protegido).
- paralelamente a “c”, procurar secuencias intensivas sostenibles con mayor cantidad rendimiento de un valor superior por ha (+20%). Meta =10.000 kgMS/ha de rotación (anuales y semipermanentes).
- modificar estrategias de suplementación de acuerdo a consignas pre establecidas como, por ejemplo:
 - Niveles de suplementación por lactancia solamente

- Valor de decisión MEDIO = 1.500 kgMS/vaca (¿? Definir)
 - Valor de distribución según días de lactancia : 50 % de 0 a 100 días ; 25 % 101 a 200 días y 25 % de 201 a 300 días. Más de 301 días, 0 %
- Adultas y Primíparas
 - Valor de decisión: 1.500 kgMS/vaca
 - Valor de distribución = según momento de lactancia y nivel de producción en primíparas.
 - Modificar la dieta: Aumentando la proporción de alimentos de calidad (concentrados) pero encarecería la ración y hay un límite que no debe superarse (45 % de la MS total ingerida).
 - Utilización de cruza JxH considerando que tienen requerimientos inferiores a la Holando (Mcal EM por kgMS y por día) resultando más adaptadas a la calidad de la dieta utilizada como tradicional.

La cuestión clave en la estrategia de suplementación sería definir un valor por lactancia que permita: a) cumplir con las necesidades de los animales en determinados periodos, b) aprovechar aquellos periodos donde la eficiencia de conversión es superior, c) compatibilizar estos requerimientos biológicos productivos con objetivos económicos de la empresa (ejemplo retorno por peso invertido o relación insumos: precio de leche).

BIBLIOGRAFIA

- Bell A. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci.* 73:2804-2819.
- Butler W, Everett R, Coppock C. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci.* 53:742- 748.
- Butler W, Smith R. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72:767-783.
- Butler, R. 2003. Nutrition and reproduction loss – can we feed our way out of it? Proceedings of the 2nd bi-annual W.E. Petersen Symposium “Reproductive Loss in Dairy Cows: Is the Trend Reversible?”. University of Minnesota. April 8. pp22- 30.
- Canfield R, Butler W. 1990. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 7: 323-330.
- Centeno, A 2013. Intensificación en el tambo ¿Qué cambió? Hoja de información técnica Nro 33 INTA UEEA San Francisco ISSN 2250-8546
- Gaggiotti, M., Comeron, E.A., Gallardo, M. y Romero, L.A. 2010. Tabla de Composición química de alimentos para rumiantes. Ediciones INTA CERSAN (2da edición) 67 pp.
- Garnsworthy P, Topps J. 1982. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim Prod.* 35:113- 119
- Gearhart M, Curtis C, Erb H, Smith R, Sniffen C, Chase L, Cooper M. 1990. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J Dairy Sci.* 73: 3132-3140.
- Jolly, P.D., S. McDougall, L.A. Fitzpatrick, K. Macmillan, K. Entwistle. 1995. Physiological-effects of undernutrition on postpartum anestrus in cows. *J. Reprod. Fertil.* 49 (Suppl.): 477-492.
- LeBlanc, S.J. Campbell, M.S. 2010. Is high production compatible with good reproductive performance in dairy cattle?. *World Buiatrics Congress*, 103-113.
- Lucy M. 2001. Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will it End. *J Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Opsomer G, Grohn Y, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, De Kruif A. 2000. Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology.* 53:841-857.

- Overton T, Waldron M. 2004. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci.* 87:105-119.
- Pedernera, M., García, S.C., Horagadoga, A., Barchia, I., Fulkerson, W.J. Energy 2008. Balance and Reproduction on Dairy Cows Fed to Achieve Low or High Milk Production on a Pasture-Based System. *Journal of Dairy Science.* Volume 91, Issue 10, Pages 3896–3907
- Pryce J, Coffey M, Simm G. 2001 The relationship between body condition score and reproductive performance. *J Dairy Sci.* 84:1508-1515.
- Pryce J, Royal M, Garnsworthy P, Mao I. 2004. Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Prod Sci.* 86:125–135.
- Richards M, Wettemann R, Schoenemann H. 1989. Nutritional anestrus in beef cows: concentrations of glucose and nonesterified fatty acids in plasma and insulin in serum. *J Anim Sci.* 67:2354-2362.
- Richards M, Wettemann R, Spicer L, Morgan G. 1991. Nutritional anestrus in beef cows: Effects of body condition and ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin - like growth factor - I. *Biol Reprod.* 44:961-966.
- Roche, J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science* 96 (206) 383-396.
- Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. *J. Dairy Sci.* 92:5769-5801
- Santos JE, Rutigliano HM, Sá Filho MF. 2009 Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 110:207-221.
- Sejrsen, K., and A. Neimann–Sorensen. 1982. Nutritional physiology and feeding of the cow around parturition. *Curr. Top. Vet. Med. Anim. Sci.* 20: 325–357.
- Washburn SP, Silvia WJ, Brown CH, McDaniel BT, McAllister AJ. 2002 Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J Dairy Sci.* 85:244-251.
- Wattiaux M, Combs D, Shaver R. 1994. Lactational responses to ruminally undegradable protein by dairy cows fed diets based on alfalfa silage. *J Dairy Sci.* 77:1604-1617.
- Wildman E, Jones G, Wagner P, Bowman R. 1982. A Dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J Dairy Sci.* 65:495-501.
- Wright I, Russel A. 1984. Estimation in vivo of the chemical composition of the bodies of mature cows. *Anim Prod.* 38:33-44.

SINDROME DEL BAJO TENOR DE GRASA EN LECHE

ETIOLOGIA Y CONTROL

¹SALADO, E.E. *; ²BRETSCHNEIDER, G.; ¹ARIAS, D.

¹ INTA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina, Ruta 34, km 227

² INTA Balcarce, AER Necochea, Necochea, Buenos Aires

*Autor de contacto: salado.elay@inta.gob.ar

La grasa butirosa es el principal componente energético de la leche en los bovinos y contribuye a muchas de las propiedades físicas, características de manufactura y cualidades organolépticas de la leche y productos lácteos (Bauman y Griinari, 2003). Está compuesta básicamente por triglicéridos (más del 98%) en forma de glóbulos de 1 a 7 μm de diámetro y el 2% restante son fosfolípidos, diglicéridos, colesterol libre y esterificado, ligados a la membrana del glóbulo graso (Rearte, 1993).

Los triglicéridos que componen la grasa butirosa poseen una molécula de glicerol esterificada con 3 ácidos grasos (AG) de distinta longitud. El largo de estos AG se extiende desde 4 (ácido butírico) hasta 18 átomos de carbono con distintos grados de saturación (ácidos esteárico C18:0, oleico C18:1, linoleico C18:2 y linolénico 18:3) (Rearte, 1993).

Los AG de cadena corta y media (C4 a C14) se sintetizan *de novo* en la glándula mamaria (Rearte, 1993). Esta síntesis ocurre a partir del ácido acético y del β -hidroxibutirato resultante de la fermentación de los forrajes que ocurre en el rumen y en el intestino grueso, y del ácido acético y butírico contenido en silajes, en caso de que estos últimos conformen parte de la dieta (Pérez, 2011). Los AG de cadena larga de 18 átomos de carbono, en cambio, no son sintetizados por la glándula sino que son captados como tal del plasma sanguíneo y proceden de los triglicéridos contenidos en la dieta, de los AG no esterificados provenientes de la lipomovilización y de la síntesis de grasa microbiana a nivel ruminal (las bacterias sintetizan AG *de novo* a partir de precursores carbonados) (Rearte, 1993; Pérez, 2011).

El ácido palmítico (C16) tiene ambos orígenes, parte es sintetizado por la glándula y parte es tomado del torrente sanguíneo (Rearte, 1993). Se estima que aproximadamente el 50% de los AG de la grasa butirosa son sintetizados *de novo* por la glándula y el 50% restante son tomados directamente del plasma sanguíneo (40% provienen de la dieta y microorganismos ruminales y 10% del tejido adiposo) (Walker et al., 2004).

Para muchas especies, la composición en AG de la grasa láctea refleja fuertemente la composición en AG de la dieta (Bauman y Griinari, 2003). Los rumiantes son una excepción a causa de que los lípidos dietarios sufren un extenso metabolismo por los microorganismos ruminales, lo cual resulta en una marcada diferencia entre el perfil de AG de la dieta (mayoritariamente insaturado) y el que abandona el rumen (mayoritariamente saturado) (Bauman y Griinari, 2003; Fuentes Álvarez, 2009). Los dos principales procesos que ocurren en el rumen son la **lipólisis** (hidrólisis de los enlaces éster de los lípidos) a partir de la cual se obtienen AG libres y glicerol y la **biohidrogenación** (saturación de los dobles enlaces con iones hidrógeno) de los AG

insaturados los cuales son luego incorporados rápidamente a los lípidos de los microorganismos (Fuentes Álvarez, 2009).

Sin embargo, la dieta puede afectar marcadamente la población bacteriana y los procesos microbianos del rumen y en consecuencia, la dieta y la nutrición tienen efectos importantes sobre el contenido de grasa y el perfil de AG de la leche, aún en rumiantes (Bauman y Griinari, 2003). Uno de los ejemplos más claros de esto ha sido caracterizado como el **Síndrome del bajo tenor de grasa en leche**, más comúnmente llamado **depresión de grasa láctea (MFD)**, por sus siglas en inglés). MFD ocurre cuando la alimentación con una dieta particular reduce marcadamente el contenido de grasa y altera la composición en AG de la leche (Bauman y Griinari, 2003). Se caracteriza por una disminución del tenor graso de hasta un 50% y cuando no hay otros factores complicando el cuadro, la producción de leche no declina y el contenido de proteína y lactosa permanecen esencialmente sin cambios (Bergen, 2009).

MFD puede ser un indicador de patologías que repercuten sobre la producción de leche (acidosis ruminal). Sin embargo, si las vacas padecen MFD pero no presentan problemas de salud, no debería ser un tema preocupante. En tal sentido, MFD se puede considerar beneficioso, ya que se requiere menor cantidad de energía por litro de leche producido y esa energía consumida pasará a formar parte de las reservas corporales, lo cual beneficiará a las vacas con pobre condición corporal (Pérez, 2011). Desde el punto de vista económico, podría significar un perjuicio si no se alcanzan los niveles de grasa bonificables.

Es importante aclarar que MFD no debe ser considerado como un síntoma inequívoco de acidosis ruminal, ya que puede ser inducido por otras causas, como un exceso de grasa insaturada en la ración (Bach, 2002). Por otro lado, la presencia de vacas con acidosis puede no ser detectada a través del tenor de grasa de la leche del tanque y es necesario realizar controles individuales para ello. En este sentido, las vacas con alta probabilidad de padecer acidosis tienen una concentración de grasa butirosa un punto porcentual por debajo de la media de la leche del tanque y/o la diferencia entre el porcentaje de proteína y de grasa en leche es $> 0,4\%$ (Bach, 2002).

Existen tres teorías basadas en cambios en los procesos microbianos del rumen inducidos por la dieta que intentan explicar la etiología de MFD.

- **Teoría de la Deficiencia de Acetato o Butirato:** esta teoría sostiene que cuando se suministran raciones con una baja relación forraje: concentrado, la producción de acetato y β -hidroxibutirato en el rumen disminuye hasta el punto que limita la producción de grasa butirosa (Bach, 2002).

- **Teoría Glucogénica o de la Insulina:** esta teoría postula que en condiciones de acidosis ruminal se producen grandes cantidades de propionato que inducen la secreción de insulina, lo cual resulta en una disminución de la disponibilidad de precursores para la síntesis de grasa en glándula mamaria, ya que la insulina estimula la lipogénesis en el tejido adiposo (Bach, 2002).

- **Teoría de la Biohidrogenación:** actualmente, la causa más aceptada para explicar este síndrome está relacionada con la producción de un isómero de ácido linoleico conjugado (CLA, por su abreviatura en inglés) en el rumen, el trans-10 cis-12 CLA, el cual es un intermediario del proceso de biohidrogenación ruminal del ácido linoleico (Latrille, 2010), contenido principalmente

en la fracción lipídica de las semillas de oleaginosas. Este isómero de 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 (Bauman y Grinari, 2003). 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 (Latrille, 2010).

Se propone que para que se genere este CLA en rumen deberían darse 2 situaciones, una fermentación ruminal alterada y la presencia de AG poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) (Latrille, 2010). Entre los factores de riesgo relacionados con una fermentación ruminal alterada, se encuentran un bajo pH ruminal (las vías típicas de biohidrogenación ruminal se inhiben a $\text{pH} < 6$), un elevado consumo de concentrados ($> 40\%$ MS, particularmente si contienen carbohidratos no estructurales de rápida degradabilidad ruminal) y un bajo contenido de fibra efectiva (FDNef) en la ración ($< 22\%$ MS). Cabe aclarar que desde el punto de vista nutricional el concepto de FDNef se refiere a la capacidad de la fibra para promover las actividades de masticación y rumia y una buena producción de saliva, principal amortiguador de los ácidos ruminales por su contenido de bicarbonato, permitiendo optimizar la fermentación y evitando la ocurrencia de episodios de acidosis subclínica (Gallardo, 2002). Bajo las condiciones mencionadas, además de formarse *trans*-10 *cis*-12 CLA, se produce el ácido *trans*-10 C18:1, el cual no inhibe directamente la síntesis *de novo* en glándula mamaria, pero se detecta en leche, pudiendo utilizarse como indicador de una biohidrogenación ruminal alterada (Figura 1).

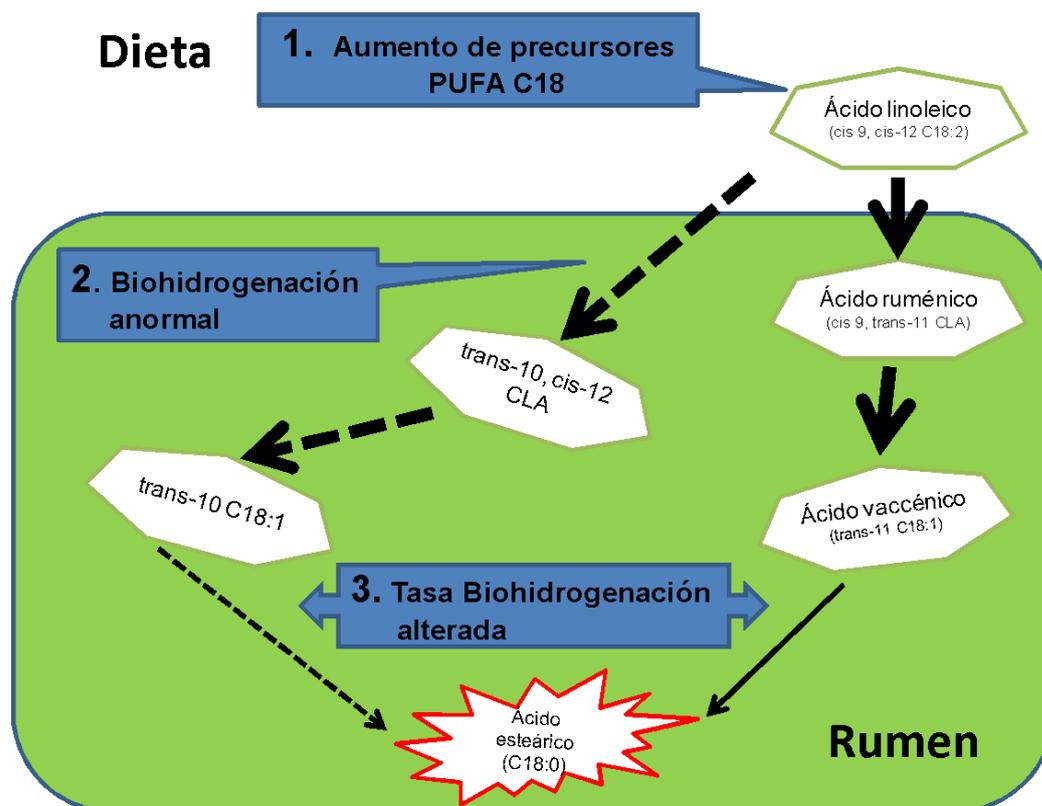


Figura 1. Vías de biohidrogenación anormal (izquierda) y normal (derecha) del ácido linoleico. Adaptado de Latrille, 2010.

En la Figura 1 se muestra que básicamente hay 3 formas de afectar el contenido de grasa butirosa:

- 1) Aumentar los aportes de PUFA de 18 carbonos (fundamentalmente ácido linoleico) no protegidos,
- 2) Alterar el ambiente ruminal y los patrones de biohidrogenación,
- 3) Alterar la tasa de biohidrogenación ruminal.

Una vez comenzado el suministro de la dieta inductora a MFD, existe un intervalo de 7 a 18 días hasta el momento a partir del cual se producen las alteraciones de la biohidrogenación ruminal (Pérez, 2011).

Es importante tener en cuenta que muchos de los alimentos utilizados frecuentemente en la alimentación de vacas lecheras (granos de cereales, semillas de oleaginosas, silaje de maíz, heno de alfalfa y forrajes verdes) poseen PUFA en su composición grasa.

En este sentido, Gallardo (2002) afirma que, en los sistemas pastoriles de producción, MFD ocurre frecuentemente con el inicio de la primavera. En esta época del año se dan las mejores condiciones ambientales para el crecimiento de las pasturas y se produce un cambio de alimentación con mayor participación de las mismas en la dieta del rodeo. Las características del pastoreo selectivo de los bovinos en condiciones de abundante oferta de pastura (mayor presión de selección sobre hojas y tallos tiernos) determinarán el consumo de una ración desbalanceada, con elevado contenido de agua y de proteínas degradables y déficit de FDNef. Esta última tiene una relación directa con la síntesis de grasa butirosa. Además de lo mencionado, cabe destacar que durante la primavera las pasturas poseen concentraciones más elevadas de PUFA (C18:3 y CLA). Esto sumado a la carencia de FDNef, favorece la activación de las vías atípicas de biohidrogenación, con la consiguiente producción de los isómeros responsables de MFD (Pérez, 2011).

Medidas de manejo nutricionales para controlar MFD en los rodeos lecheros

- Ante la inclusión de concentrados energéticos (CE) en la ración, debe tenerse en cuenta (Bretschneider, 2009):
 - la cantidad incluida: se sugiere un suministro de 1 kg CE/4 kg leche, con un límite máximo de hasta 10 kg MS/día para vacas produciendo más de 40 kg leche/día.
 - el tipo de almidón contenido en el CE: los granos de trigo y cebada contienen almidón de rápida degradabilidad ruminal y, por ende, son más propensos a inducir acidosis que los granos de maíz y sorgo, cuyo almidón se degrada más lentamente.
 - el grado y tipo de procesamiento: tanto los tratamientos térmicos como una molienda fina (< 2 mm) aumentan la velocidad de fermentación del almidón, por lo que los CE sometidos a algún tipo de procesamiento conllevan un mayor riesgo de acidosis con respecto a los no procesados.
 - el contenido de FDNef de la ración: debe asegurarse un mínimo de 22% de la MS. Se recomienda la suplementación con heno (1,5 a 2,0 kg MS/vaca/día) como fuente de fibra larga.

- Ante la inclusión de alimentos con alto contenido de PUFA, como así también durante la utilización de las pasturas en primavera, es válida la última recomendación (Pérez, 2011).
- El uso de sustancias *buffer* en la ración, como bicarbonato de sodio y óxido de magnesio, pueden ayudar a mantener el pH ruminal dentro de rangos normales (Pérez, 2011). Las dosis recomendadas son de 1% y de 0,3-0,4% de la MS consumida, para bicarbonato de sodio y óxido de magnesio, respectivamente. Debido a que el óxido de magnesio es un alcalinizante y el bicarbonato es un tampón, existe una sinergia entre ambas sustancias y su uso combinado es más eficiente que cuando se utilizan por separado. La combinación recomendada de bicarbonato de sodio y óxido de magnesio es de 3 a 1 (Bach, 2002).
 - El silaje de maíz (y todos los silajes en general) aportan una carga adicional de ácido al rumen, que, en conjunción con la menor efectividad de su fibra en relación a los henos, favorece la caída del pH ruminal y la modificación de los patrones de biohidrogenación (Bach, 2002).
 - La incorporación de monensina, por la alteración del ambiente ruminal que provoca, es otro factor causante de la producción de isómeros responsables de MFD. La monensina es un antibiótico que inhibe el crecimiento de las bacterias Gram positivas en rumen y de esta forma se reduciría la tasa de biohidrogenación ruminal del ácido linoleico (Pérez, 2011).
 - La suplementación con lípidos protegidos de la degradación ruminal en vacas de alto potencial de producción en primer tercio de lactancia, es una alternativa que permitiría incrementar la concentración energética de las raciones reduciendo el riesgo de acidosis (Pérez, 2011).
 - Además de las cuestiones inherentes a la formulación de las raciones, es importante considerar también aspectos relacionados al racionamiento que pueden alterar los patrones de consumo y la estabilidad del pH ruminal a lo largo del día (Bretschneider, 2009; Pérez, 2011). Algunos de ellos son: espacio de comedero (se recomienda ≥ 70 cm/vaca); tiempo de acceso a la ración; consistencia en el suministro diario de las raciones (contenido de MS, proporción de cada alimento en la mezcla, uniformidad de mezclado); etc.

BIBLIOGRAFÍA

- BACH, A. 2002. Trastornos ruminales en el vacuno lechero: Un enfoque práctico. <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia.asp?ref=3494&pos=383> (25/02/15).
- BAUMAN, D.E. y GRIINARI, J.M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23: 203-227.
- BERGEN, W.G. 2009. Milk-fat depression and lipid repartitioning in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 139: 826-827.
- BRETSCHNEIDER, G. 2009. Acidosis ruminal en el ganado lechero. http://inta.gob.ar/documentos/acidosis-ruminal-en-el-ganado-lechero/at_multi_download/file/acidosis_ruminal_2009.pdf(25/02/15).
- FUENTES ÁLVAREZ, M.C. 2009. Modificación del perfil de ácidos grasos de la leche a través de la manipulación nutricional en vacas lecheras: el papel del rumen. Tesis Dr. Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Veterinària, Bellaterra, España.
- GALLARDO, M. 2002. El inicio de la primavera en el tambo: ¿Por qué baja la grasa en leche? http://rafaela.inta.gov.ar/proy_nac_lecheria/grasa_%20primavera.htm (25/02/15).
- LATRILLE, L. 2010. Metabolismo ruminal de los lípidos. En: Contreras, P.A. y Noro, M. eds. *Rumen: morfología, trastornos y modulación de la actividad fermentativa*. 3 ed. Valdivia: América.
- PÉREZ, C.L. 2011. Influencias de la alimentación en la composición química de la leche. Tesis Med. Vet. UNCPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias Tandil, Argentina.
- REARTE, D.H. 1993. Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. INTA CERBAS, Balcarce, Argentina.

WALKER, G.P., DUNSHEA, F.R. y DOYLE, P.T. 2004. Effects of nutrition and management on the production and composition of milk fat and protein: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55: 1009-1028.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS INOCULANTES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DEL ENSILAJE DE ALFALFA

MASSERA, A., GAGGIOTTI, M., ROMERO, L.*

INTA, EEA Rafaela. Ruta 34, km. 227 (CP 2300), Rafaela, Santa Fe (Argentina).

*E-mail: romero.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Un aspecto central de la lechería y la ganadería de la República Argentina es la utilización de forrajes conservados para equilibrar las deficiencias estacionales de la oferta forrajera de las pasturas y pastizales, corregir desbalances nutricionales y disponer de una fuente de alimento durante los momentos de escasez de forraje (Castignani *et al.*, 2005).

En las cuencas lecheras de Argentina, los ensilados de pasturas son predominantemente de alfalfa (*Medicago sativa*) (Bragachini *et al.*, 2008). El ensilado es un método de conservación de forrajes que se basa en la fermentación que las bacterias del ácido láctico (BAL) propias del material a ensilar (BAL nativas) realizan en condiciones anaeróbicas; durante la cual los hidratos de carbono solubles son transformados en ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico. Como resultado, disminuye el pH y así se conserva forraje por más tiempo (Driehuis y Elferink, 2000). En el caso de la alfalfa, el valor de pH generalmente no desciende de 4,5-5 debido al alto contenido de proteínas de esta leguminosa que actúa como tampón dificultando su disminución (Jahn, 1999). La caída del pH permite la conservación y aumenta la estabilidad aeróbica del ensilado una vez que éste es abierto para alimentar al ganado, ya que previene la multiplicación de clostridios y la germinación de esporas de hongos y levaduras que deterioran el ensilado y disminuyen su aptitud para el consumo animal (Dunière *et al.*, 2013; Fulgueira *et al.*, 2007).

Sin embargo, las condiciones a campo no siempre favorecen la multiplicación de las BAL nativas o incluso cuando se desarrollan a veces no logran la disminución del pH hasta los valores recomendados. Es por esto que la aplicación de aditivos bacteriológicos (inoculantes) para ensilaje se ha convertido en una herramienta estratégica para controlar el proceso de ensilado (Leroy y De Vuyst, 2004; Bragachini *et al.*, 2008). A pesar de esto, en muchas ocasiones las BAL nativas afectan la eficacia con que se establecen las BAL inoculadas porque compiten con éstas (Leroy y De Vuyst, 2004). El objetivo del presente trabajo fue evaluar durante dos años consecutivos el efecto de los cultivos iniciadores comerciales en base a bacterias lácticas sobre la fermentación, las características fisicoquímicas y la estabilidad aeróbica del ensilado de alfalfa.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Confección de los microsilos de alfalfa

El ensayo se llevó a cabo durante dos años consecutivos en los meses de otoño porque en esta época del año las condiciones agroecológicas impactan negativamente sobre el desarrollo y la actividad fermentativa de las BAL nativas, por lo que es recomendable el uso de un inoculante bacteriano comercial para asegurar la calidad del ensilado. Se confeccionaron microsilos con

alfalfa que llevaba al menos dos años de implantada. Las plantas de alfalfa fueron cortadas con equipamiento de campo estándar, se las dejó expuestas al aire durante 12 horas para lograr un contenido de materia seca de 40 % y finalmente se las trituró.

La alfalfa fue dividida en tres lotes correspondientes a un tratamiento testigo sin inocular (T) y dos tratamientos con inoculantes comerciales en polvo: (SMP) Silobac MP® (CHR Hansen) y (LS) LactoSilo® (BASF). Los inoculantes fueron hidratados con agua libre de cloro siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante y se los dejó activar durante 20 min a temperatura ambiente (20-25 °C), agitándolos cada 3 min para su mejor homogeneización. La solución de cada inoculante se colocó en un aspersor manual limpio con el cual se rociaron los lotes de alfalfa correspondientes. Los inoculantes fueron adicionados en el material fresco a razón de 2 g/t y 9 g/t de SMP y LS, respectivamente. Cada lote fue mezclado constantemente durante la aplicación para lograr una adecuada distribución del producto y luego se los dejó reposar 10 min antes de comenzar el armado de los microsilos. Estas dosis son las recomendadas por el fabricante para obtener en el ensilado de alfalfa una población de BAL inicial entre 5×10^5 y 1×10^6 UFC/g.

La confección de los microsilos se realizó colocando la alfalfa dentro de recipientes plásticos donde fue compactada para disminuir la presencia de aire. De esta manera, con cada lote se conformaron 15 microsilos de alfalfa de 15 kg cada uno, los cuales fueron cerrados herméticamente para evitar el ingreso de aire durante el proceso fermentativo. Esta cantidad de microsilos permitió la toma de muestras de cada ensayo por triplicado durante la fermentación.

2. Fermentación de los microsilos de alfalfa

El proceso fermentativo y la concentración de BAL en los microsilos se siguieron mediante la determinación del pH y el recuento de BAL, respectivamente. Para ello, se abrieron los microsilos de alfalfa a los 0, 1, 2, 3 y 30 días de fermentación. Una vez abierto el microsililo, se lo vació y se tomó una muestra de la parte media del ensilado. Se descartó la porción en contacto con el fondo del recipiente que pudiese haber estado afectada por los cambios de temperatura y la parte superior que estaba en contacto con la tapa, donde la anaerobiosis pudiese no ser total durante el proceso. Además se realizó el análisis fisicoquímico, el recuento de los microorganismos alteradores (clostridios gasógenos, hongos y levaduras) y la cuantificación de ácidos grasos volátiles (ácido láctico, ácido acético y ácido propiónico) a los 30 días y luego de tres días de abierto el ensilado para evaluar su estabilidad aeróbica.

2.1. Recuento de bacterias del ácido láctico y microorganismos alteradores

Para el recuento de BAL se pesaron 8 g de ensilado y se los colocó en la bolsa para homogeneizador Stomacher® 80 Biomaster (LabSystem, England), en la que se agregaron 72 ml de citrato de sodio al 2 % para obtener una dilución 10^{-1} . Ésta se homogeneizó durante 5 min a velocidad media y luego se tomó 1 mL para realizar diluciones decimales seriadas hasta 10^{-4} en agua peptonada. Las dos últimas fueron sembradas en la superficie de placas con agar MRS (OXOID) con natamicina al 0,1 % e incubadas en microaerofilia (10 % de dióxido de carbono) a 37°C durante 48 h. El recuento se llevó a cabo en las placas que tenían entre 30 y 300 colonias,

obteniéndose de esta manera el número de microorganismos viables (expresado en unidades formadoras de colonias, UFC/g).

El recuento de microorganismos alteradores se realizó en muestras de ensilado a los treinta días de proceso. Luego se dejaron estos ensilados abiertos durante 3 días a temperatura ambiente para que esté en contacto con el aire como ocurre a campo cuando se alimenta el ganado. Luego se tomó una muestra para evaluar microbiológicamente si estas condiciones afectan la estabilidad aeróbica del ensilado. El recuento de hongos y levaduras se llevó a cabo por siembra en placas con medio WL agar (OXOID) que fueron incubadas a 30 °C durante 48-72 horas. El recuento de clostridios productores de gas se realizó empleando la técnica de número más probable (NMP) por siembra en leche descremada con 10% solución de Annibaldi. Los tubos fueron sellados con un tapón de vaselina/parafina y las muestras fueron dejadas 10 min a 80°C para eliminar las células vegetativas y activar las esporas de los clostridios (Gaggiotti *et al.*, 2006). Los tubos se incubaron a 37 °C durante 48 h. Se consideró positivo todo tubo que mostró desplazamiento del tapón por la producción de gas y el resultado se expresó como NMP/g.

2.2. Análisis físico-químico del ensilado

Los análisis fisicoquímicos de rutina para los ensilados (pH, materia seca, proteína bruta y nitrógeno amoniacal) se llevaron a cabo utilizando las técnicas propuestas por el Programa para el Mejoramiento de la Evaluación de Forrajes y Alimentos (PROMEFA) del Centro de Investigación y Servicios en Nutrición Animal (CISNA) de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (Jaurena y Wawrzekiewicz, 2009). Estos análisis se complementaron con la determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (ácido láctico, ácido acético y ácido propiónico) por métodos de cromatografía líquida (Sánchez-Machado *et al.*, 2008).

2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos fue realizado con el software InfoStat/Professional versión 2011p (Estadística y Diseño, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina). La homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuos de los datos obtenidos fueron verificadas. El Análisis de la Varianza (ANOVA) seguido por el Test LSD Fisher para diferenciar entre las medias de los datos, fue utilizado para evaluar las diferencias significativas entre las medias de los datos obtenidos en los análisis químicos. Los datos obtenidos para el recuento de microorganismos alteradores fueron transformados, pero no cumplían con los supuestos de homogeneidad de la varianza y la normalidad de los residuos, por lo que sus medias se compararon utilizando el método no paramétrico de Kruskal-Wallis. El nivel de significancia considerado para todos los análisis fue de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante 2014 y 2015 se confeccionaron en los meses de otoño microsilos de alfalfa que fueron tratados con inoculantes bacterianos comerciales para evaluar el efecto que los mismos tienen sobre el proceso fermentativo, las características fisicoquímicas y la estabilidad aeróbica del ensilado.

El recuento inicial de BAL nativas fue de aproximadamente 5×10^5 y 5×10^4 UFC/g en 2014 y 2015, respectivamente. En cuanto a los ensilados de alfalfa inoculados en ambos años, el recuento inicial de BAL en todos los casos estuvo entre 5×10^5 y 1×10^6 UFC/g que es la cantidad recomendada para asegurar el inicio de la fermentación. En todos los ensayos realizados en 2014 y 2015, la población de BAL aumentó durante los primeros 3 días hasta alcanzar una concentración de 10^9 UFC/g que se mantuvo constante durante todo el ensayo (Figura 1). Generalmente los ensilados confeccionados en primavera tienen mayor calidad debido a que la concentración de azúcares en la planta es más elevada y a que el desarrollo de las BAL se ve favorecido por las condiciones ambientales. Los ensilados que se confeccionan en verano tienen calidad regular a causa de que el pasto se seca muy rápidamente por lo que no hay tiempo suficiente para un buen desarrollo de las BAL, lo que provocaría ciertas dificultades en la fermentación. Los ensilados de otoño son los de peor calidad porque en esta época se combinan tres condiciones desfavorables como son la frecuencia de lluvias de la época que impide que el material se seque en forma pareja, la aún menor concentración de azúcares en la planta y las bajas temperaturas que no permiten un buen desarrollo bacteriano (Bragachini *et al.*, 2008). El uso de inoculantes en 2015 permitió corregir la escasa presencia de BAL que había al principio de la fermentación como consecuencia del efecto adverso de las condiciones agroecológicas sobre la población de BAL nativas, y así eliminar una variable que pudiera afectar la calidad del ensilado.

La actividad fermentativa del inoculante SMP fue afectada por la concentración inicial de BAL nativas. La concentración de BAL nativas cercana a la del inoculante (1×10^6 UFC/g) al inicio de la fermentación, hizo que el pH se mantuviera constante durante 24 h antes de comenzar a descender en 2014; mientras que la caída del pH fue inmediata en 2015 cuando la población de BAL nativas fue 20 veces más baja que la del inoculante al momento de comenzar la fermentación. En ambos años se observó que SMP produjo el mayor descenso de pH durante los primeros tres días, siendo este valor de entre 1 y 1,2 con respecto al valor inicial (Figura 1). El pH desciende otros 0,4-0,5 puntos hasta el final del proceso donde el valor de pH es de aproximadamente 4,7 en ambos años (Figura 1 y Tabla1).

Figura 1. Recuento de bacterias del ácido láctico y análisis de pH durante el proceso fermentativo de ensilados de alfalfa sin inocular (Testigo =T) y en aquellos tratados con los inoculantes comerciales Silobac MP® (SMP) y LactoSilo® (LS), durante 2014 (A) y 2015 (B).

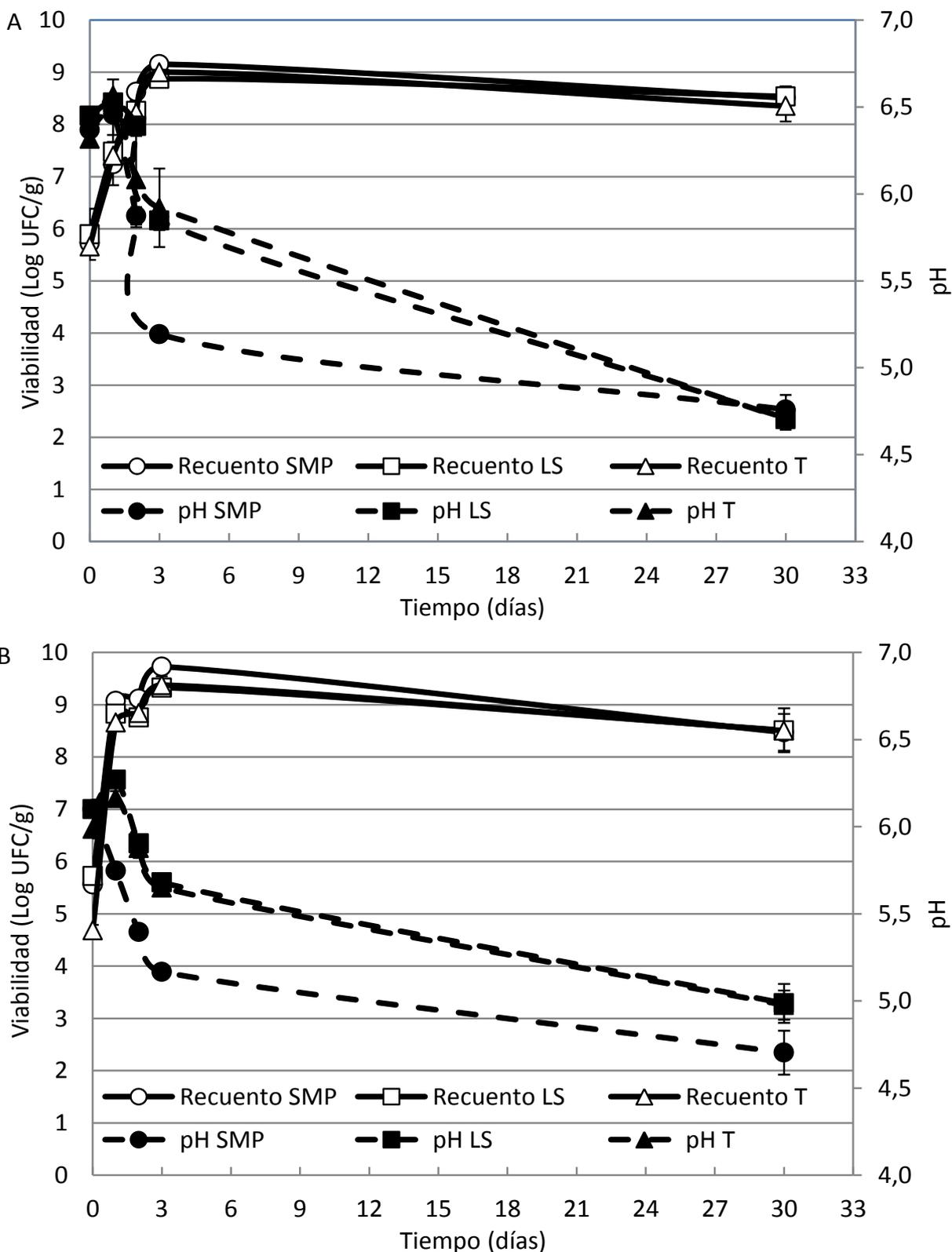


Tabla 1. Características fisicoquímicas de los ensilados de alfalfa al inicio y al final del proceso fermentativo (30 días) llevado a cabo sin inocular (Testigo) e inoculando con diferentes cultivos iniciadores de bacterias lácticas comerciales (Silobac MP® y LactoSilo®), durante 2014 y 2015.

	2014				2015			
	Inicial	Final			Inicial	Final		
		Silobac MP	LactoSilo	Testigo		Silobac MP	LactoSilo	Testigo
pH	6,38±0,07	4,76±0,13 ^a	4,71±0,01 ^a	4,70±0,08 ^a	6,08±0,07	4,70±0,13 ^a	4,99±0,11 ^b	4,98±0,08 ^b
NH ₃ /NT ¹ (%)	ND	10,26±2,72 ^a	8,11±0,94 ^a	9,32±2,42 ^a	ND	11,55±3,43 ^a	13,37±2,91 ^a	10,68±2,15 ^a
Materia seca (%)	40,68±0,70	39,27±0,82 ^a	40,71±0,85 ^a	39,20±1,03 ^a	41,10±0,45	40,47±0,17 ^{ab}	40,87±0,33 ^b	40,28±0,35 ^a
Proteína bruta (%)	20,60±0,78	21,14±0,81 ^a	20,57±0,94 ^a	20,22±0,55 ^a	21,96±0,80	21,61±0,18 ^a	21,31±0,29 ^a	21,40±0,23 ^a
Ácido láctico ² (%)	ND	5,38±2,04 ^a	6,61±1,71 ^{ab}	9,21±1,74 ^b	ND	4,93±0,64 ^a	4,97±0,74 ^a	6,50±1,40 ^a
Ácido acético ² (%)	ND	1,82±0,44 ^a	1,32±0,13 ^a	1,57±0,19 ^a	ND	1,47±0,25 ^a	1,60±0,36 ^a	2,07±0,23 ^a
Ácido propiónico ² (%)	ND	0,34±0,07 ^a	0,39±0,06 ^a	0,58±0,08 ^b	ND	ND	ND	ND

¹Referencias: NH₃/NT: amoníaco/nitrógeno total. ND: No detectado.

²Expresado en base seca.

^{ab}Los datos son medias de tres réplicas ± desvío estándar. Los números con diferentes letras dentro de una misma fila difieren con un p<0,05 (LSD de Fisher).

En cuanto al inoculante LS se observó un comportamiento similar al del testigo sin inocular (T) durante todo el ensayo, el cual se repitió durante los dos años evaluados. Resultados similares se observaron en ensayos previos, donde las BAL del inoculante LS no pudieron dominar la fermentación y recién fueron aisladas del ensilado a los 30 días del proceso fermentativo (Cristiani, 2015). En ambos años, en los ensilados LS y T, la actividad fermentativa comenzó entre 1 y 2 días después que estos fueron confeccionados. Al día 3 del ensayo de 2014, el pH había descendido entre 0,7 y 0,4 puntos en los tratamientos LS y T, respectivamente (Figura 1A). En 2015, el pH en LS y T presentó una disminución para ese mismo período de 0,4 y 0,3 puntos, respectivamente (Figura 1B). Al final del proceso fermentativo, ambos tratamientos (LS y T) alcanzaron un valor de pH de 4,7 en 2014 y 5 en 2015 (Figura 1 y Tabla 1). Esta diferencia interanual pudo deberse a que la población inicial de BAL nativas fue más elevada en 2014 que en 2015, lo que le permitió dominar rápidamente la fermentación y lograr una mayor disminución de pH. Jahn (1999) indica que la concentración de BAL en el ensilado debe ser de al menos 10^6 UFC/g para que el pH comience a descender rápidamente y así se reduzcan las pérdidas de la calidad nutricional del ensilado.

La dinámica de crecimiento, la supervivencia y la actividad bioquímica que presenten los microorganismos en los alimentos dependen de las respuestas de los mismos ante las condiciones de estrés a las que son sometidos durante la fermentación, de su capacidad de colonizar la matriz alimentaria, de su crecimiento con una distribución espacial heterogénea, y de las interacciones célula-célula que ocurren a menudo en una fase sólida (Giraffa, 2004). El número inicial de BAL nativas en el ensilado es un factor que puede afectar la preservación del ensilado y su población puede ir de 5×10^4 a 2×10^7 UFC/g (Harpster *et al.*, 1985; McAllister *et al.*, 1998; Filya *et al.*, 2007). Las BAL del inoculante SMP compitieron con las BAL nativas y dominaron rápidamente el proceso fermentativo logrando en menos tiempo la estabilidad microbiológica del producto, mientras que el inoculante LS no logró imponerse en el ensilado.

Los valores de las características fisicoquímicas del ensilado corresponden a las de un ensilado de buena calidad que no sufrió degradación proteica. En la mayoría de los tratamientos evaluados en 2014 y 2015, no se observaron diferencias significativas para los valores de ácidos grasos volátiles. Solo la concentración de ácido láctico cuantificada en el tratamiento T fue significativamente mayor a la de los ensilados inoculados con SMP en 2014. Esta diferencia pudo deberse a la elevada concentración de BAL nativas en el material a ensilar, mientras que en el tratamiento donde el inoculante LS coexiste con las BAL nativas se obtuvo un valor intermedio de ácido láctico (Tabla 1).

Los valores de pH en los ensilados obtenidos en 2014 y 2015 estuvieron entre los valores de 4,5-5 sugeridos por Jahn (1999) para lograr la estabilidad microbiológica del ensilado de alfalfa (Tabla 1). Los microorganismos alteradores de los ensilados están presentes naturalmente en la alfalfa. Los hongos y levaduras se multiplican durante las primeras fases del ensilado hasta que su crecimiento se inhibe porque el ambiente se vuelve anaeróbico y el pH desciende. Si el pH no desciende rápidamente o el valor alcanzado al final del proceso no es lo suficientemente bajo, una vez que el ensilado se abre, las los hongos y las levaduras comienzan a crecer utilizando los ácidos orgánicos. Esto produce un aumento de pH y etanol, una disminución de la materia seca e

incrementa el riesgo de producción de micotoxinas; lo que implica tanto una pérdida del valor nutricional del ensilado como un riesgo para la salud tanto humana como animal (Driehuis y Elferink, 2000; Dunière *et al.*, 2013). Estudios previos en ensilados de alfalfa realizados en nuestro país por Gaggiotti y otros (2001 y 2006), indican que los mismos presentan elevadas concentraciones de microorganismos patógenos y/o alteradores (hongos productores de micotoxinas y clostridios gasógenos). En el presente trabajo, la concentración de hongos y levaduras y de clostridios gasógenos en todos los tratamientos fue $<10^4$ UFC/g y <100 NMP/g, respectivamente. El escaso desarrollo de microorganismos alteradores observado pudo estar relacionado con el rápido crecimiento de las BAL que generó anaerobiosis y el valor de pH <5 en los ensilados al final del proceso. Considerando los criterios de calidad para ensilajes de Italia y Francia, estos valores de recuento de clostridios gasógenos corresponden a ensilados de óptima y muy buena calidad, respectivamente (Bottazzi, 1983; Coussi, 1988). Todos los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos evaluados se mantuvieron constantes aun cuando los ensilados estuvieron abiertos durante tres días, lo que indica que los mismos poseen una adecuada estabilidad aeróbica (datos no mostrados).

En trabajos previos donde se evaluó el uso de cultivos iniciadores (inoculantes) en matrices complejas como carne y vino, se ha observado que el éxito de la fermentación depende de los microorganismos inoculados como así también de las características del sustrato a fermentar (Gockowiak y Henschke, 2003; Giraffa, 2004; Leroy y De Vuyst, 2004; Massera *et al.*, 2009). Nuestros resultados indican que los productos fermentados son matrices complejas donde interaccionan tanto sus características físicas (temperatura, pH, etc.) como biológicas (nutrientes, biota nativa, ácidos orgánicos, etc.) pudiendo provocar una inhibición parcial o total del crecimiento y de la capacidad fermentativa de las BAL inoculadas. Es necesario llevar a cabo el estudio de cada cultivo iniciador comercial en la matriz que se desea fermentar para comprender de qué manera los diferentes factores que la componen afectan a los microorganismos, y así asegurar su implantación y las características del producto.

CONCLUSIONES

Las condiciones agroecológicas actúan sobre el cultivo de alfalfa de manera tal que afectan la concentración inicial de BAL nativas y no aseguran que dicha concentración sea lo suficientemente elevada como para que éstas inicien rápidamente el proceso fermentativo y logren descender el pH hasta un valor óptimo. A su vez, el ensilado de alfalfa es una matriz compleja donde los diferentes factores que la componen interaccionan de manera tal que afectan el proceso fermentativo llevado a cabo por los microorganismos inoculados y las características físico-químicas del producto. En este sentido, las BAL propias del ensilado de alfalfa afectan de manera diferente la capacidad para dominar y llevar a cabo la fermentación de los distintos inoculantes bacterianos, por lo que se hace necesaria la evaluación de los mismos en cada ambiente para encontrar el que mejor se adapte al mismo.

Finalmente, la aplicación de inoculantes comerciales capaces de competir con la biota nativa reduce el riesgo de demoras en la fermentación como consecuencia de la baja concentración inicial de BAL que puede ocurrir en condiciones agroecológicas más desfavorables como suele ocurrir

durante el otoño. El inoculante adecuado es aquel capaz de dominar el proceso fermentativo y reducir rápidamente el pH para evitar el desarrollo de microorganismos alteradores dándole estabilidad aeróbica al ensilado de alfalfa.

BIBLIOGRAFÍA

- Bottazi, V. 1983. Clostridi e fermentazioni butirriche dei formaggi. *L'industria del latte*. Año XIX, N° 3, julio-septiembre: 3-26.
- Bragachini M., Cattani P., Gallardo M. y Peiretti J. 2008. Forrajes conservados de alta calidad y aspectos relacionados al manejo nutricional. INTA-PRECOP II. Manual técnico N° 6. INTA EEA Manfredi, Córdoba (Argentina). [En línea]. [Consulta: acceso abril 2013]. URL:<http://www.cosechaypostcosecha.org/data/pdfs/forrajes.asp>
- Castignani, H., Zehnder, R., Gambuzzi, E. y Chimicz, J. 2005. Caracterización de los sistemas de producción lecheros argentinos, y de sus principales cuencas. [En línea]. [Consulta: acceso abril 2013]. URL: http://anterior.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/economia/sistemas_produccion_lechera.pdf.
- Coussi, G. 1988. Butyrique et fermentation butyrique. *Dossiers Techniques Vétérinaires*. Julio: 75-96.
- Cristiani, M. 2015. Evaluación de la aptitud microbiológica de los inoculantes bacterianos empleados en la conservación de los silos de alfalfa. Tesis de grado, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. 54 pp.
- Driehuis, F., y Elferink, S.O. 2000. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. *Vet. Q.* 22(4): 212-216.
- Dunière, L., Sindou, J., Chaucheyras-Durand, F., Chevallier, I. y Thévenot-Sergentet, D. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Sci. and Tech.* 182: 1-15.
- Filya, I., Muck, R.E. y Contreras-Govea, F.E. 2007. Inoculant effects on alfalfa silage: fermentation products and nutritive value. *J. Dairy Sci.* 90(11): 5108-5114.
- Fulgueira, C.L.; Amigot, S.L.; Gaggiotti, M.; Romero, L.A. y Basílico, J.C. 2007. Forage Quality: Techniques for Testing. *Fresh Produce* 1(2): 121-131.
- Gaggiotti, M.C., Basílico, J.C., Romero, L.A., Basílico, M.Z., Caffaratti, S. y Quaino, O.A. 2001. Eficacia del uso de vomitoxina como indicadora de la presencia de otras micotoxinas en silajes. Libro de resúmenes del "XVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal". La Habana (Cuba).
- Gaggiotti, M.C., Calvino, L. y Reinheimer, J. 2006. Reducción de la contaminación por clostridios gasógenos en forrajes conservados. En: "Avances en microbiología, bioquímica y tecnología de quesos". Reinheimer, J., Zalazar, C. (Eds.). 1° ed. Santa Fe, Argentina, Ediciones Universidad Nacional del Litoral, pp. 23-44.
- Giraffa, G. 2004. Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation. *FEMS Microbiol Rev.* 28: 251-260.
- Gockowiak H. y Henschke P. 2003. Interaction of pH, ethanol concentration and wine matrix on induction of malolactic fermentation with commercial "direct inoculation" starter cultures. *Aust. J. of Grape and Wine Res.* 9(3): 200-209.
- Harpster, H. W., Wilson L. L., Anderson P. M. y Kjelgaard, W. L. 1985. New approaches in silage preservation and storage. Libro de resúmenes del "Forages the keys tone of agriculture - Forage and Grassland Conference". Hershe, Pennsylvania, Estados Unidos, pp. 33-34.
- Jahn, B.E. 1999. Conservación de forrajes de alta calidad. Seminario internacional. Serie Quilamapu 100, pp. 12-29.
- Jaurena, G. y Wawrzekiewicz, M. 2009. Programa para el mejoramiento de la evaluación de forrajes y alimentos (PROMEFA). Guía de procedimientos analíticos Año 2009. [En línea] [Consulta: 11 de Agosto de 2011]. URL: <http://www.agro.uba.ar/agro/servicios/cisna/documentacion/index.htm>.
- Leroy, F. y De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* 15(2): 67-78.
- Massera, A., Soria, A., Catania, C., Krieger, S. y Combina, M. 2009. Simultaneous inoculation of Malbec (*Vitis vinifera*) musts with yeast and bacteria: effects on fermentation performance, sensory and sanitary attributes of wines. *Food Tech. and Biotech.* 47(2): 192-201.

- McAllister, T. A., Feniuk, R., Mir, Z., Mir, P., Selinger, L. B. y Cheng, K. J. 1998. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livest. Prod. Sci.* 53(2): 171-181.
- Sánchez-Machado, D.I., López-Cervantes, J. y Martínez-Cruz, O. 2008. Quantification of organic acids by HPLC. *Food Tech. and Biotech.* 46(4): 456-460.



GENÉTICA

UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE LECHE INTENSIVA SÍNTESIS HISTÓRICA 1981-2009 Y RESULTADOS OBTENIDOS A PARTIR DE LAS INCORPORACIONES DE LAS CRUZAS

VERA, M.¹; TIERI, M.P.¹; MACIEL, M.¹; FRANCO, L.¹; COMERÓN, E.¹; SCÁNDOLO, D.¹ y
ROMERO, L.¹.

¹INTA EEA Rafaela. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;

* Autor de contacto: vera.milba@inta.gob.ar.

INTRODUCCIÓN

La Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) está ubicada en la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del INTA de Rafaela, en el centro oeste de la Provincia de Santa Fe (lat. Sud: 31°12', Long Oeste: 61°30' a 99msnm). Desde que fue creada, en el año 1981, pasó por la aplicación de diferentes modelos de producción con la finalidad de determinar la eficiencia y la rentabilidad de un sistema de producción de leche, resultantes de la integración de técnicas de manejo (Calcha y otros, 1994; Gallardo y otros, 1998). Distintos planteos de intensificación fueron modificando algunos componentes y características del sistema a través de los años (Tabla 1).

Tabla 1. Características más destacables de los procesos de intensificación de la Unidad de Producción de Leche Intensiva – UPLI (Tieri y otros, 2014)

Ciclo	Tipo de animal	Dietas-FV:FC:C	Producción individual (L/VO/día)	Carga VT/ha VT	Productividad L/haVT/año kgSU/haVT/año	Tipo de sistema
1981-1987	Holando	82:8:10	17	1,5	6.980 litros	Pastoril de baja suplementación con pariciones continuas
1988-1993 Transición	Holando	80:10:10 a 70:10:20	19,5	1,6	8.540 litros	Pastoril de baja suplementación con pariciones continuas
1994-1998	Holando	40:30:30	24	2,2	15.400 litros 1015 kg SU	Pastoril de alta suplementación con pariciones bi-estacionales
2000-2006	Líneas puras Holando (H), Jersey (J) y cruza HxJ	75:10:15 y 40:30:30	23	2,2	14.800 litros 1.090 kg SU	Agrícola-tambero Pastoril de alta suplementación en otoño con pariciones bi-estacionales
2007-2009	Cruzas HxJ	60:10:30	23	2,6	17.400 litros 1.300 kg SU	Pastoril de alta suplementación con pariciones bi-estacionales

FV:FC:C Forraje verde: forraje conservado: Concentrado; VT = vaca total; SU = Sólidos útiles (GB+PB), L/haVT/año= litros de leche producidos por unidad de superficie (hectárea vaca total) en el año, Kg SU/haVT/ año= kg de sólidos útiles producidos por unidad de superficie en el año, Calcha y otros (1982); Andreo y otros (1992); Gallardo y otros (1996); Comerón y otros (2007) y Baudracco y otros (2011).

Entre **1981 e inicios de la década del '90**, la UPLI funcionó como un sistema pastoril con bajo nivel de suplementación, utilizando pasturas de base alfalfa, de base achicoria y avena en pastoreo directo, y suplementando con heno y grano de sorgo (20% de la MS total) (Calcha y otros, 1982). Luego se fueron introduciendo cambios en la dieta, incorporando otros alimentos como: a) silaje de maíz o sorgo, que permitió sostener una carga mayor y/o más estable, b) subproductos (semilla de algodón, afrechillo de trigo, expeler de soja y girasol) o balanceados formulados. Todos estos alimentos sumados a la pastura de alfalfa y el heno, permitieron mejorar la calidad de la dieta ofrecida. Según Andreo y otros (1996) el paquete tecnológico aplicado permitió alcanzar niveles de productividad aceptables. El sistema respondió a la demanda tecnológica de la época y contribuyó al mejoramiento de los establecimientos lecheros de la región.

Desde **inicios de la década del 90**, la dieta siguió siendo modificada para responder a los mayores requerimientos de los animales en cuanto al aporte y balance de nutrientes, llegando a mantener una proporción de alrededor del 33% por cada “grupo” de alimento: forrajes conservados (silaje+heno), concentrado (subproductos+cereales), forraje fresco (alfalfa, verdeos). Se realizó una importante inversión para la reestructuración del tinglado de ordeño y se introdujeron estrategias de manejo que trataron de mejorar la eficiencia de utilización de los recursos (especialmente pasturas) y la sincronización en el aporte de los nutrientes (proteína, energía, FDN efectiva). Un ejemplo es el uso del mixer y distribución de una parte de la dieta, preoreo con aprovechamiento directo de andanas y el manejo diferencial según lotes de animales y/o estación del año (Gallardo y otros, 1996). Gallardo y otros (1998) concluyeron que con procesos e insumos poco variables la productividad fue aumentando sustancialmente a través de los años, en gran medida como consecuencia de una planificación y control cada vez más ajustados de las principales tecnologías de proceso.

A **partir del 2000** se replantearon los objetivos de la unidad en la búsqueda de aumentar en forma sostenida la eficiencia física (kg SU/ha VT/año) y económica – financiera de la empresa e incrementar la calidad composicional de la leche producida. Para ello se introdujeron estrategias de tipo comercial (agricultura y tambo), racial (Holando y cruza HxJ), reproductiva (pariciones bi-estacionadas con alternancia de grupos raciales) y alimenticia (dietas según época del año: otoño 40:30:30 y primavera 75:10:15). Se aplicó un cruzamiento dialélico alterno rotacional con el objetivo de mantener en generaciones sucesivas, parte de la heterosis lograda en la primera generación. Luego de varias generaciones todos los animales serían 67% H: 33% J o 67% J: 33% H dependiendo de la generación. Esto trajo como consecuencia el mejoramiento de la composición química de la leche, del desempeño reproductivo y de la eficiencia productiva general de los animales en comparación con las razas puras (Vera y otros, 2008). El esquema de cruzamiento para dos razas se muestra en la Figura 1.

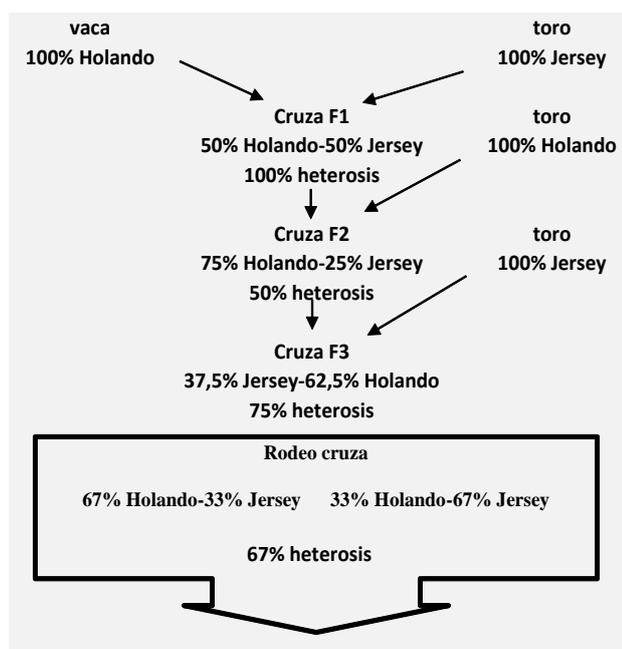


Figura 1: Cruzamiento rotacional alterno Holando – Jersey

RESULTADOS 2000 a 2006 – Incorporación de la craza al sistema de producción

En el período 2003 a 2006 se realizó la evaluación de las líneas puras y sus cruza (F1 y F2). En la Tabla 2 se presentan los resultados. La F1 presentó heterosis con respecto a la media de ambos parentales (líneas puras contemporáneas Holando y Jersey). La F2 mantuvo los valores de producción cercanos o levemente mayores a la media de las razas puras, pero no menores al parental de menor valor (Vera y otros, 2008). Se observó efecto de año y época de parto (datos no presentados) sobre la producción de litros de leche (litros), gramos de grasa (g GB), gramos de proteína (g PB), porcentaje de grasa (%GB) y porcentaje de proteína (%PB) (Cuatrín y otros 2009).

Tabla 2. Promedios y desvíos (entre paréntesis) de producción de leche (litros/VO/día), grasa (g y % GB) y proteína (g y % PB) del período 2003-2006 en la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI)

	H	J	F1	F2	Media (H y J)
litros/VO/día	22,6(6,3)	16,5(5,1)	19,7(6,1)	18,7(5,1)	19,6
g GB	793,9(241,2)	702,2(259,4)	805,1(258,6)	757,4(203,5)	748,1
g PB	734,8(197)	600,4(198,7)	716,4(214,7)	665,1(179,6)	667,6
% GB	3,5(0,6)	4,4(0,9)	4,2(0,8)	4,1(0,9)	4,0
% PB	3,3(0,4)	3,8(0,5)	3,7(0,5)	3,6(0,5)	3,5

La eficiencia reproductiva del sistema, entre 2004 y 2006, se evaluó según los parámetros reproductivos del InCalf Project, Dairy Research and Development Corporation (DRDC) de Australia (Tabla 3). El bloque de pariciones de otoño (febrero, marzo y abril) estaba compuesto por vacas Holando, mientras que el de primavera (julio, agosto y setiembre) por la misma proporción de Holando y cruza (F1 y F2).

Tabla 3: Tasa de concepción a primer servicio (TC 1ra IA), tasa de concepción general (TCG), porcentaje de inseminación en las tres primeras semanas de servicio (% IA 3S), porcentaje de preñez a las seis semanas de iniciado los servicios (% P 6S) y porcentaje de preñez general (% PG) en primavera y otoño.

	Primavera			Otoño
	Cruzas	Holando	Total	Holando
TC 1ra IA	44,0	40,0	43,2	38,5
TCG	50,0	45,7	48,7	47,5
% IA 3S	84,0	50,0	70,0	66,3
% P 6S	60,0	41,0	52,7	52,0
% PG	88,0	72,0	83,0	86,7

El rodeo de cruzas tuvo mejores desempeños reproductivos que el Holando en los partos de primavera. Sin embargo, en otoño las vacas Holando tuvieron una eficiencia similar a las cruzas de primavera. En este sentido, se percibió la influencia de la estrategia alimenticia (nivel de suplementación), favorable para el Holando en otoño y no así en primavera donde se observó un mejor comportamiento de las Cruzas con una mayor proporción de pasto en la dieta (Comerón y otros, 2006).

RESULTADOS 2007 a 2009:

Entre el 2007 y el 2009 se desarrolló un ensayo bajo la metodología de “sistemas” que fijaba 3 niveles de carga y (1,6; 2,1 y 2,6 VT/haVT/año) involucrando solamente vacas cruzas HxJ de parición invierno primaveral (Baudracco y otros, 2011). Se alcanzó una productividad máxima de 17.400 litros/haVT/año y 1.300 kg SU/haVT/a y una producción individual levemente superior a los 7.000 litros/lactancia 305 días con el 3,93 y 3,58 % de GB y PB, respectivamente. La dieta estaba compuesta por un 60% de pasturas, 10% de silaje y heno y 30% de concentrado. La Tabla 4 expone un resumen de los resultados productivos para los tres niveles de carga evaluados.

Tabla 4. Duración de la lactancia (días), producción anual de leche y sólidos útiles (SU= grasa butirosa + proteína bruta) por vaca y por hectárea (kg), y peso vivo (kg) de vacas sometidas a una carga animal de 1,6, 2,1 o 2,6 VT/haVT (promedio de los dos años de ensayo).

	Carga animal (VT/haVT)		
	1,6	2,1	2,6
Largo de lactancia (días)	304	300	304
Productividad: Leche (kg /vaca/año)	7.111	6.508	6.722
Sólidos útiles (kg SU/vaca/año)	525	486	503
Productividad: Leche (kg /hectárea/año)	11.378	13.818	17.153
Sólidos útiles (kg SU /hectárea/año)	840	1.032	1.284
Peso vivo al parto (día 1 de lactancia, kg)	472	473	463
Cambio de peso vivo durante lactancia (kg)	54	52	47

En la Tabla 4 se observa que, a medida que se incrementa la carga animal, los animales aumentan la eficiencia de cosecha (+13,2% mayor en carga alta que en carga baja), sin afectar en forma significativa ni la producción individual de leche, ni la de SU ni el consumo individual de pastura (1,1 kg más en carga baja que en alta). El desempeño reproductivo se evaluó por medio del porcentaje de inseminaciones artificiales (%IA) a la tercera semana, porcentaje de preñeces a las 6 semanas, porcentaje de preñeces al primer servicio y porcentaje de preñez general. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Tasa de concepción a primer servicio (TC 1ra IA), porcentaje de inseminación en las tres primeras semanas de servicio (% IA 3S), porcentaje de preñez a las seis semanas de iniciado los servicios (% P 6S) y porcentaje de preñez general (% PG) de vacas cruza (HxJ) sometidas a tres niveles de carga animal (promedio de los dos años de ensayo)

	Carga animal (VT/haVT)		
	1,6	2,1	2,6
TC 1ra IA	45	41	53
% IA 3S	74	80	73
% P 6S	69	66	60
% PG	77	85	75

Con el aumento de la carga animal se incrementó marcadamente el consumo de pastura (2.532 kg MS/ha mayor en carga alta que en baja), y el de concentrados consumidos (1.658 kg MS/ha mayor en carga alta que en baja), la producción de leche por hectárea efectiva y el ingreso neto del sistema por hectárea total (primer año analizado).

CONSIDERACIONES FINALES

La UPLI, a lo largo de su historia, ha dado información muy valiosa que no solo ha sido la base de trabajos sucesivos, sino que también ha aportado al mejoramiento de la eficiencia de los sistemas de producción de leche de la zona. La combinación e implementación de estrategias, acordes a los escenarios planteados en su momento, han resultado en el aumento de la rentabilidad del sistema de producción.

Desde la incorporación de animales cruza, los ensayos realizados han dado lugar a la propuesta de intensificación a través del aumento de la carga.

BIBLIOGRAFÍA

- Andreo, N.A., Comeron, E.A., Schilder, E., Lasser, A., 1996. Índices para la evaluación de los establecimientos lecheros. Revista INTA, Publicación miscelánea N° 81. ISSN 0325-9137. p. 191-125.
- Baudracco, J., Lopez-Villalobos, N., Romero, L.A., Scandolo, D.A., Maciel, M., Comerón, E.A., Holmes, C.W. y Barry, T.N. 2011. Effects of stocking rate on pasture production, milk production and reproduction of supplemented crossbred Holstein-Jersey dairy cows grazing lucerne pasture. Animal Feed Science and Technology 168: 131-143.

- Calcha, N.A., Comerón, E.A., Bruno, O.A. 1982. Sistema de producción lechero mejorado para el área centro-oeste de Santa Fé. *Rev.Arg.Prod.Anim. Resúmenes del IX Congreso Argentino de Prod. Anim. Vol 2 (5) 470-471.*
- Comerón, E.A., Moretto, L.A., Maciel, M. y Cuatrin, A.L., 2006. Desempeño de vacas Jersey y Holando paridas en invierno. 2.- Producción de leche y reproducción. *Rev. Arg. Prod.Animal Vol. 26, Supl. 1, 322-324.*
- Comerón, E.A., 2007. Eficiencia productiva de los sistemas lecheros en zonas templadas (con especial referencia a América Latina y a Argentina). *Archivo Latinoamericano Prod. Animal, Vol. 15, 141-143. XX Reunión ALPA y XXX Reunión AAPA, Cusco, Perú.*
- Cuatrin, A., Vera, M., Franco, L.; Maciel, M.; Scandolo, D.; Romero, L. y Comerón, E. 2009. Razas y cruza lecheras: Efectos sobre la producción y composición de leche. *Rev.Arg.Prod.Anim. Resúmenes XXXI Congreso Argentino de Producción Animal. 14 al 16 de Octubre de 2009.*
- Dairy Industry Research and Development - Dairy Australia. 2016. Página web: [Dairyaustralia.com.au](http://www.dairyaustralia.com.au). URL: <http://www.dairyaustralia.com.au/Industry-information/Research-and-development.aspx>. Última visita 12 de septiembre de 2016.
- Gallardo, M. R., S. G. Onetti, A. R. Castillo y J. O. Nari. 1996. Proteína en leche y su relación con el manejo nutricional. En: "Temas de producción lechera". Publicación miscelánea N° 81: 133-151.
- Gallardo, M.R., y Castillo A.R. 1998. Producción lechera: modelos pastoriles de alta eficiencia. Área de Producción Animal. EEA Rafaela. Informe Técnico N° 142.
- Tieri M.P., Comerón E.A., Pece M.A., Herrero M.A., Engler P., Charlón V., García K., 2014. Indicadores utilizados para evaluar la sustentabilidad integral de los sistemas de producción de leche con énfasis en el impacto ambiental. Publicación Miscelánea – ISSN 2314-3126 - año 2 nro. 1 versión ON LINE.
- Tieri, M.P., Pece, M., Comerón, E., Maciel, M., Scándolo, D., Castignani, H., Salado, E., Romero, L., Berca, R., Vera, M., Herrero, M.A., Charlón, V. y García, K. 2014. Evaluación de la sustentabilidad de un tambo de alta productividad con especial énfasis en los aspectos ambientales. INTA. ISSN 2314-3126. Año 2 – N° 2.
- Vera M, Romero L, Comerón E y Maciel M. 2008. Heterosis en los contenidos de porcentaje de grasa y proteína en leche logrado por cruzamiento alterno rotacional de dos razas lecheras bovina. *Producir XXI, Bs. As., 16(198):12-18.*
- Vera, M; Comerón, E.; Baudraco, J.; Scándolo, D. y Maciel, M.G. 2011. Biotipos. Cosas del vigor híbrido *Revista Chacra-Julio 2011.*

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE *Panicum coloratum* var. *makarikariense*TOMÁS, M. A.^{1*}; GIORDANO, M.²; CARDAMONE, L.²; PILATTI, V.²; ARMANDO, L.²¹INTA EEA Rafaela. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;²Becaria CONICET* Autor de contacto: tomas.maria@inta.gob.ar**INTRODUCCIÓN**

La expansión de cultivos extensivos (tales como soja, maíz, trigo y girasol) es un fenómeno emergente tanto del cambio climático, que ha ampliado la superficie potencial para su producción, como del interés económico actual por los mismos. Como consecuencia la ganadería se ha visto expulsada hacia zonas marginales de menor aptitud productiva (Humphreys y col., 2011; Manuel-Navarrete y col., 2009). La lechería en particular, ha tenido reciente incremento en zonas no tradicionales en Argentina, lo que impulsa la búsqueda de soluciones tecnológicas utilizadas en otros países con diferentes condiciones edafo-climáticas. En Brasil por ejemplo, el desarrollo de la lechería se ha basado tanto en el aumento del potencial genético del ganado, como en la disminución de los costos de producción, mayoritariamente a través de la utilización de pasturas de calidad. En este sentido, la mayor parte de los forrajes cultivados en este país son de los géneros *Brachiaria* y *Panicum* (Souza Sobrinho y Machado Auad, 2013). Estos pastos pertenecen a un grupo conocido como megatérmicas, debido a su diferente metabolismo fotosintético (Sage, 2004). A su vez, estas especies tienen crecimiento estival, toleran altas temperaturas y en general condiciones de sequía, salinidad y otros estreses abióticos (Petruzzi y col., 2003).

Buenas productoras de forraje en cantidad y poseedoras de relativamente buena calidad, las especies forrajeras megatérmicas presentan en general, problemas de implantación, atribuidos frecuentemente a baja calidad de la semilla (Moser, 2000). Por otra parte, uno de los factores que podría determinar el éxito en el establecimiento de la pastura es el tamaño de la semilla (Young y Tischler 1994). Varios programas de mejoramiento de diferentes especies de gramíneas forrajeras se han centrado en caracteres de la semilla, especialmente tamaño y rendimiento (Wright, 1976; Abbott y col., 2007).

Panicum coloratum es una especie perenne, estival, de polinización abierta y de origen africano. En Argentina las variedades más difundidas de la especie son: var. *coloratum*, común en suelos arenosos y tolerante a las heladas cuyo cultivar más conocido es el “Klein” y la var. *makarikariense*, adaptada a suelos arcillosos pesados, en áreas con variabilidad climática con ciclos alternados de excesos hídricos y sequía, siendo su cultivar más difundido el “Bambatsi”. En USA, donde se trabajó en la var. *coloratum*, los esfuerzos para mejorar la implantación y la producción de semilla fueron exitosos, obteniéndose el cv. Klein-Verde, difundido en la región pampeana semiárida por su tolerancia a heladas, sequía y salinidad (Petruzzi y col., 2003).

El INTA EEA Rafaela cuenta con una colección de germoplasma de ambas variedades que han sido evaluadas en sus características productivas y también en cuanto a su variabilidad genética (Armando y col., 2013; 2015; Armando, 2014; Burgos, 2014). La evaluación de germoplasma como fuente de variabilidad constituye el primer paso antes de establecer un programa de mejoramiento

genético (Vogel y Burson, 2004). En esta publicación se resumen los avances realizados en varias líneas de trabajo que se llevan a cabo para el mejoramiento genético de *P. coloratum* var. *makarikariense* con diversos objetivos.

AUMENTO EN EL PESO DE SEMILLAS PARA MEJORAR EL VIGOR DE LA PLÁNTULA

Estudios previos de nuestro grupo de trabajo determinaron que el porcentaje de germinación se relaciona positivamente con el peso de semillas de manera que el poder germinativo (PG) aumenta por incremento en el peso de semillas hasta un peso umbral de 1.34 g por 1000 semillas (Tomas y col., 2007). Por encima de ese valor umbral, el porcentaje de germinación se estabiliza en 84%, no alcanzándose incrementos posteriores con mayores pesos de semillas. Con la expectativa de mejorar la implantación de la especie *P. coloratum* var. *makarikariense* mediante aumentos en el PG, nos propusimos lograr un material con mayor peso de semillas que alternativamente posea un embrión más vigoroso, para incrementar la posibilidad de lograr un buen inicio y desarrollo posterior de la pastura.

Partiendo de una población base formada por plantas de la colección perteneciente a la EEA Rafaela con un peso promedio de 1,2 g por mil semillas, se hicieron ciclos de selección recurrente para aumentar el peso de las semillas. Para ello se seleccionó el 15% de las plantas que presentaban mayor peso de semillas y se las aisló permitiendo el entrecruzamiento entre ellas. Este procedimiento se repitió con sus progenies, obteniéndose así una población con un peso promedio de semillas de aproximadamente 1,4 g por mil semillas (Giordano y col., 2013). De esta manera, el incremento por selección obtenido fue cercano al 27%, teniendo en cuenta la variabilidad entre años en el peso de semilla por efecto ambiental.

La performance de las plántulas obtenidas a partir de nuestro material con peso de semilla incrementado fue entonces comparada con la de plántulas nacidas a partir de semilla proveniente de la población base. Los resultados muestran que las plántulas del material seleccionado podrían lograr una rápida implantación dadas sus mejores características en cuanto al peso de la plántula, el número de hojas y la longitud total de raíces adventicias a los 28 días de la siembra respecto del material base (Giordano y col., 2013). Estas características mejorarían el éxito en el establecimiento de las plántulas y consecuentemente contribuirían a lograr una buena implantación de la pastura. Por ejemplo, las plántulas del material seleccionado mostraron incrementos de 58% en el peso seco de la plántula, 35% de aumento en altura, 17% en número de hojas a los 28 días de la siembra respecto de plántulas obtenidas a partir del material base (Figuras 1 y 2). A su vez, las plántulas del material seleccionado lograron aumentar 42 % su longitud total de raíces adventicias respecto de las de la población base, siendo ésta una característica estrechamente ligada a la aptitud de establecimiento de la plántula.

En cuanto a la producción de forraje del material seleccionado, datos preliminares de ensayos a campo durante el verano de la campaña 2010-2011 mostraron una elevada producción de biomasa, con un promedio de 7800 kg de materia seca/ha en un corte a los 28 días desde el inicio del rebrote en el mes de enero. En relación con el valor nutritivo del forraje, tuvo valores de proteína en hoja cercanos al 18% con valores de digestibilidad del 55%. Este material fue inscripto

en el registro nacional de cultivares como Kapivera INTA y en este momento se encuentra en proceso de multiplicación.

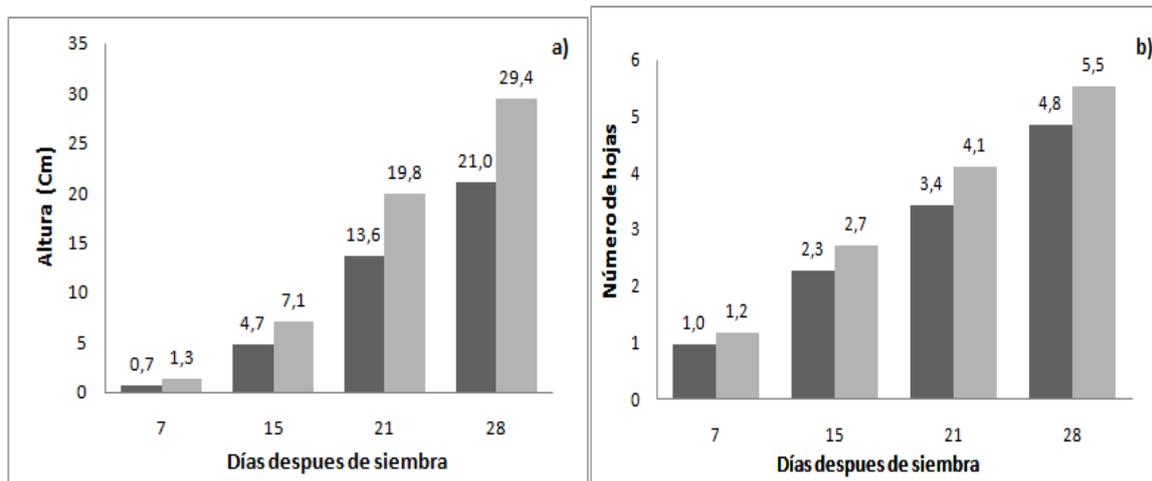


Figura 1: Comparación de a) la altura y b) el número de hojas entre plántulas de *P. coloratum* var. *makarikariense* producidas a partir del material base (MB) y de plántulas provenientes del material mejorado (MM). Las mediciones, realizadas en condiciones de invernadero, se llevaron a cabo semanalmente a partir de la siembra.

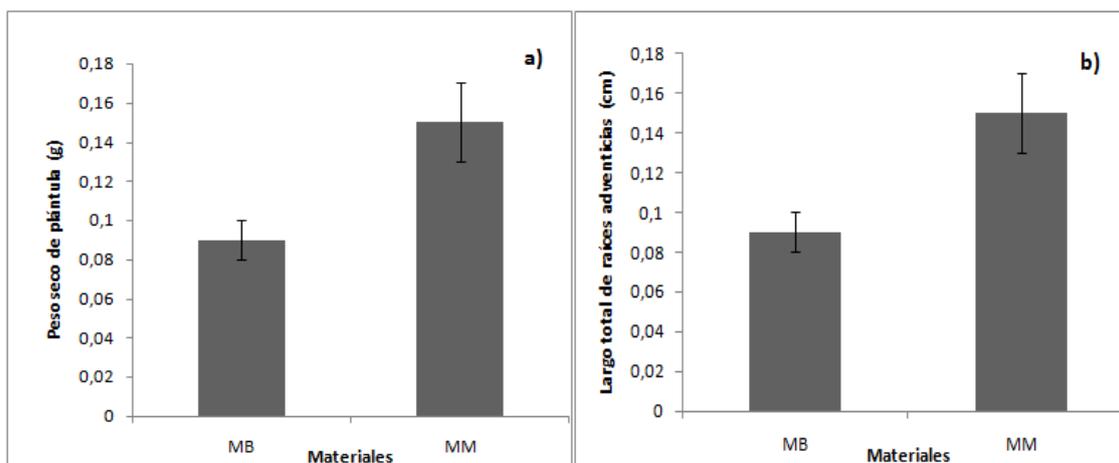


Figura 2: a) Comparación en peso seco y b) largo de raíces adventicias entre plántulas de *P. coloratum* var. *makarikariense* a los 28 días después de la siembra bajo condiciones de invernadero, en plántulas producidas a partir de semilla de material base (MB) y de material mejorado (MM).

SELECCIÓN PARA AUMENTAR LA TOLERANCIA A LA SALINIDAD

La salinidad es una condición del suelo caracterizado por la presencia de altas concentraciones de sales solubles. Los suelos se consideran salinos cuando la conductividad eléctrica es de 4 dS/m (Munns y Tester, 2008). La salinidad constituye un problema serio para la agricultura, reduce la fertilidad de los suelos ya que limita la captura de nitrógeno por parte de las plantas (Irshad y col., 2002). Este fenómeno no solamente altera los caracteres morfológicos y

fisiológicos, sino que reduce el crecimiento de las plantas, afectando la fotosíntesis, síntesis de proteínas, metabolismo de lípidos y de energía (Parida y Das, 2005).

La exposición de las plantas a la salinidad genera, también, estrés oxidativo caracterizado por la producción excesiva de especies reactivas del oxígeno (EAOs) que causan degradación de la clorofila y otros daños que pueden resultar irreversible (Koyro y col., 2013). Esta problemática se traduce en pérdidas para la producción de forraje y conllevan eventualmente a reducir la ganancia de peso por el animal.

En la colección de la EEA Rafaela nuestros estudios demostraron variabilidad genética para la tolerancia a la salinidad tanto en germinación como al estado de plántula (Cardamone y col., 2014; 2015). Además de estudiar parámetros que nos indiquen el mecanismo de tolerancia a la salinidad en la especie, nuestro objetivo es comprobar si es posible aumentar la proporción de genotipos más tolerantes por medio de la selección genética. Nuestros resultados demuestran una respuesta favorable a la selección ya que comparadas con la población base, las plántulas provenientes de la selección presentaron mayor peso en condición salina a la vez que disminuyeron en menor medida su crecimiento en salinidad con respecto a aquellas creciendo en condición no salina (Figura 3). Actualmente continuamos evaluando los resultados de la selección recurrente por tolerancia a la salinidad en *P. coloratum* var. *makarikariense* y se espera obtener un material promisorio que resulte apto para incrementar la producción de forraje de calidad en zonas afectadas por estrés salino. En los mismos materiales, por otro lado, la variabilidad en secuencia de genes asociados a tolerancia a salinidad está siendo evaluada con el objetivo de poder describir algunos componentes de la base genética de adaptación y de relacionar haplotipos moleculares con el comportamiento fenotípico.

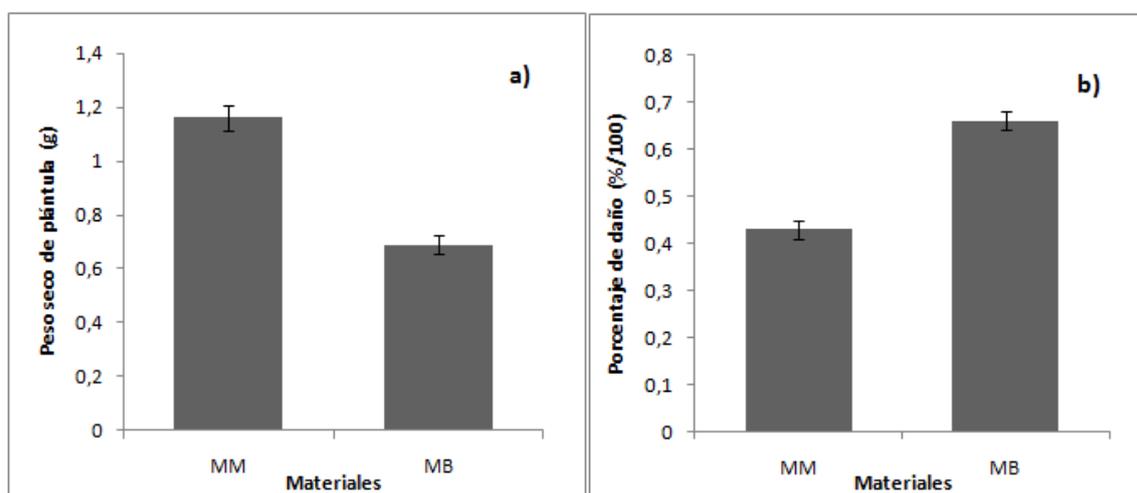


Figura 3: Comparación de *P. coloratum* var. *makarikariense* del material mejorado (MM) y el material base (MB) a) peso seco de plántula creciendo en condición salina de 200 mM de NaCl b) porcentaje de daño por salinidad con respecto al control.

TECNOLOGÍAS PARA DISMINUIR LA DEHISCENCIA DE LAS SEMILLAS

Actualmente, la producción de semilla comercial de especies tropicales y subtropicales perennes es un problema. Esto se debe a que las mismas conservan características silvestres que afectan la cosecha de semillas (Hacker y Loch, 1997), tales como los mecanismos de dispersión y el tamaño muy pequeño de semillas (Hayes y col., 1989; Kennard y col., 2002; Cubero, 2003). La domesticación de muchos cultivos de cereales se dio con la eliminación de los mecanismos de dehiscencia, a través de selección automática de aquellas plantas que mantenían durante mayor tiempo las semillas adheridas a la estructura reproductiva (Cubero, 2003). Sin embargo, la caída de semilla sigue siendo el componente principal de la pérdida de rendimiento por la acumulación de genotipos dehiscentes en cultivos continuos por resiembra natural (Kennard y col., 2002). Las respuestas positivas de la selección artificial alcanzada en algunas especies indican que la domesticación de un ideotipo es alcanzable a través del fitomejoramiento (Hayes y col., 1989).

Panicum coloratum, además de una escasa retención de semillas, posee una maduración desuniforme dentro de la panoja. Esto sumado a que la semilla cae casi inmediatamente luego de alcanzada la madurez, ocasiona que se cosechen altas proporciones de semillas inmaduras y de bajo peso (en relación a peso promedio de la semilla madura). Las semillas inmaduras tienen bajos porcentajes de germinación, y las plántulas que nacen de ellas presentan menor vigor que las provenientes de semillas maduras (Tischler y Ocumpaugh, 2004).

En la colección de la EEA Rafaela hemos detectado variabilidad genética en los caracteres relacionados con la dehiscencia que permiten asegurar éxito si se realizara selección. Así, se estimó que con heredabilidades cercanas al 40% podría obtenerse un progreso genético superior al 25% (Maina y col., 2011; Maina, 2012). Por otra parte, dado lo trabajoso de la medición de la dehiscencia, se estudió la co-variación entre caracteres de más fácil medida con la caída de las semillas (Maina y col., 2012). Desafortunadamente, nuestros resultados muestran que no sería posible la selección indirecta para realizar una mejora para aumentar la retención de la semilla en *P. coloratum* var. *makarikariense*. En este momento, se están llevando a cabo ciclos de selección recurrente para retrasar la caída de semillas de manera de facilitar la cosecha de semillas de calidad en la especie.

Por otra parte, en el proceso de abscisión de las semillas intervienen hormonas como el etileno y las auxinas que inducen o reprimen la expresión de los genes involucrados en dicho proceso (Sexton y Roberts, 1982; Roberts y col., 2002). Es por esto que estamos realizando estudios para evaluar el efecto de hormonas y otros compuestos exógenos que podrían utilizarse para retrasar la dehiscencia de las semillas.

PERSPECTIVAS

A partir de lo descripto anteriormente, se pretende dar a conocer de manera breve los nuevos conocimientos adquiridos hasta el momento y los futuros estudios que se realizarán sobre la especie *Panicum coloratum* var. *makarikariense*.

El énfasis en mejorar genéticamente esta especie, se debe a sus buenos atributos como forrajera y por su gran plasticidad de adaptación en ambientes con condiciones desfavorables. A pesar de las ventajas mencionadas, la especie está pobremente difundida y es difícil conseguir semilla de calidad. Nuestros estudios apuntan a lograr buenos materiales que ofrezcan forraje de calidad y en cantidad y de los cuales sea posible obtener semilla de calidad para lograr una buena y eficiente implantación de la pastura. De esta manera, esperamos que nuestros materiales se ofrezcan en el mercado para consolidarse como una alternativa favorable para la ganadería en zonas con limitantes edafo-climáticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, L. A., Pistorale, S.M. y Filippini, O. S. (2007). Path coefficient analysis for seed yield in *Bromus catharticus*. Ciencia e Investigación Agraria. 34: 107-114.
- Armando L. (2014) Caracterización morfológica y molecular de *Panicum coloratum* var. *makarikariense* Goossens. Tesis para acceder al grado de Doctor en Agronomía. Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur
- Armando, L. V., Carrera, A. D., y Tomas, M. A. (2013). Collection and morphological characterization of *Panicum coloratum* L. in Argentina. Genetic resources and crop evolution, 60(5), 1737-1747.
- Armando, L. V., Tomás, M. A., Garayalde, A. F., y Carrera, A. D. (2015). Assessing the genetic diversity of *Panicum coloratum* var. *makarikariense* using agro-morphological traits and microsatellite-based markers. Annals of Applied Biology, 167(3), 373-386.
- Burgos, E. (2012). Estudio de variabilidad de una colección de *Panicum coloratum* var. *coloratum*. Tesina de grado. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral.
- Cardamone, L., Cuatrín, A. L., Grunberg, K. y Tomás, M. A. (2015). Variability in salt tolerance in seedlings of *Panicum coloratum* var. *makarikariense* L. in hydroponics 5th International Symposium of Forage Breeding, Buenos Aires.
- Cardamone, L., Tomas, M. A., De Marco, N., Iacopini, M. L. y Giordano M. C. (2014). Efecto de la salinidad en la germinación en *Panicum coloratum* var. *makarikariense* Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Chascomús.
- Cubero, J.I. (2003). Introducción a la mejora genética vegetal. Ediciones Multiprensa.
- Giordano, M., Berone, G. y Tomás M. (2013). Selection by seed weight improves traits related to seedling establishment in *Panicum coloratum* L. var. *makarikariense*. Plant breeding. 132: 620–624.
- Hacker, J.B. y Loch, D. S. (1997). Tropical forage seed production: producers' views and research opportunities. Proceedings of the XVIII International Grassland Congress, Winnipeg.
- Hayes, P., Stucker, R. y Wandrey, G. (1989). The domestication of American wildrice. Economic Botany. 43(2): p. 203-214.
- Humphreys, M., Marshall, A., Collins, R. y Abberton, M. (2011) Exploiting genetic and phenotypic plant diversity in grasslands". In: Grassland Productivity and Ecosystem Services. G. Lemaire, J. Hodgson, A. Chabbi. (Eds) Chapter 17. pp. 148-157. CABI Publishing, 287 p.
- Irshad, M., Yamamoto, S., Eneji, A.E., Endo T. y Honna, T. (2002) Urea and manure effect on growth and mineral contents of maize under saline conditions. J. Plant Nutr., 25:189-200.
- Kennard, W., Phillips, R. y Porter, R. (2002). Genetic dissection of seed shattering, agronomic, and color traits in American wildrice (*Zizania palustris* var. *interior* L.) with a comparative map. Theoretical and Applied Genetics, 105(6-7), 1075-1086.
- Koyro, H. W., Hussain, T., Huchzermeyer, B. y Khan, M.A. (2013). Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass *Panicum turgidum* to increasing NaCl concentrations. Environ. Exp. Bot., 49: 377-386.
- Maina, M. (2012). variabilidad en retención de semillas y otros caracteres asociados a producción de semillas en poblaciones de *Panicum coloratum* var. *Makarikariensis*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Rosario.

Maina, M. Tomás, M. A. y Andrés, A. (2011). Respuesta a selección por retención de semillas en *Panicum coloratum*. 34° Congreso Argentino de Producción Animal, Mar del Plata.

Maina, M., Tomás, M. A. y Andrés, A. (2012). Correlaciones genéticas y respuestas indirectas a la selección sobre caracteres relacionados a la retención de semillas en *Panicum coloratum* var. *makarikariensis*. Jornadas Latinoamericanas de Recursos Genéticos, Mejoramiento y Biotecnología de Especies Forrajeras, Pergamino, Bs As., 7 y 8 de agosto de 2012.

Manuel-Navarrete, D., Gallopín, G. C., Blanco, M., Díaz-Zorita, M., Ferraro, D. O., Herzer, H., Laterra, P., Murmis, M. R., Podestá, G. P., Rabinovich, J., Satorre, E. H., Torres, F. y Viglizzo, E. F. (2009) Multi-causal and integrated assessment of sustainability: the case of agriculturization in the Argentine Pampas. *Environ Dev Sustain* 11: 621-638

Moser, L. E. (2000) Morphology of germinating and emerging warm-season grass seedlings. In: Moore, K. J. y Anderson, B. E. (eds) *Native warm-season grasses: research trends and issues*. Crop Science Society of America, Madison, WI, pp 35-47

Munns, R., y Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.

Parida, A. K., y Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.

Petruzzi, H. J., Stritzler, N. P., Adema, E. O., Ferri, C. M. y Pagella J. H. (2003). Mijo perenne - *Panicum coloratum*. Talleres gráficos de la E.E.A. Anguil INTA. pp: 2-3.

Roberts, J. A., Elliott, K. A., y Gonzalez-Carranza, Z. H. (2002). Abscission, dehiscence, and other cell separation processes. *Annual review of plant biology*, 53(1), 131-158.

Sage, R. F. (2004). The evolution of C4 photosynthesis. *New Phytol* 161: 341-370.

Sexton, R. y Roberts, J. A. (1982). Cell biology of abscission. *Annual Reviews of Plant Physiology* 33, 133-62

Souza Sobrinho, F. de y Machado Auad, A. (2013). Genetic improvement of *Brachiaria ruziziensis* at Embrapa Dairy Cattle. In: Jank, L., Chiari, L., Borges do Valle, C. y Simeao, R.. *Forage breeding and biotechnology*. P. 59-76.

Tischler, C.R. y Ocumpaugh, W.R. (2004). Kleingrass, blue panic and vine mesquite. *Warm season (C4) grasses*. p. 623 - 650.

Tomás, M. A., Berone, G. D., Pisani, J. M., Ribotta, A. N. y Biderbost, E. (2007). Relación entre el peso de semillas, poder germinativo y emergencia de plántulas en clones de *Panicum coloratum* L. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 27, 205 - 206.

Vogel, K. P. y Burson B. L. (2004). Breeding and Genetics. In: L.E. Moser, B.L. Burson, and L.E. Sollenberger (eds.), *Warm-Season (C4) Grasses*, ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA.

Wright, L. N. (1976). Recurrent selection for shifting gene frequency in seed weight in *Panicum antidotale* Retz. *Crop Sci* 16: 647-649.

Young, B. A. y Tischler, C. R. (1994). Recurrent selection for greater shoot mass modifies seed mass and seedling vigour in kleingrass. *Seed Science & Technology* 22: 467-475.

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE *Melilotus Albus*

TOMÁS, M. A.^{1*}; IACOPINI, M. L.¹; DE MARCO, N.²; GIORDANO, M.³; CARDAMONE, L.³;
PILATTI, V.³

¹INTA EEA Rafaela. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;

²Asesor privado-Pasante;

³Becaria CONICET

* Autor de contacto: tomas.maria@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

El género *Melilotus* comprende varias especies, algunas de las cuales son conocidas como trébol de olor. En particular, *M. albus* o trébol de flor blanca y *M. officinalis*, de flor amarilla, son a veces incluidas como variantes de la misma especie aunque varios autores afirman que son genéticamente incompatibles.

Pertenece a la familia de las leguminosas, las plantas de *Melilotus* son erectas, más o menos ramificadas y pueden alcanzar 1,5 m de altura. Muestran adaptación a un amplio rango de ambientes y son en general tolerantes a suelos alcalinos o salinos pero no soportan la sombra.

Los tréboles de olor fueron introducidos desde el centro de Europa y el Tíbet. Ingresaron a América del norte alrededor del año 1670 aunque no claramente identificados. Se utilizaban para estabilizar suelos muy erosionados y también como melífero pero su cultivo se incrementó notablemente al descubrirse su aptitud forrajera para ganado doméstico, especialmente en áreas con bajo potencial productivo.

En Argentina, las especies de *Melilotus* fueron introducidas en varias ocasiones, pero los eventos no quedaron debidamente registrados. Por su gran rusticidad, se esparcieron espontáneamente llegando a naturalizarse en varias regiones donde es posible encontrarlas en los bordes de las rutas (Rosso, 2014). *Melilotus albus* es la especie más difundida y su semilla se comercializa, muchas veces sin denominación. Sin embargo, están disponibles en el mercado cultivares obtenidos producto del mejoramiento genético en Argentina y algunos programas se están llevando a cabo en la actualidad en varios centros del INTA y algunas universidades, como así también en empresas privadas.

La inclusión del género *Melilotus* en la cadena forrajera se realiza habitualmente en consociaciones con gramíneas, ya sea templadas o subtropicales, a las que agrega tenor proteico sin perjudicar la producción total de forraje (Bruno y col. 1983). En sistemas lecheros, el melilotus es utilizado en rotaciones con sorgo y en asociación con alfalfa. En líneas generales, el melilotus es empleado en situaciones limitantes para el cultivo de alfalfa, ya sea por condiciones de anegamiento o salinidad o por déficit de nutrientes. Sus ventajas destacadas son su alta producción y fácil resiembra y el aumento de valor nutritivo a la especie acompañante.

Desde INTA se ha propiciado el mejoramiento genético de *M. albus* por considerarse una especie clave para los sistemas ganaderos de zonas con limitantes, dada su amplia distribución en el territorio nacional y por su capacidad de adaptación a múltiples ambientes. Especialmente en sistemas lecheros, las plantas de *Melilotus* pueden aportar forraje de calidad a la salida del invierno, aumentando el contenido proteico cuando se utiliza con gramíneas rústicas que en general

contribuyen con volumen. En esta revisión, se resumen los esfuerzos en el mejoramiento genético de *M. albus* de INTA con énfasis en los trabajos realizados en la EEA Rafaela.

PASOS PREVIOS AL MEJORAMIENTO GENÉTICO

Los genes que están disponibles para su manipulación a través del mejoramiento genético convencional son aquellos que las especies acumulan a lo largo de su historia evolutiva, y eso incluye la adaptación a condiciones diversas. Para comenzar un programa de mejoramiento es necesario contar con germoplasma con un cierto grado de variabilidad genética. Dicho germoplasma suele estar disponible para los mejoradores en diversas fuentes, por ejemplo, los bancos de germoplasma, ya sea nacionales o del extranjero. En Argentina, el INTA cuenta con un Banco Activo de Germoplasma organizado a partir de 1994 que se encarga de la conservación de los recursos fitogenéticos de las especies de interés para la producción forrajera entre las que se encuentra *M. albus* (Rosso, 2014). De las entradas ingresadas a este banco algunas corresponden a poblaciones colectadas (localmente adaptadas) mientras que otras fueron recibidas de instituciones de todo el mundo. Además, el INTA cuenta con una colección de 344 entradas de *M. officinalis* y *M. albus* provenientes de una colección recibida desde el USDA (a través del Dr. Burson) en el banco de germoplasma EEA Guillermo Covas del INTA en Anguil, La Pampa. Las mismas fueron catalogadas de acuerdo a su origen y a otras características morfológicas que tienen que ver con la forma de los folíolos, el porte de la planta, la longitud de tallos y entrenudos, el ciclo y la floración (Traverso y col., 2005).

Para el estudio y la cuantificación de la variabilidad genética se han utilizado diferentes marcadores, ya sea morfológicos, bioquímicos y/o moleculares. Estos diferentes enfoques han mostrado amplia diversidad genética tanto entre especies del género *Melilotus* como entre ecotipos o poblaciones dentro de especies (Winton y col., 2007; Aboel-Atta, 2009). Respecto a las colecciones con las que se cuentan de Argentina, Ré y colaboradores (2014) reportaron una amplia variabilidad en los ecotipos colectados a partir de poblaciones naturalizadas en los caracteres relacionados con la eficiencia en el establecimiento al estadio de plántula como también en caracteres de importancia agronómica de la planta adulta como biomasa, proporción de hoja y retraso de la floración que permite mantener la calidad de la pastura por más tiempo. Además, estos estudios determinaron valores relativamente altos del grado de determinación genética que indicaría que gran parte de la variación fenotípica observada es atribuible a la variación genética. Resultados similares fueron obtenidos comparando familias de medios hermanos crecidos en ambientes homogéneos donde la mayor parte de la variación fenotípica observada fue explicada por la variación genética (Guercio y col., 2014; Varea y col., 2014).

A partir de una colección de materiales naturalizados que fueron colectados en diferentes condiciones ambientales, se inició un estudio de la variabilidad genética contenida en dicha colección, con el propósito de cuantificarla y sentar las bases para un programa de mejoramiento genético. Para ello, se realizaron análisis de diferentes marcadores moleculares sobre el conjunto de 8 poblaciones de la colección de INTA más una accesión selecta de la FCA de la Universidad Nacional del Litoral que resultaron igualmente informativos. Los resultados alentaron el inicio de un programa de mejoramiento de la especie, dado que se demostró la existencia de amplia variación

genética útil para realizar la selección. Se determinó que más del 80% de la variación se encuentra dentro de los ecotipos, lo que coincide con el modo de reproducción alógama de la especie (Rivero y col., 2015)

Por otra parte, y dado que *M. albus* se comenzó por la caracterización de ecotipos respecto a la tolerancia a la salinidad a fin de detectar variabilidad para ser utilizada en procesos de selección. Tomando como punto de partida una colección de 9 ecotipos naturalizados de *M. albus* se encontraron diferencias entre poblaciones en el poder germinativo de las semillas frente a condiciones crecientes de salinidad (De Marco y col., 2014). Estos estudios mostraron no sólo que las semillas de *M. albus* son capaces de germinar hasta concentraciones de 250 mM de NaCl (que se corresponde aproximadamente a 25 dS.m⁻¹), sino también que gran parte de esa capacidad estaba regulada por genes por lo que sería factible aumentar esa característica luego de un proceso de selección. Asimismo, cuando dichas poblaciones fueron evaluadas en su respuesta al estado de plántulas, se encontraron diferencias en la producción de biomasa aérea y radical y en otros caracteres morfológicos tanto en condiciones nativas como frente al agregado de concentraciones crecientes de sal cuando crecían en hidroponía. Estos estudios demostraron además que la capacidad de mantener el crecimiento en una condición salina, es decir, el grado de tolerancia, fue diferente entre poblaciones, destacándose algunos materiales con mayor tolerancia que a la vez tuvieron alto crecimiento en un medio no salino (Insaurralde y col., 2014). De forma complementaria, el análisis conjunto de los marcadores moleculares anteriormente citados con los marcadores funcionales, permitió discriminar grupos de poblaciones que se diferenciaron por su tolerancia a la salinidad (Tomás y col., 2015) asegurándose que esa diferenciación tendría base genética por lo que constituirían la base para iniciar programas de mejora respecto de esta característica.

OBJETIVOS DEL PLAN DE MEJORAMIENTO GENÉTICO

Basado en las mismas poblaciones de la colección de INTA se inició en 2011 un programa de mejoramiento en *M. albus* con el objetivo de aumentar la producción y calidad de forraje a través del incremento en la relación hoja: tallo y retrasar la floración para prolongar el periodo de utilización de la pastura, dado que la calidad de la misma disminuye notablemente por el engrosamiento de los tallos que se produce cuando la planta comienza a producir flores. Este plan se coordina entre 4 estaciones experimentales del INTA a fin de obtener un producto que resulte apto para un amplio rango de condiciones ambientales. De este emprendimiento participan las experimentales de Manfredi (Córdoba), Pergamino (Buenos Aires), Rafaela (Santa Fe) y Concepción del Uruguay (Entre Ríos).

Después del primer ciclo de selección se eligieron poblaciones por su mejor producción de forraje y mejor relación hoja: tallo. Las evaluaciones se realizaron posteriormente sobre planta aislada, teniendo en cuenta la fecha de floración, se seleccionaron las plantas de ciclo más largo en cada sitio. A partir de las plantas seleccionadas en cada localidad se sembraron familias de medios hermanos en todos los sitios. Este proceso se repitió dos veces (años consecutivos). Resultados preliminares confirmaron la existencia de una gran interacción genotipo x ambiente, lo que indicaría que los diferentes materiales elegidos hasta el momento tendrían un comportamiento diferente de

acuerdo al lugar donde crecen (Ré y col., 2016). En este momento se están llevando a cabo ensayos en stand denso en todas las localidades a fin de determinar el potencial productivo de cada selecta y ya en las etapas terminales del proceso de mejoramiento, avizorando la pronta obtención de nuevos cultivares.

CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS

El germoplasma de *M. albus*, obtenido en zonas con diferencias climáticas y edáficas, se ha caracterizado mediante indicadores genéticos, morfológicos, y productivos. Dicho material fue sometido a reiterados procesos de selección a fin de obtener líneas mejoradas en su nivel de producción, relación hoja: tallo y duración de ciclo (atraso de la floración para mayor período de aprovechamiento). El material disponible fue evaluado en relación a su tolerancia a la salinidad, en etapa de germinación y estado de plántula con niveles crecientes de contenido de NaCl. De estos ensayos se han obtenido materiales promisorios para la obtención de material mejorado en dicha característica.

De forma complementaria, se encuentra en marcha un estudio para caracterizar la respuesta de los materiales disponibles en función de su tolerancia al estrés mixto (salinidad-alcalinidad).

En síntesis, la posibilidad de contar con un material mejorado de *M. albus*, adaptado a las condiciones agro-ecológicas de la zona centro de Santa Fe permitirá maximizar el aprovechamiento de esta pastura que potencialmente puede incrementar el valor nutritivo de gramíneas forrajeras subtropicales que son muy productivas en suelos con limitantes. La incorporación de *Melilotus* complementaríala cadena forrajera con forraje de calidad a la salida del invierno, un momento que resulta crítico en el tipo de sistemas planteados.

BIBLIOGRAFÍA

- Aboel-Atta, A. 2009. Isozymes, RAPD and ISSR variation in *Melilotus indica* (L.) AIL and *M. siculus* (Turra) B. G. Jacks. (Leguminosae). Academic Journal of Plant Sciences 2: 113-118.
- Bruno, O.; Fossatti, J. y Quaino, O. 1983. Incorporación de trébol de olor blanco en grama rhodes. P. animal 10, 333-341. R.A.
- De Marco, N.; Tomás, M. A.; Iacopini, M. L. y De Battista, J. P. 2014. Germinación de diferentes ecotipos de *Melilotus albus* y su respuesta al estrés salino. Congreso de la Red Argentina de Salinidad. Chascomús.
- Guercio, A.; Varea, I.; Elustondo, L. y Andrés, A. 2014. Variabilidad genética en producción de biomasa de poblaciones naturalizadas de *Melilotus albus*. 37° Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina, AAPA.
- Insaurralde, L.; Tomás, M. A.; Iacopini, M. L.; De Marco, N.; Cardamone, L.; Giordano, M. C. y De Battista, J. P. 2014. Respuesta a la salinidad en plántulas de poblaciones de *Melilotus albus* creciendo en hidroponía Simposio de Recursos Genéticos. 37° Congreso AAPA.
- Ré, A. E.; Pinget, A. D.; Igarzábal, M. F. y De Battista, J. P. 2014. Variabilidad intra e inter poblacional entre ecotipos de *Melilotus albus*. 37° Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina, AAPA.
- Ré, A.; Arolfo, V.; Tomás, M. A.; Lavandera, J.; Odorizzi, A.; Acuña, A. y Lifschitz, M. 2016. Interacción genotipo x ambiente en familias de medios hermanos de *Melilotus albus*. Aceptado para el 39° Congreso AAPA.
- Rivero, M.; Tomas, P. y Tomás, M. A. 2015. Assessment of genetic diversity in *Melilotus albus* germplasm using ISSR and SSR markers. 5th International Symposium of Forage Breeding. Buenos Aires, October.

- Rosso, B. 2014. Conservación de los recursos genéticos de las especies forrajeras en el Banco Activo de la EEA-INTA Pergamino. 37° Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina.
- Tomás, M. A.; Rivero, M.; Tomas, P. y Iacopini, M. L. 2015. Salinity tolerance and molecular markers simultaneously used to characterize populations of *Melilotus albus*. 5th International Symposium of Forage Breeding. Buenos Aires.
- Traverso, J.; Babinec, F. y Troiani, H. 2005. Caracterización y agrupación de entradas por compatibilidad de caracteres fenotípicos en el género *Melilotus*. Publicación técnica. INTA. Anguil, La Pampa, INTA, EEA Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas": 16.
- Varea, I.; Guercio, A.; Elustondo, L. y Andrés, A. 2014. Efecto del año en caracteres de producción de biomasa de poblaciones naturalizadas de *Melilotus albus* Desr. 37° Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal, Buenos Aires, Argentina, AAPA.
- Winton, L. M.; Krohn, A. L. y Conn, J. S. 2007. Microsatellite markers for the invasive plant species white sweetclover (*Melilotus alba*) and yellow sweetclover (*Melilotus officinalis*). Molecular Ecology Notes 7: 1296-1298.



CALIDAD DE LECHE Y AGROINDUSTRIA

UTILIZACIÓN DE SUERO DE QUESO PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y SECADO SPRAY DE LACTOBACILOS PROBIÓTICOS.

LAVARI, L.^{1*}; PAEZ, R.¹; CUATRIN, A.¹; REINHEIMER, J.² y VINDEROLA, G.²

¹INTA EEA Rafaela, Ruta 34 km 227, Santa Fe, Argentina;

²Facultad de Ingeniería Química, Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET), Universidad Nacional del Litoral, Santiago del Estero 2829, Santa Fe (3000), Argentina.

* Autor de contacto: lavari.luisina@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN.

La relación positiva entre una dieta adecuada y la salud está creciendo día a día, el deseo de una mejor calidad de vida estimula el consumo de alimentos funcionales con múltiples beneficios para la salud humana (Vasiljevic y Shah, 2008). Se considera alimento funcional a aquel que ha demostrado que actúa de forma beneficiosa sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad (Diplock, 1999). Por esta razón, la investigación y el desarrollo de ingredientes funcionales (probióticos, prebióticos, ácidos grasos poliinsaturados, entre otros) son actualmente un importante foco de desarrollo en la industria alimentaria. La Organización Mundial de la Salud (OMS) redefinió en 2002 el concepto de probióticos como aquellos microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas confieren algún efecto benéfico en la salud del hospedador.

Los cultivos comerciales utilizados en distintos alimentos probióticos son principalmente cepas de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y han sido explotados ampliamente por la industria láctea como herramienta para el desarrollo de productos funcionales. A nivel nacional, la mayoría de los cultivos probióticos utilizados son liofilizados o congelados, deben importarse y son comercializados por empresas multinacionales (Chr. Hansen, DSM, Sacco, Danisco). Estas características condicionan su uso casi exclusivo a las grandes empresas lácteas. La posible disponibilidad de cultivos probióticos autóctonos, producidos a gran escala y a menor costo que los importados, podría ser uno de los factores que contribuya al sostenimiento de la expansión del mercado de alimentos funcionales producidos por empresas nacionales de menor porte.

Una de las etapas críticas para el uso de microorganismos probióticos es su producción a gran escala utilizando medios de cultivos de bajo costo. Como una opción económica para la producción de biomasa de bacterias probióticas, surge la utilización de subproductos lácteos (suero de queso, permeado de suero de queso, suero de ricota) como alternativas al medio comercial existente a escala laboratorio: el caldo MRS.

El suero de queso es un líquido verde-amarillento producido durante el proceso de fabricación del queso tradicional que resulta de la precipitación y la eliminación de la caseína de la leche (Siso, 1996). El suero representa del 80 – 90% del volumen total de la leche procesada en elaboraciones casearias y contiene aproximadamente el 50% de los nutrientes de la misma: proteínas solubles, lactosa, vitaminas y sales minerales. Además, es un efluente con una gran carga orgánica y salina, pero al mismo tiempo, es un producto con un alto valor nutricional y con grandes posibilidades de explotación tecnológica. Debido a esto, se comenzó a utilizar como materia prima

de productos de alto valor nutritivo. El primer paso en la mayoría de los procesos para la valorización de suero de queso consiste en la recuperación de la fracción proteica, generalmente mediante ultrafiltración, para producir WPC (concentrado de proteínas de suero, por sus siglas en inglés: Whey Protein Concentrate), al mismo tiempo se genera un gran volumen de permeado de suero de queso que es un producto rico en lactosa (Guimarães y col., 2010). La producción de suero de queso en polvo es la forma más elemental de agregar valor al mismo y es una buena alternativa a la utilización del suero líquido para alimentación animal (Peters, 2005).

Los cultivos comerciales utilizados en alimentos funcionales producidos a nivel industrial se almacenan y transportan en forma de cultivos congelados o deshidratados. Se prefieren estos últimos sobre las formas congeladas debido a la facilidad de almacenamiento a largo plazo y al transporte sin el uso especializado de equipamiento de alto frío. El secado spray es una alternativa de bajo costo frente a la liofilización ya que es relativamente económica y permite la producción de grandes cantidades de células deshidratadas en un proceso continuo (Gardiner y col., 2000; Schuck y col., 2010). En particular, en la Argentina, numerosas industrias lácteas poseen infraestructura para llevar a cabo el secado spray, esta fortaleza podría ser explotada para la producción local de cultivos probióticos en el futuro. Además, la liofilización aún no es una tecnología común a escala industrial para BAL en nuestro país.

El equipo Mini Spray Dryer B-290 de Büchi (Flawil, Suiza), instalado en el Laboratorio de Calidad de Leche del INTA EEA Rafaela, es un instrumento a escala laboratorio para llevar a cabo los procesos de secado spray por pulverización desde 30 mL y hasta 1 L de agua por hora (Figura 1). Este equipo fue utilizado para la deshidratación de las bacterias probióticas. El Mini Spray Dryer B-290 funciona según el principio de flujo paralelo, es decir, el producto pulverizado y el aire seco se desplazan en el mismo sentido. Las suspensiones celulares son atomizadas y se pulverizan en la cámara de secado mediante el uso de una tobera de atomización. Esta tecnología permite un secado casi instantáneo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la utilidad de subproductos lácteos (suero de queso, suero de ricota y permeado de suero) para la producción de biomasa de BAL autóctonas con potencial probiótico, y la capacidad del suero de queso para ser utilizado como termoprotector durante el secado spray.



Figura 1. Mini Spray Dryer Büchi B-290

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas y condiciones de cultivo

Se emplearon 3 cepas aisladas de heces de neonatos santafesinos (Vinderola y col., 2008), *Lactobacillus paracasei* Jp1, *Lactobacillus rhamnosus* 64 y *Lactobacillus gasseri* 37, los cuales presentaron potencial probiótico *in vivo*, en relación a la capacidad de promover las defensas intestinales mediadas por IgA en ratones (Gregoret y col., 2013). Las cepas se mantuvieron congeladas a -70°C en caldo MRS (Biokar, Beauvais, Francia) adicionado con 18 % (v/v) de glicerol (Cicarelli, Buenos Aires, Argentina) en la colección de cultivos del INLAIN. Como procedimiento estándar, las cepas en estudio se reactivaron a partir de los stocks congelados y se realizaron dos repiques sucesivos (16 h, 37°C , aerobiosis) en caldo MRS previo a su utilización. Los cultivos frescos (16 h, 37°C , aerobiosis) de las cepas en caldo MRS, se centrifugaron ($6000 \times g$, 15 min, 5°C), se lavaron dos veces con una solución salina tamponada con fosfato (PBS) pH 7,4. Las suspensiones celulares se inocularon 1 % (v/v) en los medios lácteos (permeado, suero de queso y suero de ricota) y se incubaron 16 h, 37°C , en aerobiosis. Los recuentos de células viables se realizaron en agar MRS en superficie.

Desarrollo en medios de cultivos lácteos

El suero de queso se obtuvo de la elaboración de queso fresco en la planta piloto del INTA EEA Rafaela, el suero de ricota fue proporcionado por la empresa Vila S.A.C.I. (Lácteos Aurora) (Vila, Santa Fe) y el permeado fresco por Saputo S.A. (Rafaela, Santa Fe). Las características fisicoquímicas de los medios lácteos se muestran en la Tabla 1 y se determinaron mediante procedimientos estándares: grasa (Federación Internacional de Lechería, IDF, 1987a); proteína total (IDF, 2001); sólidos totales (IDF, 1987b); cenizas (AOAC, 1995) y lactosa por diferencia.

El suero de ricota y el permeado de suero se trataron en autoclave a 121°C durante 15 min. Para evitar la precipitación de las proteínas, el suero de queso se trató térmicamente en autoclave a 100°C durante 30 min (vapor fluente).

Tabla 1: Composición (g/100 mL) y pH de los subproductos lácteos utilizados.

	Suero de ricota	Permeado	Suero de queso
Sólidos totales	5,39	8,92	6,04
Cenizas	0,51	0,97	0,45
Materia grasa	0,03	0,02	0,39
Proteínas totales	0,39	0,46	0,82
Lactosa	4,46	7,47	4,38
pH inicial	5,67	6,1	6,2

Utilización de suero de queso como medio de cultivo en fermentador

El desarrollo de *L. rhamnosus* 64 se evaluó durante la fermentación en cultivo batch (2 L, Biostat A plus, Sartorius, Alemania) en suero de queso (Arla Foods, Porteña, Córdoba, Argentina) reconstituido al 7% (p/v), a 37°C , agitación 200 rpm, con y sin burbujeo de CO_2 (0,2 L/min). Durante la fermentación se midió oxígeno disuelto (sensor Oxiferm Hamilton). Los fermentadores

fueron inoculados 1% (v/v) con un cultivo *overnight* en MRS lavado 2 veces y resuspendido en PBS. El pH se mantuvo constante (pH 6) con el agregado automático de NaOH (6 N). Para el recuento de células viables se realizaron diluciones decimales en agua de peptona 0,1% (p/v), las cuales se sembraron en superficie en agar MRS. Las placas se incubaron a 37°C durante 48 h en aerobiosis.

Secado spray de lactobacilos probióticos en suero de queso – almidón y leche descremada - almidón

Se obtuvo biomasa de las 3 cepas en estudio la cual se resuspendió en una solución de suero de queso - almidón (10%-10% p/v), o en leche descremada - almidón (10%-10% p/v). Las suspensiones celulares se deshidrataron por secado spray. Las condiciones de secado para leche descremada - almidón fueron: temperatura entrada (TE) 170°C, temperatura de salida (TS) 85°C y un flujo de aire (FA) de 600 L/h (Paez y col., 2012) y para las suspensiones de suero de queso - almidón TE: 150°C, TS: 80°C y FA: 357 L/h (Lavari y col., 2014). Los cultivos deshidratados obtenidos fueron envasados al vacío en muestras individuales de 10 g y se almacenaron durante 6 meses a 5°C. La humedad residual (% p/p) se determinó por triplicado a 101° ± 1°C durante 24 h (IDF, 1993). Los recuentos de células viables se realizaron en agar MRS (37°C, 48 h, aerobiosis) antes y después del secado spray y durante el almacenamiento. Para el recuento de células viables, los polvos se rehidrataron al 20% (p/v) y se incubaron a 37°C durante 15 min con agitación periódica, de modo de restaurar la solución a las condiciones anteriores al secado spray y poder comparar los recuentos en UFC/mL.

Análisis estadístico

Los resultados de los recuentos de células viables se transformaron a log UFC/mL y se expresaron como media ± desviación estándar o como diferencia logarítmica, de al menos tres experimentos independientes en cada ensayo. Los datos de desarrollo de *L. rhamnosus* 64 en los medios de cultivo, los datos de supervivencia al secado spray y la viabilidad durante el almacenamiento se analizaron estadísticamente utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos para determinar las diferencias en el desarrollo de las cepas, en los medios de cultivo, o en la supervivencia al secado y durante el almacenamiento. Las cepas (3 niveles) y los medios de cultivo (4 niveles para los medios lácteos incluyendo MRS como referencia) se consideraron como factores en el primer diseño mientras que las cepas (3 niveles) y las soluciones de secado (2 niveles) se consideraron como factores en el segundo diseño. El análisis de varianza y la mínima diferencia significativa (LSD) se utilizaron para poner a prueba los factores significativos y comparar los tratamientos, respectivamente, con un nivel de error del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desarrollo de lactobacilos probióticos en medios lácteos

La creciente demanda de probióticos y la diversificación en nuevos alimentos genera un desafío para la industria: producir de forma económica grandes cantidades de cultivos viables y en

formatos de conservación estables que soporten y estimulen el crecimiento del mercado (Muller y col., 2009). Una combinación de medios de cultivo de bajo costo y un menor costo operativo con tecnologías de deshidratación ampliamente disponibles, tales como el secado spray, sería probablemente bienvenida por la industria alimentaria para sostener y ampliar el mercado de probióticos y potenciar los desarrollos locales en base a cepas autóctonas y tecnologías localmente disponibles (Sybesma y col., 2015).

Teniendo en cuenta la posibilidad de producción a escala industrial de estas cepas en el futuro, se evaluó la capacidad de desarrollo de las cepas en subproductos lácteos (Fig. 2). El desarrollo de *L. gasseri* 37 en MRS y suero de queso no presentó diferencias significativas. Sin embargo, en suero de ricota y permeado de suero fue significativamente menor (< 1 orden log) comparado con MRS. Para *L. paracasei* Jp1 el desarrollo no fue satisfactorio en permeado de suero. Sin embargo, para *L. rhamnosus* 64 no se observaron diferencias significativas entre los medios de cultivo evaluados (Tabla 2). En este sentido, esta cepa mostró una versatilidad tecnológica interesante, principalmente desde un punto de vista industrial.

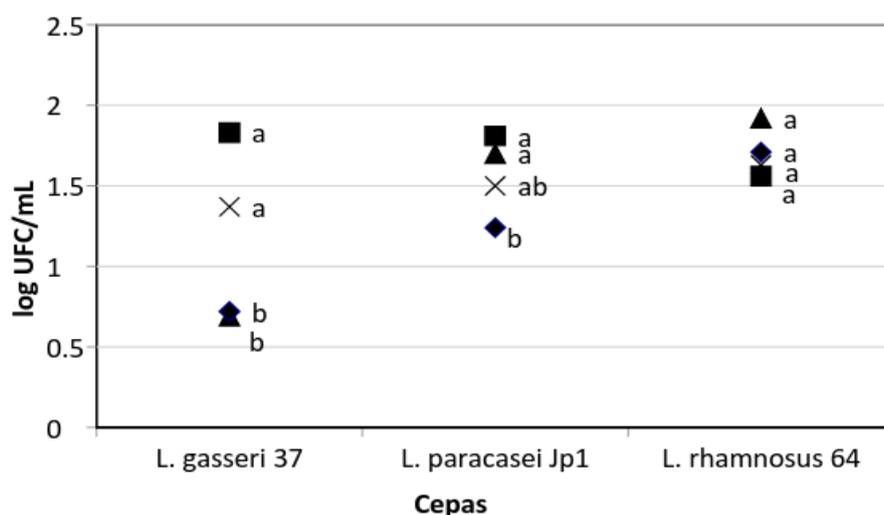


Figura 2. Desarrollo (log UFC/mL) de *L. gasseri* 37, *L. paracasei* Jp1 y *L. rhamnosus* 64 en MRS (■), permeado de suero (▲), suero de queso (×) y suero de ricota (◆). Los valores se calcularon como la diferencia en los recuentos de células (UFC/mL) después y antes del desarrollo (37°C, 16 h, aerobiosis) en el correspondiente medio. Diferentes letras en los símbolos para una misma cepa indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 2. Recuento de células viables (log UFC/mL \pm SD) alcanzados por cada cepa en cada medio lácteo, comparado con caldo MRS comercial. Diferentes letras en los símbolos para una misma cepa indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

	<i>L. paracasei</i> Jp1	<i>L. rhamnosus</i> 64	<i>L. gasseri</i> 37
MRS	8,95 \pm 0,33 a	8,67 \pm 0,09 a	9,08 \pm 0,23 a
Permeado	8,71 \pm 0,18 a	8,92 \pm 0,10 a	7,83 \pm 0,57 b
Suero de queso	8,63 \pm 0,20 ab	9,01 \pm 0,10 a	8,36 \pm 0,21 a

Suero de ricota	8,15 ± 0,21 b	8,70 ± 0,03 a	7,63 ± 0,19 b
-----------------	---------------	---------------	---------------

Utilización de suero de queso como medio de cultivo.

Debido a la capacidad de *L. rhamnosus* 64 de desarrollar en todos los medios lácteos evaluados, se utilizó esta cepa para continuar los estudios de producción de biomasa en fermentador utilizando medios lácteos como medio de cultivo. Se evaluó en fermentaciones batch la producción de biomasa de *L. rhamnosus* 64, utilizando suero de queso 7% (p/v) como medio de cultivo. En la Figura 3, se observa la curva de crecimiento, a pH 6 con agitación de 200 rpm, con burbujeo de CO₂, logrando hacia las 24 h de fermentación (24 h) un nivel de células viables de 9,32 ± 0,12 log UFC/mL.

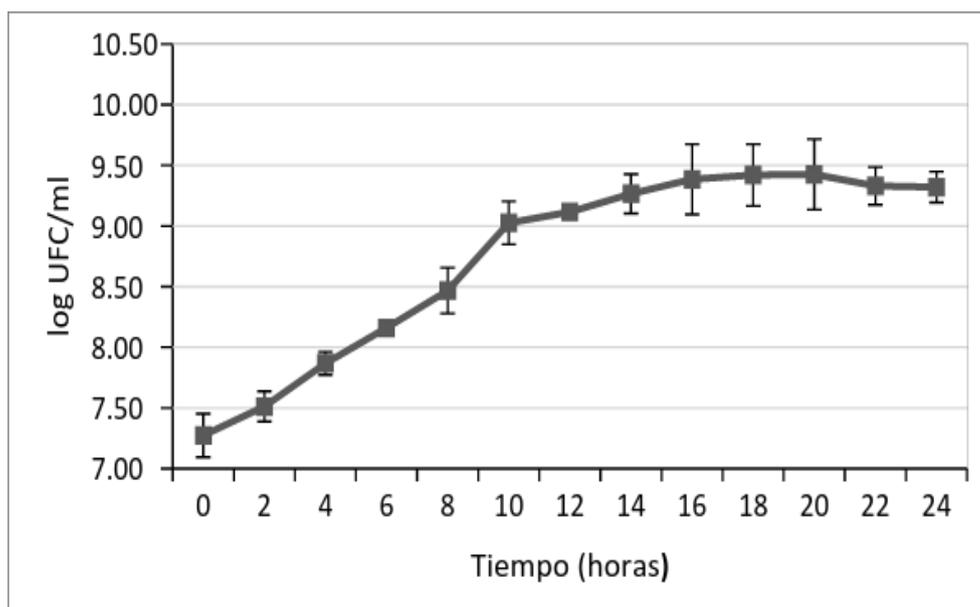


Figura 3. Curva de desarrollo de *L. rhamnosus* 64 en suero de queso (7% p/v), a pH 6 constante, agitación 200 rpm y con burbujeo de CO₂.

Secado spray de lactobacilos probióticos en suero de queso - almidón

El empleo de leche descremada - almidón como matriz de secado se utilizó como referencia, ya que, según los resultados de Páez y col., (2012), la adición de almidón mejoró las propiedades físicas de los polvos obtenidos (la recuperación desde el ciclón y la manipulación de los mismos), la viabilidad celular después del secado y la resistencia a la digestión gástrica simulada.

Se observaron reducciones significativas en el recuento de células viables después del secado spray para *L. gasseri* 37 en leche descremada - almidón ($p = 0,0013$) y en suero de queso - almidón ($p < 0,0001$). Para *L. paracasei* Jp1 no se observaron diferencias significativas en los recuentos en leche descremada - almidón, pero los recuentos en suero de queso - almidón fueron significativamente menores después del secado ($p = 0,0231$). Por último, el recuento de células viables de *L. rhamnosus* 64 fue significativamente menor ($p = 0,0167$) después de deshidratarlo en leche descremada - almidón, pero no se detectaron diferencias significativas cuando la matriz de secado fue suero de queso - almidón (Fig. 4).

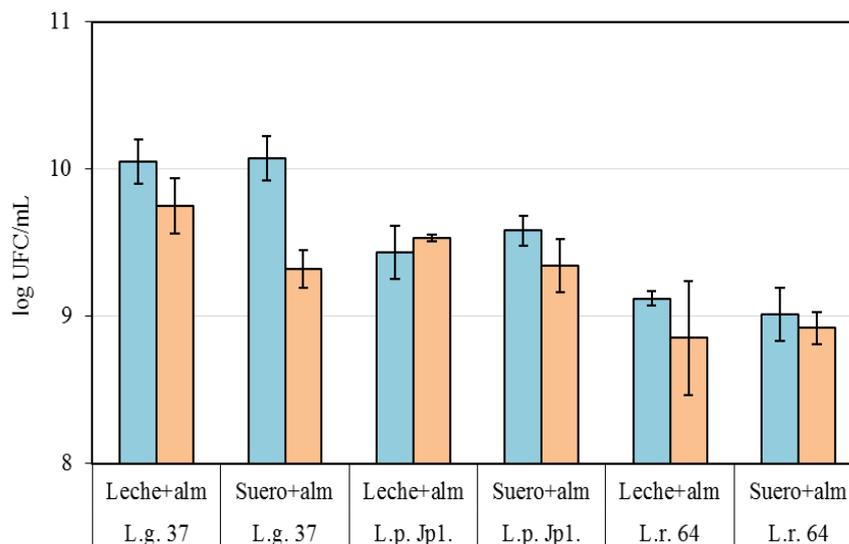


Figura 4. Recuento de células viables de *L. gasseri* 37 (L.g. 37), *L. paracasei* Jp1 (L.p.Jp1) y *L. rhamnosus* 64 (L.r. 64) antes (■) y después (■) del secado spray suero de queso - almidón (10%-10%) y leche descremada - almidón (10%-10%).

Durante el almacenamiento de los cultivos deshidratados a 5°C, la supervivencia fue dependiente de la cepa y de la matriz de secado utilizada (Fig. 5). Durante el segundo mes de almacenamiento, se observó una pérdida en la viabilidad celular de 1,2-1,3 y de 0,4-0,6 órdenes log para *L. gasseri* 37 y *L. paracasei* Jp1, respectivamente, sin diferencias significativas con respecto a la solución de secado utilizada para *L. paracasei* Jp1, pero para *L. gasseri* 37 los recuentos en leche descremada - almidón fueron significativamente mayores ($p = 0,0457$) que los resultados obtenidos en suero de queso - almidón. Para *L. rhamnosus* 64 la reducción del nivel de células viables en leche descremada - almidón fue de 1 orden log, mientras que en suero de queso fue de 0,5 órdenes logarítmicos. A los 6 meses de almacenamiento, las reducciones en órdenes log fueron de 2,2 y 1,6 para *L. rhamnosus* 64 y *L. paracasei* Jp1, respectivamente, independientemente de la matriz. Para *L. gasseri* 37 las reducciones en el número de células viables fueron de 2,5 y 3,7 órdenes log en leche descremada y suero de queso, respectivamente, siendo estadísticamente diferentes ($p = 0,0006$). No se observaron diferencias significativas en los recuentos de células viables entre leche descremada - almidón y suero de queso - almidón durante el almacenamiento para *L. rhamnosus* 64 y *L. paracasei* Jp1. Sin embargo, para *L. gasseri* 37 los recuentos obtenidos en leche descremada - almidón fueron mayores que en suero de queso - almidón a los 2 ($p = 0,0457$), 4 ($p = 0,0003$), y 6 ($p = 0,0006$) meses de almacenamiento.

La supervivencia durante el almacenamiento fue cepa y matriz dependiente, coincidiendo esta observación con lo reportado por Lian y col. (2002) para diferentes cepas de bifidobacterias secadas spray en soluciones al 10% (p/p) de gelatina, goma arábiga y almidón soluble. La mayoría de los trabajos sobre microencapsulación de bacterias probióticas, bifidobacterias y BAL en general, en matrices de secado lácteas, se llevó a cabo utilizando leche descremada como el

componente principal del medio termoprotector (Golowczyc y col., 2011; Fritzen Freire y col., 2012; Paez y col., 2012).

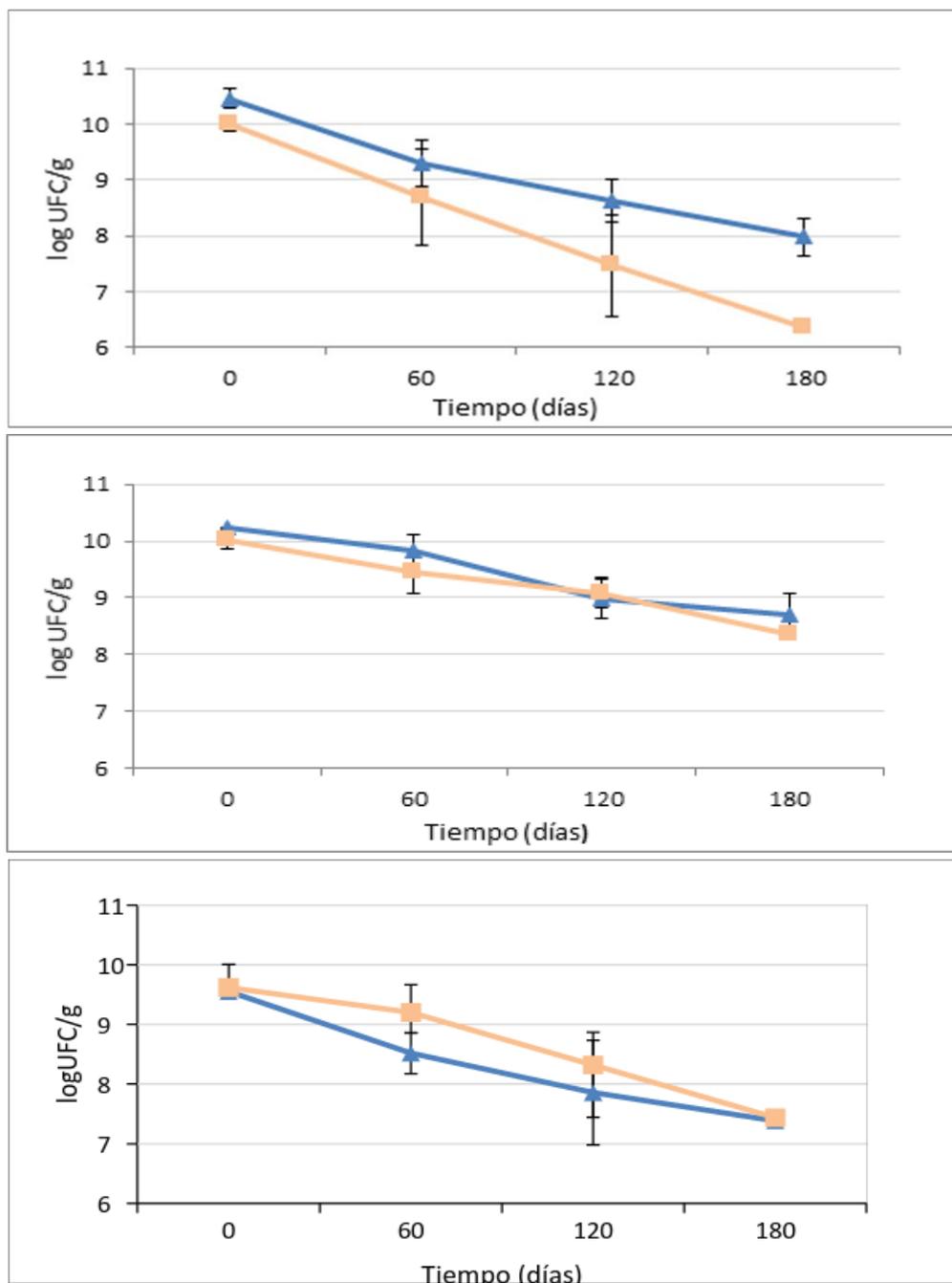


Figura 5. Recuentos de células viables de *L. gasseri* 37 (a), *L. paracasei* Jp1 (b) y *L. rhamnosus* 64 (c) en leche descremada 10% (p/v) - almidón 10% (p/v) (▲) o en suero de queso 10% (p/v) - almidón 10% (p/v) (■) durante el almacenamiento (días) a 5°C.

En particular, *L. rhamnosus* 64 tuvo una pérdida en la viabilidad celular durante el almacenamiento a 5°C durante 2 meses similar a la obtenida por Jantzen y col., 2013; y Soukoulis y col., 2013 donde el suero de queso o proteínas de suero fueron utilizados como el único o el

principal componente de la solución de secado, se observaron 1-2 órdenes log de muerte celular durante los dos primeros meses de almacenamiento a 5°C.

CONCLUSIÓN

El doble uso de suero de queso, como medio de cultivo y como agente termoprotector, es una opción tecnológica innovadora debido a la posibilidad de dar nuevos usos a las grandes cantidades de suero de queso producidas en todo el mundo, al menos contribuyendo de forma parcial a la problemática de su disposición final y al mismo tiempo producir cultivos probióticos deshidratados de alto valor agregado.

BIBLIOGRAFÍA

- FAO/WHO. (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report.
- Fritzen-Freire, C.B.; Prudencio, E.; Amboni, R.; Pinto, S.; Negrao-Murakami, A.N. y Murakami, F.S. (2012) *Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics*. Food Res. Int. 45(1): 306-312.
- Gardiner, G.E.; O'Sullivan, E.; Kelly, J.; Auty, M.A.; Fitzgerald, G.F.; Collins, J.K.; Ross, R.P. y Stanton, C. (2000) Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. Appl. Environ. Microbiol. 66: 2605-2612
- Gregoret, V.; Perezlindo, M.J.; Vinderola, G.; Reinheimer, J. y Binetti, A.A. (2013) A comprehensive approach to determine the probiotic potential of human-derived *Lactobacillus* for industrial use. Food Microbiol. 34: 19-28.
- Guimarães PM, Teixeira JA & Domingues L (2010) Fermentation of lactose to bioethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. Biotechnology Advances 28 375–384
- Golowczyc, M.; Silva, J.; Teixeira, P.; De Antoni, G. y Abraham, A. (2011) Cellular injuries of spray-dried *Lactobacillus* spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. Int. J. Food Microbiol. 144 (3): 556-560.
- Jantzen, M.; Göpel, A. y Beermann, C. (2013) *Direct spray drying and microencapsulation of probiotic Lactobacillus reuteri from slurry fermentation with whey*. J. Appl. Microbiol. 115: 1029–1036.
- Lavari, L.; Páez, R.; Cuatrin, A.; Reinheimer, J. y Vinderola, G. (2014) Use of cheese whey for biomass production and spray drying of probiotic lactobacilli. J. Dairy Res. 81: 267-274.
- Paéz, R.; Lavari, L.; Audero, G.; Cuatrin, A.; Zaritzky, N.; Reinheimer, J. y Vinderola, G. (2013) Study of the effects of spray-drying on the functionality of probiotic lactobacilli. Int. J. Dairy Technol. 66: 155-161.
- Paéz, R.; Lavari, L.; Audero, G.; Cuatrin, A.; Zaritzky, N.; Reinheimer, J. y Vinderola, G. (2012) Study of the effects of spray-drying on the functionality of probiotic lactobacilli. Int. J. Dairy Tech. 66(2): 155-161.
- Peters, R.H. (2005) Economic aspects of cheese making as influenced by whey processing options. Int. Dairy J. 15: 537-545.
- Schuck, P.; Dolivet, A.; Méjean, S.; Hervé, C. y Jeantet, R. (2013) Spray drying of dairy bacteria: New opportunities to improve the viability of bacteria powders. Int. Dairy J. 31: 12-17.
- Siso, G.M.I. (1996) The biotechnological utilization of cheese whey: a review. Bioresour. Technol. 57: 1-11
- Soukoulis, C.; Behboudi-Jobbehdar, S.; Yonekura, L.; Parmenter, C. y Fisk, I. (2013) Impact of milk protein type on the Viability and storage stability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 using spray drying. Food Bioproc. Technol. 7 (5): 1255-1268.
- Vasiljevic, T. y Shah, N.P. (2008) Probiotics - From Metchnikoff to bioactives. Int. Dairy J. 18(7): 714-728.
- Vinderola, G.; Capellini, B.; Villarreal, F.; Suárez, V.; Quiberoni, A. y Reinheimer, J. (2008) Usefulness of a set of simple in vitro tests for the screening and identification of probiotic candidate strains for dairy use. LWT-Food Sci. Technol. 41: 1678-1688.

CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD Y ESTUDIO DE INOCUIDAD DE LECHE Y QUESOS ARTESANALES PRODUCIDOS EN TAMBOS FÁBRICA DE ENTRE RÍOS

COSTABEL, L^{1*}, AUDERO, G¹; COSTAMAGNA, D¹, BUTARELLI, S²⁻, TRULLS, B³⁻,
BOFFA, S³⁻, MANCUSO, W³⁻, AIMAR, B⁴, KARLEN, J⁴, AGUILAR, L⁴,
PÁEZ, R¹⁻

¹INTA EEA Rafaela. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;

²INTA AER Nogoyá, Hipólito Irigoyen 660 (3150), Nogoyá, Entre Ríos, Argentina.

³INTA OIT Hernandarias, Ruta Prov. N° 8 (3127), Hernandarias, Entre Ríos, Argentina.

⁴INTI Lácteos, Ruta Nac34 km 227.6, Rafaela, Santa Fe, Argentina.

*Autor de contacto: costabel.luciana@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La elaboración de quesos artesanales en Argentina se desarrolla en la mayoría de los establecimientos lecheros como recurso económico complementario. En Entre Ríos, esta actividad es relevante, con un volumen apreciable y una demanda acotada del mercado local, que podría ser aún más promisorio si se ofreciera al consumidor un producto seguro y de calidad uniforme. Estos productos no se hallan contemplados en la legislación vigente. Se elaboran utilizando metodologías que se transmiten familiarmente en forma oral. En las elaboraciones se utiliza leche entera cruda de vaca. Durante el proceso, muchos pasos se realizan manualmente. La venta de quesos se produce en un mercado informal sin ser sometidos a una maduración completa y evaluación microbiológica previa a su destino final, el consumidor (Butarelli y Erbetta, 2010).

La situación del sector productivo de quesos artesanales en diversas regiones del país, indica la imperiosa necesidad de realizar acciones conducentes a mejorar las prácticas de elaboración. Sin embargo, es indispensable contemplar la idiosincrasia particular de los productores con costumbres fuertemente arraigadas y que no evidencian en principio intención de cambio.

El objetivo de este trabajo fue realizar una caracterización de calidad y estudio de inocuidad en leche y quesos artesanales para contribuir a la formalización y desarrollo de la quesería artesanal a través de la mejora de calidad e inocuidad de los productos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron para este estudio 18 tambos-fábrica de dos zonas productoras de quesos de la provincia de Entre Ríos: 9 tambos de la zona Centro – Norte y 9 tambos - fábrica de la zona Sur – Oeste. Los tambos-fábrica seleccionados se caracterizaron por no pasteurizar la leche para la elaboración de los quesos y por ser comercializados antes de cumplir con el período de maduración mínimo exigido por el Código Alimentario Argentino (CAA). En cada uno de ellos, se realizó un

muestreo de leche y agua en las cuatro estaciones del año. Además, en dos estaciones del año se realizaron muestreos de los quesos elaborados con esas leches.

Muestras de leche

En las muestras de leche se realizaron análisis de composición química por metodología IR, según norma ISO 9622 IDF 141:2013. Además, se evaluó la calidad higiénico sanitaria de las muestras, a través de la determinación de recuentos de células somáticas (RCS) y de bacterias totales (RBT). También se realizaron análisis de microorganismos indicadores de higiene y patógenos: bacterias coliformes y *E.coli* (según Método Alternativo Oficiales AOAC 986.33, 989.10 y 991.14), *Salmonella* (FIL 93B:1995), *Staphylococcus aureus* (FIL 145A:1997) y *Brucella*. (Prueba en Placa con Antígeno BPA, y Ensayo de Polarización Fluorescente (FPA) en microplacas, Manual de Diagnóstico Serológico de la Brucelosis Bovina (SENASA) basado en la metodología descrita en la norma de referencia internacional OIE, Bovine Brucellosis, versión vigente)

Muestras de agua

Con la finalidad de establecer si el agua de los establecimientos se encontraba dentro de los parámetros microbiológicos exigidos por el CAA, se realizaron análisis de RBT, bacterias coliformes, *E.coli* y *Pseudomonas*, utilizando métodos oficiales.

Quesos

Se realizaron análisis de composición fisicoquímica en los quesos por métodos normalizados: proteínas, grasa y humedad de acuerdo a las normas internacionales IDF (IDF, 1993; IDF, 1997; IDF, 1982). Los resultados de proteínas y grasa se expresaron en base seca. NaCl se determinó según norma IRAM 14023-2 (2008). El pH fue determinado por medio del método descrito por Bradley et al. (1993), por inmersión de un electrodo de pH Schott (Schott Instrument, Mainz, Alemania) en un homogeneizado de queso triturado en agua destilada en una proporción 1:1.

Los recuentos de Coliformes, *E.coli*, *Salmonella* y *S. aureus* se realizaron utilizando las normas mencionadas para leche.

Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos, se realizaron en el momento en que los quesos salen a la venta (15 días) y a los 60 días de maduración, o sea al mínimo tiempo de maduración exigido por el CAA para quesos elaborados con leche cruda.

Diagnóstico de las unidades productivas

En todos los tambos participantes de este estudio, conjuntamente entre INTA e INTI, se desarrollaron diagnósticos técnico - territoriales para determinar el estado de situación de las unidades productivas bajo estudio, evaluando las condiciones de infraestructura en las cuales se producen los quesos. Se utilizaron como herramientas una lista de chequeo (Check- list), registros fotográficos, muestreos en diferentes puntos del proceso (leche, agua, cuajada, producto final),

controles higiénicos y ambientales y un seguimiento microbiológico de los quesos durante su maduración.

Acciones de intervención

Se realizaron talleres con los productores y el equipo de trabajo INTA-INTI, en los cuales se presentaron y discutieron los resultados obtenidos, también se llevaron a cabo cursos teórico-práctico de elaboración de quesos. Además, se entregaron en los talleres cartillas y protocolos de elaboración con sugerencias a tener en cuenta para mejorar la calidad de los productos elaborados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

• LECHE

Composición química

En la Tabla 1 se presentan las estadísticas descriptivas de las variables analizadas. Los promedios de grasa, proteína y lactosa fueron 3,49, 3,29 y 4,7 % respectivamente. Los valores hallados coinciden con los frecuentemente encontrados en las leches de Argentina (Taverna, 2007).

Tabla 1. Valores promedio \pm DE de las variables analizadas en leche cruda. Los valores corresponden al promedio de los muestreos realizados en las 4 estaciones del año en las dos zonas de muestreo analizadas en este estudio.

pH	Grasa (%)	Proteínas (%)	Lactosa (%)	Sólidos Totales (%)
6,7 \pm 0,11	3,49 \pm 0,44	3,29 \pm 0,17	4,76 \pm 0,13	12,29 \pm 0,47

Tanto la concentración de grasa como de proteínas presentaron variación estacional (Figura 1). Los valores máximos y mínimos de grasa se hallaron en verano y primavera respectivamente, mientras que los valores máximos de proteína se presentaron en invierno, encontrándose en primavera el mínimo valor. En la leche producida en Argentina por lo general se presentan valores máximos de grasa y proteína en invierno, mientras que en verano se presentan los valores más bajos en ambos parámetros (Taverna, 2007), datos que no concuerdan con lo encontrado en el presente estudio. La composición de la leche varía bajo el efecto conjunto de factores ligados al ambiente o el manejo (alimentación, estación del año, ordeño) y al animal (factores genéticos, momento y número de lactancia, sanidad) (Walstra et al., 2001). En la práctica, ciertos factores resultan poco o nada modificables por el productor (momento de la lactancia o estado fisiológico), mientras que otros, como la genética, la alimentación y la sanidad, pueden ser manipulados. Bajo este contexto, se recomienda trabajar en éstos últimos aspectos mediante la capacitación y el asesoramiento, realizando mayores ajustes nutricionales en las dietas suministradas.

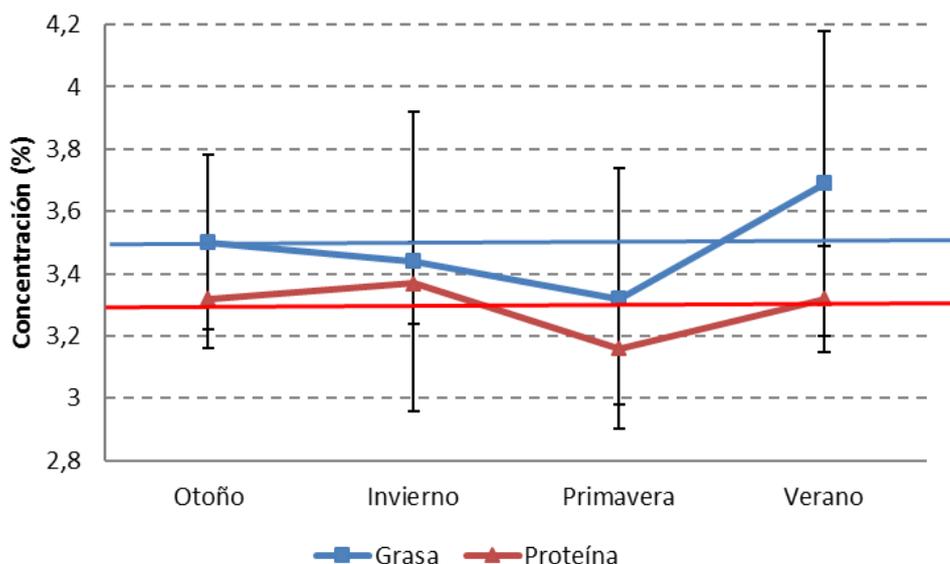


Figura 1. Variación estacional de las variables grasa y proteína. Los valores corresponden al promedio de las dos zonas analizadas.

Calidad higiénico-sanitaria

Los dos parámetros más importantes que definen la calidad higiénico-sanitaria de la leche son el Recuento de Células Somáticas (RCS) y el Recuento de Bacterias Totales (RBT).

En la Figura 2 se presenta el porcentaje de tambos agrupado por rangos de RCS (hasta 200.000 cel/ml; entre 200 y 400.000cl/ml y más de 400.000 cl/ml) y RBT (hasta 50.000 UFC/ml; entre 50 y 200.000 UFC/ml y más de 200.000 UFC/ml). Los resultados por zona fueron similares, por esta razón se presenta para cada parámetro el promedio de las dos zonas. Se observó que más del 50% de los tambos presentó valores mayores a 400.000 células somáticas (RCS/ml) y el 23% de ellos obtuvo valores por encima de 200.000 bacterias (UFC/ml). El Código Alimentario Argentino establece que la leche para ser considerada apta para su industrialización y consumo, debe tener como máximo un RCS de 400.000 cel/ml y un RBT de hasta 200.000 UFC/ml. Esto demuestra la necesidad de trabajar en la calidad higiénico-sanitaria de la leche a través de la transferencia y capacitación de los productores en temas como rutina de ordeño, lavado de equipos, instalaciones: callejones, ingreso y salida del corral de espera, corrales de encierro y sobretodo en la aplicación de planes preventivos y curativos de mastitis, entre otros.

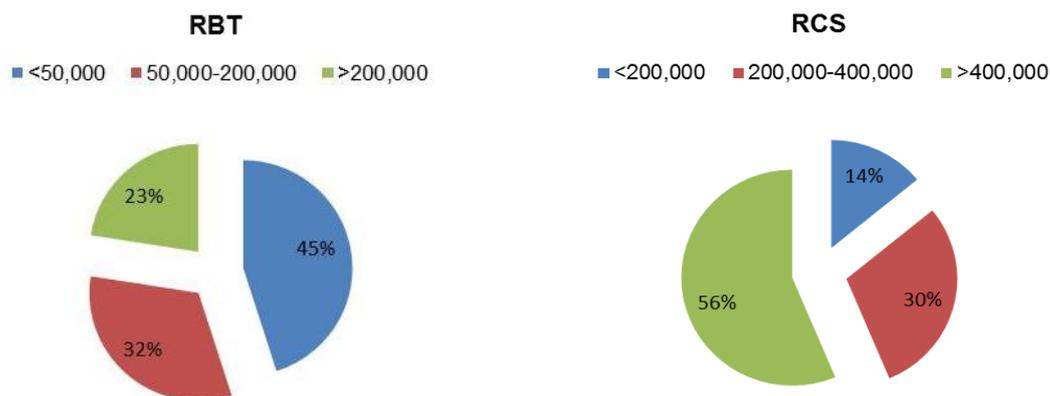


Figura 2. Porcentaje de tambos agrupados por recuentos de RBT y RCS en leche cruda

Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes son consideradas como indicadores de la higiene general y de riesgos sanitarios por contaminación fecal. También son responsables del hinchado precoz y de la aparición de gustos indeseables en quesos. Por esta razón, un número reducido de estas bacterias minimiza los riesgos mencionados, y permite obtener quesos sin defectos. El 97% de las muestras presentaron valores inferiores a 1000 UFC/ml.

Bacterias patógenas

A través del proceso de pasteurización de la leche, es posible eliminar a las bacterias patógenas presentes. El CAA establece que cuando la leche es de buena calidad higiénico- sanitaria y es destinada a la elaboración de quesos que se sometan a un proceso de maduración a una temperatura superior a los 5°C durante un lapso no menor de 60 días, queda excluida de la obligación de ser pasteurizada o de realizar algún otro tratamiento térmico (ANMAT 2016, Código Alimentario Argentino. Cap. VIII: Alimentos lácteos). La caracterización de bacterias patógenas se realizó teniendo en cuenta que en ninguno de los establecimientos analizados se lleva a cabo el proceso de pasteurización como paso previo a la elaboración de quesos, y además los mismos son consumidos antes de completar el período de maduración de 60 días. El 80% de los tambos presentó valores de *E. coli* <10 UFC/ml. Sin embargo, el 20% de ellos presentó valores elevados, indicando un riesgo para la salud de los consumidores sobre todo considerando que no se lleva a cabo el proceso de pasteurización de la leche. En el 57% de los tambos se encontró presencia de *Staphylococcus aureus*. Este patógeno puede provenir de la vaca (glándula mamaria infectada, piel de los pezones, etc.), de los operarios, de los utensilios o del ambiente. Este dato refuerza la necesidad de trabajar siguiendo una correcta rutina de ordeño, asegurando la limpieza de equipos e instalaciones e identificando casos de vacas con mastitis. Todos los tambos fueron negativos para brucelosis.

- **AGUA**

Calidad higiénico-sanitaria

La calidad bacteriológica del agua en los establecimientos lecheros es de relevancia para las distintas actividades realizadas durante el ordeño, y en el caso de tambos-fábricas de Entre Ríos, para el proceso de manufactura. En los establecimientos bajo estudio, el agua que se utiliza para ambas actividades proviene de perforaciones (agua de pozo).

En ambas zonas, el recuento de coliformes superó el valor límite para consumo humano según la normativa vigente (< 3 UFC/ml). En el caso del Recuento de Bacterias Totales (RBT), en la zona norte, el 33,3% de los tambos superaron el valor establecido por el CAA (>500 UFC/ml). En la zona sur, el RBT estuvo por debajo de lo establecido en el CAA. Todos los establecimientos presentaron resultados positivos a *E. coli* y la totalidad de ellos presentó ausencia de *Pseudomonas*. Los resultados de este estudio muestran que los tambos evaluados tienen agua de calidad bacteriológica deficiente, no apta para el proceso de manufactura. Estos valores pueden ser un indicio de falta de buenas prácticas higiénicas en el sistema de almacenamiento del agua, lo que pone de manifiesto la necesidad de contar con algún método potabilizador del agua.

- **QUESOS**

Composición fisicoquímica

La Tabla 2 muestra las características fisicoquímicas y el pH de los quesos analizados a los 60 días de maduración. Teniendo en cuenta los valores promedios y considerando los criterios de clasificación del CAA, en función del contenido de humedad los quesos clasifican como quesos de pasta semidura o de mediana humedad (contenido de humedad entre 36 y 54,9 %). Sin embargo, en ambas zonas existen quesos que clasifican como quesos de pasta dura (humedad hasta 35,9%). En función del contenido de grasa, se clasifican como quesos grasos (contenido de materia grasa en el extracto seco entre 45 y 59,9%). Hay que considerar que estos valores se deben a que la leche no es estandarizada antes de realizar las elaboraciones de los quesos en ninguno de los establecimientos estudiados. El valor promedio de NaCl de los quesos fue 2,29 %. Si bien el contenido de sal no está establecido en el CAA, los quesos presentaron valores superiores a los frecuentemente encontrados en este tipo de quesos (menores al 2%). Esto se debe a que en la mayoría de los establecimientos no se respeta el tiempo de permanencia de los quesos en salmuera, que debería ser de un día por kilo, sino que los quesos permanecen en salmuera hasta el momento en que son retirados por el acopiador. Se observó una gran variabilidad entre los valores de composición química y pH encontrados en los quesos, entre las dos zonas e incluso dentro de la misma zona. Esto se debe a que no trabajan bajo un procedimiento estandarizado, lo que se debería ajustar si se quiere hablar de un producto característico de la región.

Tabla 2. Valores promedio \pm DE de las variables analizadas en quesos. Los valores promedio corresponden a los muestreos realizados en 2 estaciones del año

Zona	Parámetros	Grasa (%)	Proteína (%)	Humedad (%)	CINa (%)	pH
Norte	X	50,86	26,24	38,67	2,16	5,5
	Max.	62,19	30,67	44,02	2,86	5,99
	Min.	30,32	22,25	33,22	1,23	5,24
	DE	7,80	2,11	3,12	0,45	0,23
Sur	X	53,81	25,18	37,56	2,42	5,38
	Max.	61,37	26,76	42,09	3,02	5,64
	Min.	44,58	23,78	31,72	1,55	5,16
	DE	3,52	1,00	3,16	0,34	0,16

Calidad microbiológica

Bacterias coliformes

A los 15 días de maduración, los quesos de un 6 y un 17% de los tambos de la zona Norte y Sur respectivamente, presentaron un recuento de coliformes totales por encima del valor establecido por el CAA (< 10 UFC/g), lo que evidencia problemas de higiene general. A los 60 días de maduración, el nivel de Coliformes disminuye, presentando los quesos de la zona norte valores óptimos, mientras que un 6% de los quesos de la zona sur presentaron un recuento >10 UFC/g.

Escherichia coli y Salmonella

Los recuentos de ambos microorganismos estuvieron dentro de los límites establecidos por el CAA (Ausencia de *E. coli* y *Salmonella*). Durante la maduración, se genera en los quesos condiciones adversas para el desarrollo de los microorganismos patógenos (bajo pH, anaerobiosis, bajo contenido de humedad), lo cual pudo ocasionar que al final de la maduración, se obtuvieron quesos que presentaron un recuento adecuado para esos microorganismos.

Staphylococcus aureus

A los 15 días de maduración, en las dos zonas estudiadas, el 50% de los quesos presentaron presencia de *S. aureus*. El CAA establece que en los quesos este microorganismo debe estar ausente. A los 60 días de maduración, si bien los recuentos disminuyen, los valores no se negativizaron, en un 44% de los quesos analizados se detectó presencia de este microorganismo.

DIAGNÓSTICO DE LAS UNIDADES PRODUCTIVAS

Analizando la información obtenida se puede mencionar que el 79% de los establecimientos no cuenta con ingreso sanitario y el 68% no presenta instalaciones eléctricas aptas. Las condiciones edilicias generales fueron precarias en un 84% de los casos. Ninguno de los establecimientos posee agua potable y el 89% no realiza un procedimiento adecuado de limpieza y desinfección. En cuanto al equipamiento y utensilios, el 90% cuenta con tinajas y mesas de acero inoxidable y un 79% utiliza utensilios de madera. El 74% de las prensas utilizadas en el proceso están construidas de material apto para el contacto con productos alimenticios. Si bien el 78% recibe la materia prima de forma

directa del tambo, ésta no cumple con los criterios microbiológicos, debido a una baja calidad sanitaria de la leche y un deficiente procedimiento de limpieza y desinfección del circuito. Durante el proceso de elaboración el 80% no controla parámetros productivos como pH, acidez y densidad de salmuera. Analizando la evolución del recuento de coliformes durante el proceso de elaboración, se observó que la mayor contaminación microbiológica se presentó en etapas en las cuales existe manipulación de la cuajada (corte y moldeo), lo que pone de manifiesto una higiene de manos y utensilios inadecuada (Figura 3). El 84% no realiza un mantenimiento adecuado de la salmuera, evidenciándose en altos recuentos de hongos y levaduras. En ningún establecimiento, se cumple con la maduración completa de los quesos debido a su forma de comercialización.

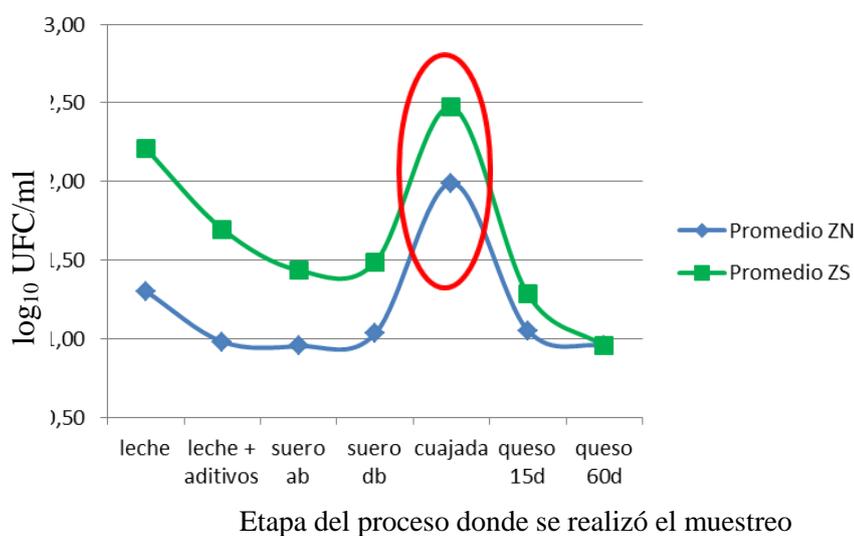


Figura 3. Evolución del recuento de bacterias coliformes, expresados en log₁₀ UFC/ml, durante el proceso de elaboración.

ACCIONES DE INTERVENCIÓN

Se realizaron 2 talleres, uno por zona, en los cuales se presentaron y discutieron los resultados obtenidos. Se hizo principal énfasis en acciones de mejoras de fácil adopción por parte de los mismos. Se destacó la importancia de trabajar bajo protocolos, y cuidando en todo momento la higiene durante las elaboraciones. En la figura 4, se presentan algunas de las cartillas entregadas. Las mismas se entregaron plastificadas, de modo de que los queseros las puedan colgar en sus establecimientos, permitiéndoles una fácil visualización y adopción.



Figura 4. Ejemplos de cartillas entregadas a los productores queseros durante los talleres de presentación y discusión de resultados

Se realizaron dos capacitaciones teórico-prácticas en una quesería de la zona sur de Entre Ríos y una capacitación en la zona norte. En las mismas se volvió a poner particular énfasis en cuestiones asociadas a higiene durante la manufactura de los productos. Participaron de las capacitaciones los queseros de los tambos queserías involucrados en este estudio. Al igual que en los talleres, se destacaron procedimientos necesarios de implementar para garantizar quesos de calidad e inocuidad.

CONCLUSIONES

En relación a la materia prima, se observó una deficiente calidad higiénico-sanitaria de la misma, lo que pone de manifiesto la necesidad de trabajar en prácticas sanitarias.

En cuanto a los quesos, teniendo en cuenta que la materia prima no es apta, y que los mismos se elaboran con leche sin pasteurizar, se deberían realizar análisis microbiológicos del producto cuando sale a la venta, para garantizar su inocuidad.

Este estudio pone de manifiesto que partiendo de una materia prima de calidad no apta, los 60 días de maduración establecidos por el CAA no alcanzan para garantizar la inocuidad de quesos duros.

De los resultados del diagnóstico en las unidades productivas, se observa que es necesario implementar mejoras edilicias en la mayoría de los casos. No obstante, se mejoraría mucho si se adquieren y refuerzan aspectos relacionados con BPM.

Se observó predisposición por parte de los productores por mejorar la calidad de sus quesos, lo que les permitiría agregar valor a sus productos, pudiendo acceder a nuevos mercados.

BIBLIOGRAFÍA

- ANMAT (2016). Código Alimentario Argentino. Cap. VIII: Alimentos lácteos. En vigencia. <http://www.anmat.gov.ar>.
- ANMAT (2016). Código Alimentario Argentino. Cap. VII: Bebidas hídricas, agua y agua gasificada. En vigencia. <http://www.anmat.gov.ar>
- Butarelli, S y Erbeta, H. (2010) La producción de quesos artesanales y la práctica asociativa. Un enfoque alternativo en las estrategias de reproducción de las empresas agropecuarias familiares. Departamento Nogoyá, Provincia de Entre Ríos, República Argentina. XIV Jornadas Nacionales de Extensión Rural y VI del Mercosur
- Solís Méndez, A. D.; Estrada Flores J.G.; Castelán Ortega, A.A. (2009) Propuesta metodológica. Caracterización de quesos artesanales. En: Producción sustentable calidad y leche orgánica. Universidad Autónoma Metropolitana, Eds. Luis Arturo García Hernández y Luuis Brunett Pérez. ISBN 978-607-477-198-5
- Taverna, M.A. (2007) Composición química de la leche producida en Argentina. En: Revista IDIA XXI Lechería. Ediciones INTA. Páginas 112-117. ISBN 987-521-0044-7.
- Walstra, P.; Geurts, T. J.; Noomen, A.; Jellema, A. y van Boekel, M. A. (2001) Ciencia de la leche y tecnología de los productos. Editorial ACRIBIA S.A., Zaragoza, España

EVALUACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEGIAS PARA ACELERAR LA MADURACIÓN DE QUESO REGGIANITO

COSTABEL, L.^{1*}; BERGAMINI, C.²; VAUDAGNA, S.^{3,4}; CUATRIN, A.¹; AUDERO, G.¹;
HYNES, E.²

¹INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;

²Instituto de Lactología Industrial, UNL/CONICET, Santa Fe, Argentina;

³Instituto Tecnología de Alimentos (ITA), INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina;

⁴CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Autor de contacto: costabel.luciana@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La maduración de los quesos es la etapa más larga del proceso productivo general. Mientras que los trabajos de transformación de la leche en cuajada en tina se miden en minutos, la maduración se mide en días, meses o años. En particular en el caso de quesos duros, este período puede durar entre 6 meses y 2 años. El incremento de la proteólisis y peptidólisis mediante diversas estrategias tecnológicas, ya sea a través de operaciones simples o la aplicación de tecnologías innovadoras, aparecen como muy favorable desde el punto de vista de la aceleración de la maduración, y por consiguiente, de la disminución de los costos de producción de un alimento de elevado valor agregado (Fox et al., 2000; Zalazar et al., 2006). Lo que se busca es reducir un tiempo de espera significativo en el costo del producto, sin alterar la bioquímica de la maduración. Se han ensayado diversas estrategias para acelerar la maduración de quesos duros, como el queso Reggianito. Dentro de éstas, se puede mencionar el aumento de la temperatura de maduración (Ceruti et al., 2012; Sihufe et al., 2010). Si bien los resultados obtenidos han sido muy prometedores, esta estrategia no ha sido aún utilizada en la industria quesera. Otra estrategia involucra la adición de enzimas exógenas, como proteasas, carboxypeptidasas y lipasas (Azarnia et al., 2011; El Soda y Awad, 2003; Fox et al., 2000; Kailasapathy y Lam, 2005; Sihufe et al., 2011; Wilkinson y Kilcawley, 2005). En el caso de quesos duros, el uso de lipasas resultó muy satisfactorio. Muchas lipasas han sido utilizadas para acelerar la maduración de los quesos duros. En general, el uso de proteasas no ha sido muy aconsejable, debido a que causan modificaciones en el desarrollo de la proteólisis, y consecuentemente producen defectos en la textura y el sabor de los quesos (Wilkinson y Kilcawley, 2005). Además, las enzimas son un ingrediente de alto costo, y las pérdidas de las mismas en el suero de quesería son elevadas (Upadhyay y McSweeney, 2003; Wilkinson y Kilcawley, 2005). Por esta razón, una de las estrategias planteadas en este trabajo, consistió en incrementar la actividad de enzimas que están naturalmente presentes en los quesos, como son la enzima coagulante y la plasmina. El coagulante agregado a la leche para producir la transformación casearia es capaz de intervenir en mayor o menor medida en la degradación de las caseínas, según el tipo de queso (Hynes et al., 2004a; Bansal et al., 2007;). Asimismo, la plasmina – una proteasa nativa de la leche – degrada algunos de los componentes individuales de las caseínas durante la maduración de los productos (Farkye y Fox, 1992; Fox et al., 2000; Ismail y Nielsen, 2010). El incremento de tales actividades por modificaciones tecnológicas, puede conducir a una

proteólisis más rápida o de mayor avance en los productos finales (Farkye y Fox, 1992; Hynes et al., 2004b). También en este trabajo, se planeó el Tratamiento de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) como una estrategia innovadora que puede ser utilizada con el objetivo principal de disminuir el período de maduración de los quesos (O'Reilly et al., 2001; Trujillo et al., 2002; San Martín Gonzalez et al., 2007). El objetivo de este trabajo fue acelerar la maduración de queso Reggianito, mediante modificaciones de la tecnología tradicional, destinadas a incrementar la proteólisis y peptidólisis. Las estrategias evaluadas fueron las siguientes: i) incremento de la actividad de enzimas proteolíticas no microbianas, la enzima coagulante residual y la plasmina, a través de una modificación de la temperatura de cocción en presencia de dos coagulantes diferentes; y ii) aplicación de la tecnología de Altas Presiones Hidrostáticas (APH).

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de los quesos

En la primera experiencia, se estudió la influencia del tipo de coagulante y de la temperatura de cocción sobre la proteólisis y la actividad de la enzima coagulante residual y de la plasmina. Se utilizaron dos temperaturas de cocción diferentes: 50 y 56°C, y dos tipos de coagulantes: quimosina bovina (CH) y quimosina de camello (CA), ambas obtenidas por fermentación de microorganismos modificados genéticamente. Se elaboraron quesos Reggianito miniatura, utilizando un conjunto de tinas individuales y las muestras se almacenaron por 90 días a 12°C.

En la segunda experiencia, se estudió el efecto del tratamiento con APH, aplicando diferentes combinaciones presión-tiempo de mantenimiento, sobre la composición química, el pH, los recuentos microbiológicos, la proteólisis, la peptidólisis, la actividad de enzimas proteolíticas no microbianas, la textura, los parámetros cromáticos y los atributos sensoriales del queso Reggianito. Para ello, se elaboraron quesos Reggianito miniatura en la miniplanta quesera del INTA EEA Rafaela, a los cuales se les aplicó presiones de 100 MPa durante 5 (T1) y 10 (T2) min y 400 MPa durante 5 (T3) y 10 (T4) min a 20°C el día posterior a la elaboración. Algunos quesos no fueron tratados con APH, los que se consideraron como controles (C). Todos los quesos se maduraron durante 90 días a 12°C.

Análisis de los quesos

Los quesos de ambas experiencias fueron analizados al inicio, a los 45 y a los 90 días de maduración. Se realizaron análisis de composición de proteínas totales, grasa, materia seca y pH de acuerdo a métodos de referencia (FIL-IDF N° 20 B 1993; FIL-IDF N° 152 A 1997; FIL-IDF N° 4 A, 2004, Bradley et al., 1993 respectivamente), recuentos microbiológicos (recuento total de flora láctica termofílica en APC-leche (Candioti et al., 2002) y recuentos de microorganismos en MRS incubados a 30 y 45°C en los quesos de la segunda experiencia (Corsetti et al., 1998), actividad de plasmina (Richardson y Pearce, 1981) y enzima coagulante residual (Hurley et al., 1999), y seguimiento de la proteólisis, por medio de análisis de las fracciones nitrógeno soluble (Gripon et al., 1975; Hynes et al., 2003), electroforesis en gel de poliacrilamida aplicando un sistema de gel discontinuo en el cual la concentración de acrilamida de 4% para el gel de apilamiento, y de 7,5% para el gel de separación (Hynes et al., 1999) y péptidos solubles en agua por HPLC (Hynes et

al.,2003). En los quesos de la segunda experiencia, se determinaron además los aminoácidos libres totales y aminoácidos libres, utilizando un analizador de aminoácidos (Cattaneo et al., 2014), y se realizaron análisis de textura y color por métodos instrumentales (Costabel 2015) y sensoriales con panel entrenado (Meilgaard et al., 2007).

Análisis estadístico

En la primera experiencia, la concentración de grasa, proteínas, humedad, plasmina y plasminógeno fueron procesadas por análisis de varianza de dos vías (ANOVA). Para las demás variables, el tiempo de maduración, el tipo de coagulante utilizado y las diferentes temperaturas de cocción de los diferentes tratamientos aplicados fueron seleccionados como factores principales para el análisis. Se utilizó un diseño factorial para medias repetidas en el tiempo (PROC MIXED, SAS Ver. 9.2, SAS Institute, Inc., Cary, Estados Unidos). En el caso en que la interacción resultó significativa ($P \leq 0,05$), se procedió a la "apertura" de la misma. Esto consiste en probar las hipótesis correspondientes a los efectos simples de uno de los factores para cada uno de los niveles del otro factor, considerando como término de error el correspondiente al modelo completo. Posteriormente, para cada efecto simple que resultó significativo se aplicó una prueba de comparaciones múltiples (Prueba de LSD) para detectar grupos de niveles homogéneos ($\alpha = 0,05$).

En la segunda experiencia, los resultados de composición química, pH, recuentos microbiológicos, actividad coagulante residual y de plasmina, fracciones nitrogenadas, aminoácidos libres y textura fueron analizados utilizando un diseño factorial para medidas repetidas en el tiempo descripto anteriormente (PROC MIXED, SAS Ver. 9.2, SAS Institute, Inc., Cary, Estados Unidos). El tiempo de maduración y los diferentes tratamientos aplicados, incluyendo el control, fueron seleccionados como factores principales para el análisis. Los perfiles peptídicos se analizaron por métodos multivariados, incluyendo una metodología denominada lógica difusa ("fuzzy approach") para la pre-reducción de los datos obtenidos por HPLC (Piraino et al., 2004). El nuevo set de datos fue entonces analizado por análisis de componentes principales (PCA), usando la aplicación SPSS® (SPSS Inc., Chicago, IL) (Pripp et al., 2000 a,b).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primera experiencia

La temperatura de cocción influyó sobre la actividad coagulante residual, verificándose que los quesos en los cuales la misma fue de 50°C retuvieron una actividad significativamente mayor ($p < 0,05$) que los tratados a 56°C (Tabla 1). Por el contrario, la temperatura de cocción no modificó la actividad de la plasmina.

Tabla 1. Actividad coagulante residual ($\text{nmol producto h}^{-1} \text{g}^{-1}$), pH y fracciones NS en los quesos expresadas como porcentaje del N total durante la maduración (promedio \pm DS de las cuatro réplicas de elaboración de quesos) a diferentes temperaturas de cocción y para los dos coagulantes evaluados.

Item	Tiempo	Quesos			
		Quimosina de Camello		Quimosina bovina	
		50 °C	56 °C	50 °C	56 °C
Actividad coagulante	6	183,8 \pm 46,8	63,2 \pm 28,3	124,2 \pm 15,8	56,8 \pm 39,3
	50	269,8 \pm 64,1	132,1 \pm 34,4	194,0 \pm 74,6	169,9 \pm 30,6
	90	321,6 \pm 48,2	276,1 \pm 30,4	326,4 \pm 66,8	249,2 \pm 35,6
NS-pH 4,6	6	5,0 \pm 0,6	3,1 \pm 1,5	5,0 \pm 0,2	4,7 \pm 0,1
	50	7,7 \pm 0,4	6,1 \pm 0,9	9,2 \pm 0,8	6,6 \pm 0,2
	90	8,9 \pm 0,2	7,8 \pm 1,9	10,5 \pm 0,7	10,2 \pm 1,7
NS-TCA	6	2,8 \pm 0,3	1,1 \pm 0,1	3,0 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1
	50	6,7 \pm 0,3	2,7 \pm 0,8	7,0 \pm 0,5	5,2 \pm 0,6
	90	7,7 \pm 0,1	4,9 \pm 1,1	8,7 \pm 0,3	6,4 \pm 0,1
NS-PTA	6	1,4 \pm 0,1	0,8 \pm 0,4	1,3 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
	50	3,2 \pm 1,0	1,7 \pm 0,3	3,3 \pm 0,4	2,2 \pm 0,1
	90	4,5 \pm 0,7	2,5 \pm 0,7	5,6 \pm 0,1	3,4 \pm 0,1

Nota: Para la actividad de quimosina, los valores resaltados muestran que la actividad coagulante al final de la maduración fue mayor que en los quesos recién elaborados.

Durante la maduración se verificó una reactivación de esta enzima. La reactivación fue más importante cuando los quesos fueron tratados a mayor temperatura. Estudios previos realizados en queso Reggianito hallaron una tendencia similar, aunque incluían temperaturas de cocción muy elevadas, de hasta 60°C (Hynes et al., 2004b).

La proteólisis primaria también resultó afectada por la temperatura de cocción. Se observó que la hidrólisis de la caseína α_{s1} , la cual es mediada principalmente por la quimosina, fue menor en los quesos cuya temperatura de cocción fue de 56°C (Figura 1).

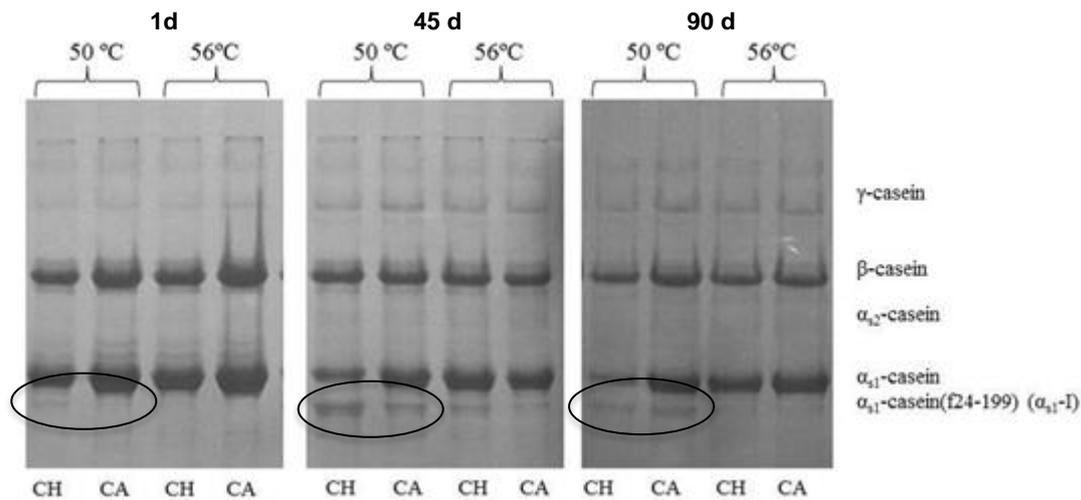


Figura 1. Perfil electroforético de la fracción insoluble en agua a pH 4,6 durante la maduración. Los óvalos muestran la mayor hidrólisis de la caseína α_{s1} en los quesos cuya T de cocción fue 50°C.

Los resultados de los perfiles electroforéticos concuerdan con los obtenidos para la actividad coagulante residual. Los quesos de 50°C, que mostraron mayor actividad coagulante residual, también mostraron una mayor degradación de la caseína α_{s1} con una consiguiente mayor producción del péptido α_{s1} -I (f24-199).

Además, el contenido de nitrógeno en las fracciones solubles resultó menor en los quesos tratados a 56°C que en los tratados a 50°C (Tabla 1). Se observó una influencia significativa ($p < 0,05$) del tipo de coagulante utilizado, especialmente en las fracciones nitrogenadas y en los perfiles peptídicos (Figura 2); ambos indicadores mostraron que la quimosina de camello fue levemente menos proteolítica que la quimosina bovina, lo que se evidenció principalmente a los 56°C. Sin embargo, esas diferencias resultaron menores que las debidas a la temperatura de cocción.

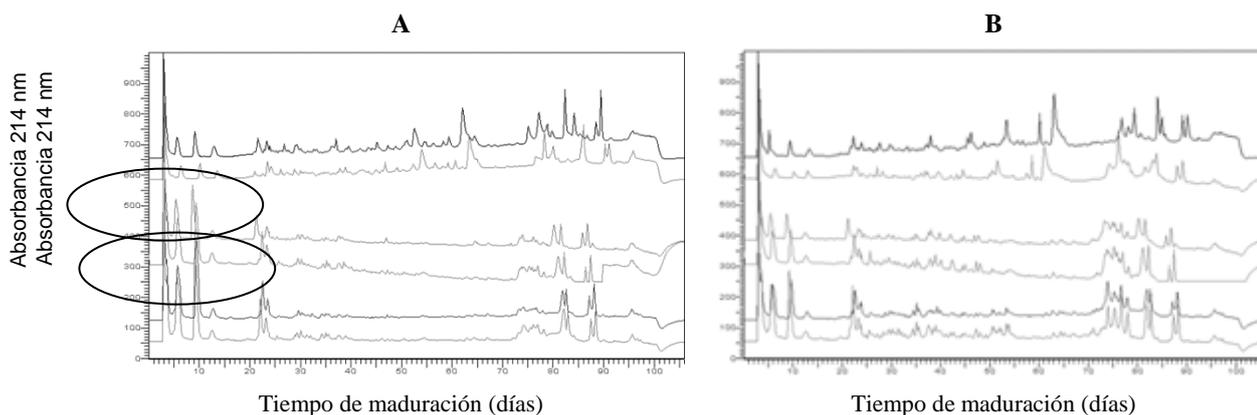


Figura 2. Perfiles peptídicos de los quesos durante la maduración. Quesos elaborados con quimosina de camello (CA) y quimosina bovina (CH) **A**) a 50 °C, y **B**) a 56 °C. Los óvalos marcan la menor proteólisis evidenciada a los 56°C cuando se utilizó el coagulante CA comparado con CH.

Comparando el tipo de coagulante ensayado, se pudo observar que los quesos elaborados con quimosina de camello, presentaron menor proteólisis durante la maduración, lo cual fue verificado por menores niveles de ciertos índices de proteólisis en los mismos. Una tendencia similar fue obtenida por Bansal et al. (2009) en quesos Cheddar elaborados con estas mismas enzimas coagulantes, al comprobar que la utilización del coagulante de camello condujo a menores niveles de proteólisis en comparación con la quimosina bovina.

Segunda experiencia

El tratamiento con APH no modificó la composición química de los quesos ni el pH, pero se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los recuentos microbiológicos. En efecto, se verificó que los quesos tratados a 400 MPa presentaron al inicio de la maduración, recuentos de los microorganismos del fermento inferiores a los de los quesos controles y tratados a 100 MPa (Tabla 2).

La disminución en los recuentos debido al tratamiento con APH, puede indicar inhibición del crecimiento de los microorganismos, por daño en la pared celular, o la autólisis del fermento (Malone et al., 2002; O'Reilly et al., 2002). El daño en la pared celular puede ser sub-lethal, y por lo tanto, los microorganismos pueden recuperarse y multiplicarse luego de la presurización (Wick et al., 2004; Moschopoulou et al., 2010).

Tabla 2. Valores (promedio \pm error estándar de las cuatro réplicas de quesos) de lactobacilos termófilos y mesófilos (\log_{10} cfu/g), actividad de plasmina (nmoles of AMC liberados por g de materia seca), actividad coagulante (nmol de producto liberado por h y por g de materia seca), aminoácidos libres totales (mg de AA por 100 g de queso)

Item	Tiempo de maduración	Tratamiento APH					SE
		C	T1	T2	T3	T4	
Lactobacilos termófilos	1	8,72	8,58	8,89	7,69	6,89	0,32
	45	3,41	3,32	3,60	3,12	3,35	
	90	0,80	0,83	0,83	0,85	0,84	
Lactobacilos mesófilos	1	8,04	8,13	8,67	7,82	7,65	0,16
	45	6,79	6,78	6,66	7,20	7,30	
	90	6,29	6,69	6,72	7,01	6,91	
Actividad de plasmina	1	6,04	7,80	8,37	9,63	18,83	0,60
	45	3,96	5,75	5,64	8,24	10,11	
	90	3,73	5,28	5,88	10,32	12,91	
Actividad coagulante	1	158,85	164,59	157,87	165,90	182,28	24,04
	45	196,71	213,28	253,30	259,84	292,81	
	90	198,86	216,80	190,22	203,03	202,46	

Los quesos tratados a 400 MPa durante 10 min exhibieron una actividad de plasmina significativamente mayor ($p < 0,05$) que el resto, mientras que no se observaron diferencias debidas al tratamiento con APH en la actividad coagulante residual. El seguimiento de la proteólisis mostró

que los quesos tratados a 400 MPa presentaron una mayor hidrólisis de las caseínas α_{s1} y β y niveles significativamente mayores ($P < 0,05$) de nitrógeno en las fracciones solubles (Figura 3). Los resultados del análisis de los perfiles peptídicos también mostraron una aceleración de la maduración atribuible a la aplicación de los tratamientos a 400 MPa (datos no presentados). Se observó que las muestras tratadas a 400 MPa durante 10 min alcanzaron aproximadamente a los 60 días de maduración, los mismos niveles de nitrógeno en las fracciones solubles y aminoácidos libres totales que las muestras control al final de la maduración (90 días) (Figura 3). Los tratamientos a 100 MPa, independientemente del tiempo de mantenimiento de la presión, no provocaron cambios relevantes en ninguno de los parámetros evaluados con respecto al control, a excepción de un incremento en el nitrógeno soluble en ácido tricloroacético (NS-TCA).

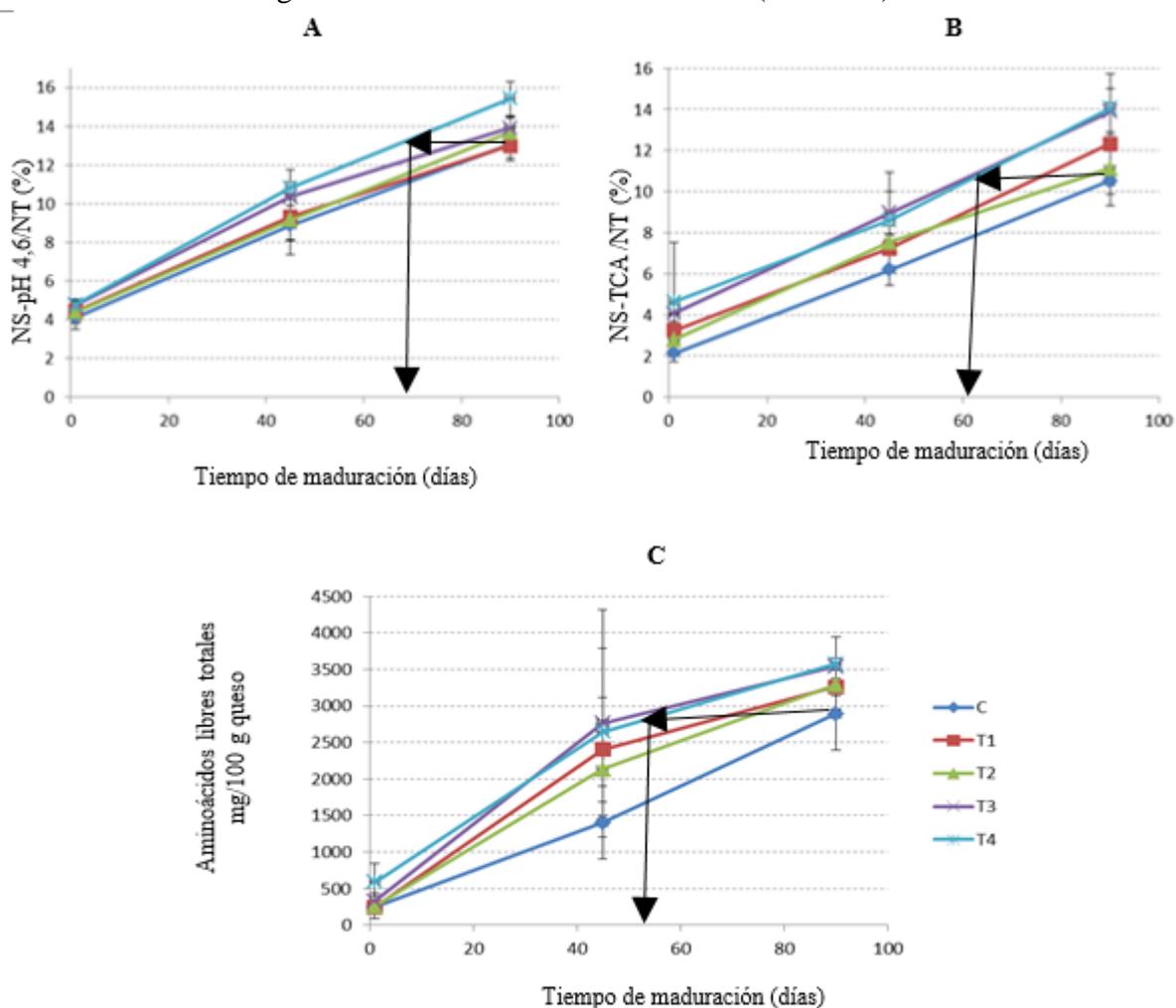


Figura 3. Evolución del NS-pH 4,6 y del NS-TCA (A y B) ambos expresados en relación al NT, y de los AAL totales (C) en función del tiempo de maduración. Las flechas señalan el tiempo al cual las muestras tratadas con APH alcanzaron los mismos valores de ambas fracciones solubles que los quesos controles.

En este trabajo, en general, los indicadores de proteólisis evaluados demostraron que esta transformación bioquímica principal de la maduración fue afectada por el tratamiento con APH. El efecto resultó más notorio cuando el nivel de presión aplicada fue 400 MPa, ya que se verificó en indicadores no específicos como la fracción soluble a pH 4,6, y se correspondió con los resultados de la electroforesis, con una mayor intensidad en la fracción α_{s1} -I y en las fracciones de γ -caseínas, especialmente a los 45 días de maduración. La mayor intensidad de γ -caseínas se correspondió con la mayor actividad de la plasmina en los quesos en los que se aplicó esa presión. También los perfiles peptídicos de las muestras tratadas a mayor presión se diferenciaron del resto, lo que evidenció una mayor proteólisis secundaria en los quesos T3 y T4.

El esfuerzo y la deformación a la fractura de los quesos tratados a 400 MPa fueron mayores que en el resto de las muestras al inicio de la maduración, mientras que esos quesos presentaron valores inferiores de elasticidad y la cohesividad durante todo el periodo de almacenamiento (Figura 4). El mantenimiento de los valores de estas propiedades durante el almacenamiento puede atribuirse a la mayor proteólisis evidenciada en los quesos tratados a 400 MPa.

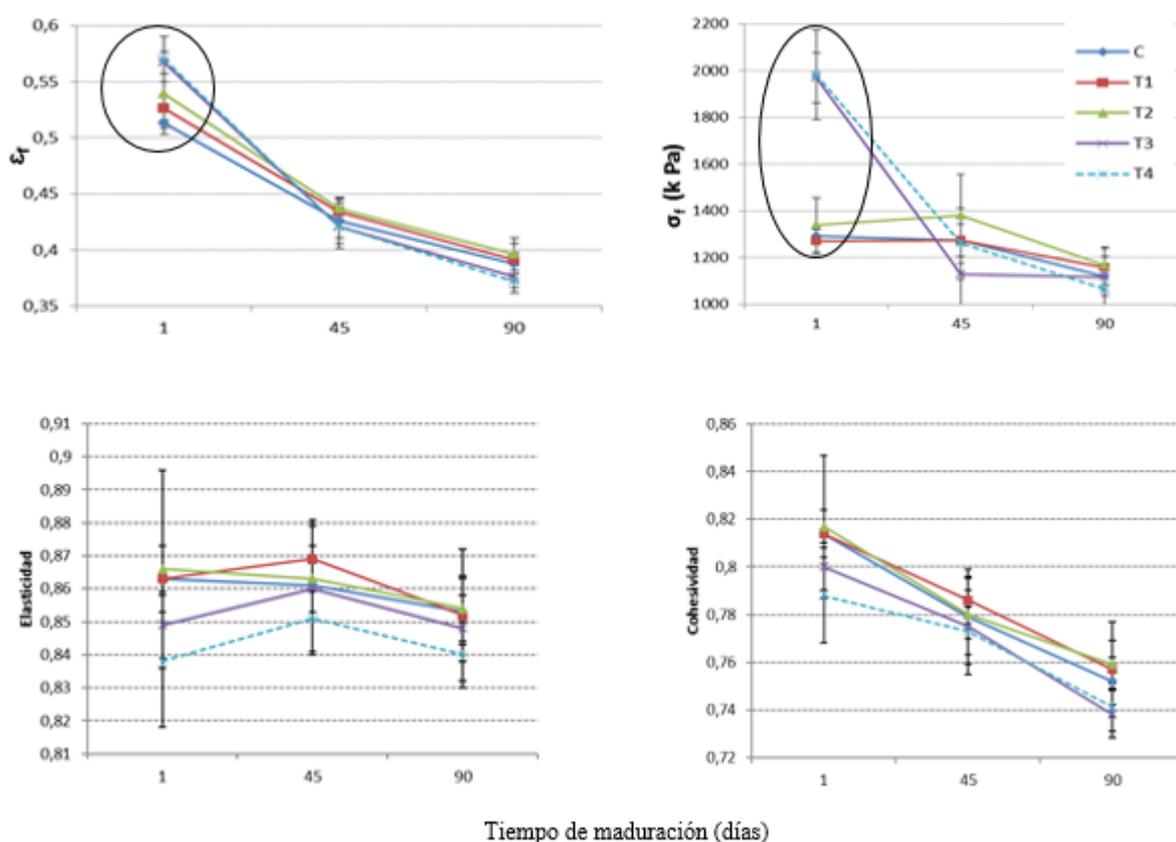


Figura 4. Evolución de la deformación a la fractura (ϵ_f) (A), esfuerzo a la fractura (σ_f) (B), elasticidad (C) y cohesividad (D) durante el tiempo de maduración de los quesos control y tratados. Cada punto representa un valor promedio de las 4 réplicas de elaboración. Los óvalos muestran las diferencias significativas ($p < 0,05$) en ϵ_f y σ_f entre las muestras tratadas a 400 y el resto, al inicio de la maduración

Los parámetros cromáticos no resultaron afectados por el tratamiento con APH. El panel entrenado, en las sesiones de análisis sensorial, señaló que a los 45 días de maduración, los quesos tratados a 400 MPa presentaron valores más intensos que las demás muestras en los atributos gusto salado y *flavour* típico. En un estudio previo, en el cual se evaluaron los atributos sensoriales que caracterizan a un queso Reggiano maduro, se encontró que el *flavour* genuino y gusto salado fueron los más importantes (Ceruti et al., 2014). Los quesos tratados a la mayor presión (400 MPa), alcanzan a los 45 días de maduración, una intensidad superior a los quesos controles y tratados a 100 MPa. En síntesis: los atributos que caracterizan a un queso maduro fueron más intensos en los quesos tratados a 400 MPa a los 45 días de maduración que en los controles y los tratados a 100 MPa.

El efecto del tiempo de mantenimiento de la presión no fue significativo en los parámetros de textura y en los atributos sensoriales evaluados, a excepción de la elasticidad, en la cual las muestras tratadas a 400 MPa durante 10 min tuvieron un valor menor que las tratadas durante 5 min.

CONCLUSIONES

Los resultados de la primera experiencia permiten concluir que una modificación sencilla en la tecnología de elaboración de queso Reggiano, como la disminución de la temperatura de cocción, fue eficaz para incrementar la actividad residual de la enzima coagulante, con la consiguiente aceleración de la proteólisis y peptidólisis en los quesos. El reemplazo de la quimosina bovina por quimosina de camello, no presentó ventajas en este sentido.

En cuanto a la utilización de la tecnología APH, se evidenció que un tratamiento de 400 MPa durante 10 min fue efectivo para acelerar la maduración del queso Reggiano a través del incremento de la proteólisis y la peptidólisis. Los quesos tratados a la mayor presión mostraron una aceleración en el desarrollo de los atributos sensoriales de un queso maduro.

En las dos estrategias evaluadas, se produjo un incremento en la velocidad de maduración relacionado con el incremento de la proteólisis y el incremento de la actividad de enzimas habitualmente presentes en la matriz alimentaria, como el coagulante y la plasmina. Asimismo, se obtuvieron productos de buena calidad global y no se encontraron defectos.

BIBLIOGRAFÍA

- Azarnia, S. M.; Lee, B.; St-Gelais, D.; Kilcawley K.; y Noroozi, E. (2011) Effect of free and encapsulated recombinant aminopeptidase on proteolytic indices and sensory characteristics of Cheddar cheese. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 570-575.
- Bansal, N.; Fox, P., y McSweeney P.H.L. (2007). Factors affecting the retention of rennet in cheeses curd. *J. Agric. Food Chem.* 55: 9219-9225.
- Bansal, N.; Drake, M. A.; Piraino, P.; Broe, M. L.; Harboe, M.; Fox, P. F. y McSweeney, P. H. L. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 19: 510-517.
- Bradley, R. L.; Arnold, E.; Barbano, D. M.; Semerad, R. G.; Smith, D.E. y Vines, B. K. (1993). Chemical and physical methods. En: *Standard methods for the examination of dairy product.* (Ed.: Marshall, R.). American Public Health Association (APHA), Washington, Estados Unidos, pág. 433-531.
- Candioti, M. C.; Hynes, E. R.; Quiberoni, A.; Palma, S. B.; Sabbag, N. y Zalazar, C. A. (2002). Reggiano Argentino

- cheese: Influence of *Lactobacillus helveticus* strains isolated from natural whey cultures on cheese making and ripening processes. *Int. Dairy J.* 12: 923–931.
- Cattaneo, F., J. E. Sayago, M. R. Alberto, I. C. Zampini, R. M. Ordoñez, V. Chamarro, A. Pazos, and M. I. Isla. 2014. Anti-inflammatory and antioxidant activities, functional properties and mutagenicity studies of protein and protein hydrolysate obtained from *Prosopis alba* seed flour. *Food Chem.* 161: 391-399
- Ceruti, R. J.; Zorrilla, S. E.; Sabbag, N. G.; Costa, S. C. y Sihufe, G. A. (2014) Effect of increased initial ripening temperature on the sensory characteristics of Reggianito cheese. *Int. J. Dairy Technol* 67: 1-8.
- Ceruti, R. J.; Zorrilla, S. E. y Sihufe, G. A. (2012). The influence of elevated initial ripening temperature on the proteolysis in Reggianito cheese. *Food Res. Int.* 48: 34-40.
- Corsetti, A.; Gobetti, M.; Smacchi, E.; DeAngelis, M. y Rossi, J. (1998) Accelerated ripening of Pecorino Umbro cheese. *J. Dairy Res.* 65: 631-642.
- Costabel, L.M. (2015) Estrategias tecnológicas para aumentar la proteólisis y peptidólisis en quesos duros. Tesis doctoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.
- El Soda, M. y Awad, S. (2003) Accelerated cheese ripening. En *Encyclopedia of Dairy Science*. Volume One. (Eds: Fuquay, J. W.; Fox, P. F.; McSweeney, P.L.H.) Academic Press, Kidlington, Reino Unido. pág. 799-805
- Farkye, N. y Fox, P. (1992) Contribution of plasmin to Cheddar cheese ripening: effect of added plasmin. *J. Dairy Res.* 59: 209-216.
- Fox, P. F.; Guinee, T. P.; Cogan, T. M. y McSweeney, P. L. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. (Ed. Fox, P. F.) Aspen Publishers, Maryland, USA.
- Gripon, J. C.; Desmazeaud, M. J.; Le Bars, D. y Bergère, J. L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la pression commerciale. *Lait* 55 : 502-516.
- Hurley, M. J.; O'Driscoll, B. M.; Kelly, A. L. y McSweeney, P. H. L. (1999) Novel assay for the determination of residual coagulant activity in cheese. *Int. Dairy J.* 9: 553-558.
- Hynes, E. R.; Aparo, L. y Candiotti, M. C. (2004a). Influence of residual milk-clotting enzyme on α -s1 casein hydrolysis during ripening of Reggianito Argentine cheese *J. Dairy Sci.* 87: 565-573.
- Hynes, E.; Candiotti, M.; Zalazar, C.; McSweeney P. L. H. (2004b) Rennet activity and Proteolysis in Reggianito Argentine cooked cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 59, 3, 209-213.
- Hynes, E. R.; Bergamini, C. V.; Suárez, V. B. y Zalazar, C. A. (2003). Proteolysis on Reggianito Argentine cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of *Lactobacillus helveticus*. *J. Dairy Sci.* 86: 3831–3840.
- Hynes, E.; Delacroix-Buchet, A.; Meinardi, C. A. y Zalazar, C. A. (1999). Relation between pH, degree of proteolysis and consistency in soft cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 54: 24–27.
- International Dairy Federation (IDF). (2004). Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content (reference methods). N° 4: A. Bruselas, Bélgica.
- International Dairy Federation (IDF). (1993). Milk. Determinations of nitrogen content. N° 20: B. Bruselas, Bélgica.
- International Dairy Federation (IDF). (1997). Milk and milk products. Determination of fat content (general guidance on the use of butyrometric methods). N° 152: A. Bruselas, Bélgica.
- Ismail, B. y Nielsen, S.S. (2010). Plasmin protease in milk: Current knowledge and relevance to dairy industry. *J. Dairy Sci.* 93: 4999-5009
- Kailasapathy, K. y Lam S. H. (2005) Application of encapsulated enzymes to accelerate cheese ripening. *Int. Dairy J.* 15: 929–939.
- Malone, A. S.; Shellhammer, T. H. y Courtney, P. D. (2002). High pressure effects on the viability, morphology, lysis and cell wall hydrolase activity of *Lactococcus lactis subsp. cremoris*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 4357-4363.
- Meilgaard, M., Civille, G. V. y Carr, B. T. (2007) *Sensory Evaluation Techniques*, 4th edition. CRC Press, Florida, USA.

- Moschopoulou, E.; Anisa, T.; Katsaros, G.; Taoukis, P. y Moatsou, G. (2010) Application of high-pressure on ovine brined cheese: Effect on composition and microflora throughout ripening. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11: 543-550.
- O'Reilly, C. E.; Kelly, A. L.; Murphy, P. M. y Beresford, T. P. (2001) High-pressure treatment: applications to cheese manufacture and ripening. *Trends Food Sci. Technol.* 12: 51-59.
- O'Reilly, C. E.; O'Connor, P. M.; Murphy, P. M.; Kelly, A. L. y Beresford, T. P. (2002) Effects of high-pressure treatment on viability and autolysis of starter bacteria and proteolysis in cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 12: 915-922.
- Piraino, P.; Parente, E y McSweeney, P. L. H. (2004) Processing of chromatographic data for chemometric analysis of peptides from cheese extracts: A novel approach. *J. Agric. Food Chem.* 52:6904–6911.
- Pripp, A. H.; Shakeel-Ur-Rehman; McSweeney, P. L. H.; Sørhaug, T. y Fox, P. F. (2000a) Comparative study by multivariate statistical analysis of proteolysis in a sodium caseinate solution under cheese-like conditions caused by strains of *Lactococcus*. *Int. Dairy J.* 10:25-31.
- Pripp, A. H.; Stepaniak, L. y Sørhaug, T. (2000b) Chemometrical analysis of proteolytic profiles during cheese ripening. *Int. Dairy J.* 10:249-253.
- Richardson, B. y Pearce, K. (1981). The Determination of Plasmin in Dairy Products. *N. Z. J. Dairy Sci. Technol.* 16:209-220.
- San Martín-Gonzalez, M. F.; Rodríguez, J. J.; Gurrám, S.; Clark, S.; Swanson, B. G. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2007) Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with high pressure processed milk. *LWT Food Sci. Technol.* 40: 697-705.
- Sihufe, G. A.; Pirola, M. B.; Ramos, E.; Ceruti, R. J.; De Piante Vicín, D. A. y Robert, L. (2011) Proteólisis en Queso Reggianito elaborado con enzimas exógenas para acelerar su maduración. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenos Aires, 19 al 21 de octubre de 2011. Copia electrónica ISBN 978-987-22165-4-2.
- Sihufe, G. A.; Zorrilla, S. E.; Perotti, M. C.; Wolf, I. V.; Zalazar, C. A.; Sabbag, N. G.; Costa, S. C. y Rubiolo, A. C. (2010a) Acceleration of cheese ripening at elevated temperature. An estimation of the optimal ripening time of a traditional Argentinean hard cheese. *Food Chem.* 119: 101-107.
- Trujillo, A. J.; Capellas, M.; Saldo, J.; Gervilla, R. y Guamis, B. (2002) Application of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products: A review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 3: 295-307.
- Upadhyay V. K. y McSweeney, P. L. H. (2003). Acceleration of cheese ripening. En *Dairy Processing. Improving quality*. Ed. CRC Press, Cambridge, Reino Unido. pág. 419-447.
- Wick, C.; Nienaber, U.; Anggraeni, O.; Shellhammer, T. H. y Courtney, P. D. (2004). Texture proteolysis and viable lactic acid bacteria in commercial Cheddar cheeses treated with high pressure. *J. Dairy Res.* 71:107-115.
- Wilkinson M. G. y Kilcawley K. N. (2005) Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *Int. Dairy J.* 15: 817–830.
- Zalazar, C.A.; Candioti, M.; Mercanti, D.J.; Bergamini, C.V.; Meinardi, C. (2006) Maduración acelerada. En: *Avances en Microbiología, Bioquímica y Tecnología de quesos*. (Eds. Jorge Reinheimer y Carlos Zalazar), Ediciones UNL, Santa Fe, Argentina. pág. 267-284

EFECTO DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS Y NO TÉRMICOS SOBRE INOCUIDAD Y CALIDAD DE CALOSTRO BOVINO

AUDERO, G.^{1*}; COSTABEL, L.¹; SANOW, L.²; VAUDAGNA, S.²; CUATRIN, A.¹; PÁEZ, R.¹

¹INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina;

²Instituto Tecnología de Alimentos (ITA), INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.

*Autor de contacto: audero.gabriela@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Al evaluar el calostro bovino, es interesante plantear su utilización como matriz de procesos tecnológicos para su transformación en un alimento funcional, cabe destacar la importancia del valor nutricional e inmunológico que presenta. La composición química del calostro bovino es rica en nutrientes de elevado valor biológico (proteínas séricas), presenta factores de crecimiento, factores inmunes (inmunoglobulinas, principalmente la variante G) y antimicrobianos y reparadores de tejido (Sousa et al., 2014). Independientemente del uso zootécnico y terapéutico en especies pecuarias, debido a su condición nutricional, el calostro puede emplearse en humanos, ya que presenta un prometedor campo de desarrollo de alternativas para el alivio de infecciones humanas asociadas a estados inmunodeficientes. Además, se plantea el uso como estrategia para prevenir o controlar brotes epidémicos de enfermedades (Valdivia et al., 1995).

Las proteínas séricas son proteínas termosensibles y se desnaturalizan por el calor a temperaturas superiores a los tratamientos de pasteurización. En la leche, el 80% de ellas son α -lactoalbúminas, pero en calostro, las β -lactoglobulinas son las mayoritarias. En el aspecto nutritivo, estas proteínas son más ricas que las caseínas en aminoácidos esenciales (Amiot, 1991). Las β -lactoglobulinas no se encuentran en leche humana, poseen una amplia funcionalidad y características nutricionales que la hacen un ingrediente multifuncional para ser utilizado en muchos alimentos y para aplicaciones bioquímicas. Con respecto a las α -lactoalbúminas, se encuentran en un nivel considerable en calostro y se destacan por tener amplios beneficios, como fomentar la absorción de minerales, efectos antibacteriales, inmunomoduladores y antitumorales. Las inmunoglobulinas presentes en el calostro, son proteínas que forman parte del sistema de defensa contra microorganismos patógenos. La Inmunoglobulina G (IgG) es la más abundante. La cantidad de esta Inmunoglobulina es uno de los parámetros cuantificados que garantizan la calidad nutricional del mismo.

La naturaleza termosensible del calostro bovino influye en el procesamiento de productos a base calostro a la hora de lograr inocuidad y estabilidad para el consumo humano. En la actualidad, se observa un potencial consumo de productos a base de calostro, ocupando un rol fundamental en consumidores específicos (Campos et al., 2007). Se comercializan como productos nutracéuticos, es decir, alimentos que poseen un efecto beneficioso sobre la salud humana (Uruakpa et al., 2002). La aplicación de un tratamiento térmico como la pasteurización baja discontinua, tiene como principal objetivo reducir las bacterias banales en un 99% y eliminar el 100% de las bacterias patógenas que puedan afectar la salud del consumidor y alterar el alimento; modificando en menor medida la estructura física, los componentes químicos y las propiedades organolépticas presentes inicialmente,

a un costo mínimo. Además, permite prolongar la vida útil del alimento otorgándole un tiempo más prolongado de conservación a temperaturas de refrigeración (Elizondo, 2007). Por otro lado, se encuentra disponible la utilización de un tratamiento no térmico que equivale a una “pasteurización fría”, la tecnología de Altas Presiones Hidrostáticas (APH). Este tipo de tecnología brinda la posibilidad de contar con productos que no fueron sometidos a temperatura, con características más naturales, con efectos mínimos sobre sus propiedades sensoriales y nutricionales, libres de microorganismos patógenos y con bajos recuentos de microbiota alteradora (Torres y Velázquez, 2005).

La tecnología de secado spray como tratamiento térmico para lograr la conservación del producto complementa los procesos anteriormente mencionados. El secado por atomización se caracteriza por ser una técnica rápida, altamente reproducible, apropiada para aplicaciones industriales y cuyos costos de procesamiento son relativamente bajos. La principal desventaja es el empleo de elevadas temperaturas necesarias en el proceso de evaporación del líquido, las cuales pueden afectar la calidad nutricional del calostro bovino.

El objetivo de este trabajo fue estudiar cómo afectan tratamientos de preservación térmicos y no térmicos (pasteurización baja y APH) y de conservación (secado spray) la calidad fisicoquímica, microbiológica y nutricional del calostro bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se dividió en dos etapas: en la primera se compararon muestras controles (CC) con muestras de calostros tratadas por pasteurización baja (64°C durante 3min). La segunda etapa consistió en una comparación de calostros controles con calostros tratados por altas presiones hidrostáticas, a dos niveles de presión y tiempo de presurización (305 MPa durante 15 min y 505 MPa durante 5 min). Luego de la aplicación de ambos tratamientos de preservación, todas las muestras (controles y tratadas) fueron deshidratadas por secado spray.

Obtención de las muestras

Se utilizó el primer calostro (2 litros) de 7 vacas recién paridas del tambo experimental de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA. Se realizó a cada muestra la medición de pH y de materia grasa para determinar la calidad físico química inicial. Luego se estandarizaron las muestras para evitar que la grasa interfiera en los análisis posteriores y en la tecnología de secado spray. Para esto se aplicó un proceso de desnatado mediante fuerza centrífuga. Posteriormente se realizó nuevamente la medición de materia grasa para determinar la efectividad del proceso y el pH para garantizar las condiciones iniciales de las muestras controles.

Tratamiento térmico y no térmico de las muestras

A partir de las muestras controles (calostro desnatado sin ningún tipo de tratamiento) se generaron alícuotas para la realización de los siguientes tratamientos: pasteurización baja a 63°C durante 3 min (T1), correspondiente a la etapa 1 y altas presiones hidrostáticas a dos presiones (305 y 505 Mpa) y tiempos de presurización (15 y 5 min), correspondiente a la etapa 2. En ambas etapas los tratamientos se controlaban con muestras controles a las cuales no se les aplicó ningún

tratamiento. Posteriormente, tanto las muestras controles como las muestras tratadas fueron deshidratadas por secado spray (T3), utilizando parámetros de secado estandarizados (Tabla 1).

Tabla 1. Condiciones utilizadas para el secado spray de las muestras.

Variables del proceso	Resultados
Temperatura de entrada	60 °C
Temperatura de salida	39 °C
Flujo de Aire de Aspersión (60mm)	742 l h ⁻¹
Bomba Peristáltica (7%)	3,5 ml/min
Aspiración (100%)	37,50m ³ /h

Análisis de las muestras

Los análisis realizados a las muestras controles (CC), a las muestras tratadas líquidas y deshidratadas (T1, T2 y T3) fueron los siguientes:

- Físico químicos: pH (método potenciométrico estándar de la APHA Bradley y col., 1993), humedad (principio termo gravimétrico mediante analizador halógeno de humedad HB43-S de Mettler Toledo), materia grasa según Gerber (IRAM 14003-2:1990), proteína total y nitrógeno no proteico (método de Kjeldahl, según la norma ISO FDIS 8968-3 IDF 20-3: 2004).
- Microbiológicos: bacterias aerobias totales (método oficial AOAC (986.33 y 989.10) ISO 4833:2003), bacterias coliformes (método oficial AOAC (986.33 y 989.10) ISO 4833:2003), *Escherichia coli* (método oficial AOAC (986.33 y 989.10) ISO 4833:2003) y *Estafilococcus aureus* coagulasa positiva (Fil 145A:1997)
- Test de Inhibidores (kit comercial Delvotest).
- Calidad nutricional: cuantificación de proteínas solubles (IgG, α -lactoalbúmina y β -lactoglobulina) por cromatografía líquida por UPLC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición físico química del calostro sin desnatar.

En la Tabla 2 se presenta la caracterización inicial de los calostros recibidos.

Tabla 2. Caracterización inicial de los calostros

Parámetro	Calostro Etapa 1	Calostro Etapa 2
Grasa % (gr/100ml)	6,33 ± 1,04	7,27 ± 0,12
Sólidos Totales % (gr/100ml)	24,20 ± 5,68	25,33 ± 0,58
pH	6,49 ± 0,07	6,70 ± 0,02

Para cada variable analizada, los valores corresponden al promedio y desviación estándar de las muestras utilizadas en cada etapa.

Caracterización del calostro desnatado.

Luego de realizar el desnatado para obtener las muestras de calostros controles (CC) utilizadas en las etapas 1 y 2, se realizó la caracterización de los mismos (Tabla 3).

Tabla 3. Caracterización inicial de los calostros controles desnatados.

Parámetro	CC Etapa 1	CC Etapa 2
Grasa % (gr/100ml)	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,05
Proteína Total % (gr/100ml)	13,59 ± 1,53	15,97 ± 3,89
Sólidos Totales % (gr/100ml)	16,82 ± 1,70	20,70 ± 0,57
pH	6,49 ± 0,07	6,69 ± 0,02

Para cada variable analizada, los valores corresponden al promedio y desviación estándar de las 3 muestras de CC utilizadas en cada etapa.

Composición microbiológica.

Los resultados de los análisis en las muestras CC de recuento de *E. coli* y *Estafilococcus aureus* coagulasa positiva dieron ausencia de patógenos y el test de antibióticos dio negativo para los antibióticos evaluados. Se observó la presencia de una baja carga de coliformes a 30°C.

Calidad nutricional.

A los calostros controles desnatados se les realizó la cuantificación inicial de los valores de Inmunoglobulina G, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina. En la Tabla 4 se especifican los valores obtenidos.

Tabla 4. Caracterización nutricional inicial de los CC.

Parámetro mg/L	C C Etapa 1	C C Etapa 2
IgG	83.532 ± 10.031	108.076 ± 36.315
β -lactoglobulina	12.252 ± 1.670	11.052 ± 5.874
α -lactoalbúmina	4.089 ± 140	2.393 ± 1.800

Para cada variable analizada, los valores expresados en miligramos por litro corresponden al promedio y desviación estándar de las muestras analizadas en cada etapa.

En el Código Alimentario Argentino (CAA, Capítulo 7 alimentos de régimen o dietéticos, Artículo 1382, 2010) se define que al calostro debe cumplir con las siguientes exigencias microbiológicas: valor de bacterias mesófilas menor a 10.000 UFC/ml, ausencia de coliformes y

patógenos (*Escherichia coli* y *Estafilococcus aureus* coagulasa positiva), además debe ser negativo a la prueba de antibióticos. Desde el punto de vista nutricional debe tener valores de IgG mayores o iguales a 50.000 mg/L, y desde el punto físico químico debe responder a los siguientes valores expresados en gramos cada 100 mililitros: para materia grasa del 6%, sólidos totales del 23-26% y proteínas totales del 14%. Estos valores establecidos en comparación con los obtenidos en la caracterización realizada a las muestras utilizadas para la etapa 1 y etapa 2 del ensayo, ponen de manifiesto que, desde el punto de vista de la inocuidad, calidad nutricional y composicional, la calidad inicial del calostro control utilizado para los ensayos fue la adecuada.

Etapa 1: Pasteurización baja y secado spray

La pasteurización baja logró la reducción de las RBT (recuento de bacterias aerobias mesofilas totales) y coliformes totales luego de la aplicación y con respecto a la calidad nutricional no afectó los niveles de β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina e IgG (Tabla 5).

Tabla 5. Calidad nutricional de calostro control (CC) y calostro pasteurizado (CP).

Parámetro mg/L	C C	C P	Efecto del Tratamiento
IgG	83.532 \pm 10.031	84.453 \pm 20.510	No significativo
β -lactoglobulina	12.252 \pm 1.670	12.064 \pm 2.181	No significativo
α -lactoalbúmina	4.089 \pm 140	3.846 \pm 318	No significativo

Los valores expresados en miligramos por litro corresponden al promedio y desviación estándar de las muestras analizadas.

La β -lactoglobulina resultó significativamente afectada por el tratamiento de deshidratación (pérdidas de un 58-61%), presentando los calostros deshidratados (tanto los CC como los CP) valores más bajos que los presentados antes del secado spray (Tabla 6)

Tabla 6. Calidad nutricional de calostro control deshidratado (CCD) y calostro pasteurizado deshidratado (CPD).

Parámetro mg/L	C C D	C P D	% de pérdida		Efecto del Tratamiento
			C C D	C P D	
IgG	80.914 \pm 14.639	65.813 \pm 13.351	3	22	No significativo
β -lactoglobulina	5.193 \pm 1.709	4.670 \pm 1.787	58	61	p>0,05
α -lactoalbúmina	2.996 \pm 153	2.934 \pm 75	27	24	No significativo

Los valores expresados en miligramos por litro corresponden al promedio y desviación estándar de las muestras analizadas.

Etapas 2: Altas Presiones Hidrostáticas y secado spray

Se observó que los tratamientos con APH (CA: 305 MPa durante 15 minutos y CB: 505 MPa durante 5 minutos), no fueron efectivos para lograr la reducción de las bacterias aerobias mesófilas totales. Con respecto a la calidad nutricional, luego de la aplicación de ambos tratamientos de altas presiones hidrostáticas se observaron pérdidas significativas (47-66%) en los niveles de IgG para los tratamientos CA y CB respectivamente (tabla 7).

Tabla 7. Calidad nutricional de calostros controles (CC), calostros tratados por APH 305 MPa durante 15 minutos (CA) y calostros tratados por APH 505 MPa durante 5 minutos (CB).

Parámetro	C C	C A	C B	% de Pérdida		Efecto del Tratamiento
				CA	CB	
mg/L						
IgG	108.0876 ± 36.315	57.678 ± 8.678	36.606 ± 3.883	47	66	p>0,05
β-lactoglobulina	11.052 ± 5.874	7.486 ± 3.296	4.922 ± 4.750	32	55	No significativo
α-lactoalbúmina	2.393 ± 1.800	3.161 ± 1.531		-	-	No significativo

Los valores expresados en miligramos por litro corresponden al promedio y desviación estándar de las muestras analizadas.

No se observaron diferencias significativas entre los niveles de proteínas séricas e IgG luego del proceso de deshidratación. Las muestras tratadas por APH a mayor presión gelificaron, por este motivo no pudieron ser deshidratadas.

Características del calostro deshidratado obtenido en la etapa 2.

Al calostro deshidratado se lo caracterizó evaluando la humedad, el porcentaje de proteína total, proteína soluble, IgG, β-lactoglobulina y α-lactoalbúmina (Tabla 8). Los resultados se encuentran expresados en gr% (gramos del componente especificado cada 100gr de calostro). En general, el calostro desnatado en polvo obtenido presenta una composición elevada de IgG y proteínas séricas, brindándoles una característica funcional.

Tabla 8. Caracterización del calostro deshidratado cada 100gr.

Parámetros gr/100gr	Calostro deshidratado
Humedad	5,00
Proteína Total	63,00
Proteína Soluble	30,08
Ig G	28,00
β-lactoglobulina	3,70
α-lactoalbúmina	1,55

Valores promedio y desviación estándar de los parámetros evaluados para la caracterización del calostro deshidratado (CAD) de la etapa 2.

CONCLUSIONES

En este trabajo se compararon distintas estrategias tecnológicas aplicadas al calostro bovino, destinadas a asegurar su inocuidad, minimizando la pérdida de su alto valor nutritivo. La primera de ellas consistió en una tecnología tradicional como es la pasteurización baja. La segunda estrategia se estudió en una intervención tecnológica innovadora, la aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas. Luego de la aplicación de ambas tecnologías, se evaluó el secado spray como una alternativa de conservación del producto final.

La pasteurización baja permitió reducir el número de microorganismos presentes en la matriz inicial, conservando los niveles de proteínas solubles y manteniendo los niveles de IgG dentro de valores establecidos en el C.A.A. La deshidratación de este producto afectó los niveles de β -lactoglobulina. Se logró obtener un calostro en polvo, bajo en grasas, sin antibióticos, inocuo, y con un elevado valor biológico, debido al alto contenido de proteínas séricas e Inmunoglobulinas.

En cuanto al efecto de la tecnología APH se evidenció que la aplicación de ambas combinaciones de presión y tiempo resultaron insuficientes para reducir la carga microbiológica inicial presente en el mismo. Además, en sus diferentes tratamientos aplicados, afectó los niveles de IgG, siendo mayor el efecto a la presión más elevada. Sin embargo, los niveles de IgG permanecieron dentro del rango óptimo establecido por el CAA para calostro para el tratamiento en el cual se aplicó una presión de 305 MPa durante 15 min, mientras que, para el tratamiento más intenso, la reducción condujo a valores por debajo del límite inferior aceptable de esta inmunoglobulina para este tipo de matriz láctea.

Considerando los resultados obtenidos, y teniendo en cuenta la aceptación industrial del tratamiento convencional, como es la pasteurización baja y en su desventaja el elevado costo de la tecnología APH, se concluye que la pasteurización baja fue el tratamiento más adecuado para lograr cumplir con los objetivos. Sin embargo, se deberían realizar más estudios utilizando el tratamiento de altas presiones hidrostáticas, con diferentes combinaciones de presión y tiempo, de modo de establecer las combinaciones adecuadas que permitan reducir la carga microbiana, conservando las concentraciones de los componentes de interés nutricional en calostro.

BIBLIOGRAFÍA

- Amiot, J. 1991. Ciencia y tecnología de la leche. Zaragoza (España). Editorial Acribia S.A. p. 20-267.
- Campos Fairut, R.; Carillo, A.; Loaiza, V.; Giraldo, L. 2007. El calostro: herramienta para la cría de terneros. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. Departamento de Ciencia Animal.
- Elizondo - Salazar, J. A. J. 2007. Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. en *Agronomía mesoamericana* Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, vol.18, nº 002.
- Elizondo - Salazar, J.A.; Bushan, M.J.; Heinrichs, A.J. 2008 a. Pasteurización de calostro: efecto sobre la carga bacteriana y la concentración de inmunoglobulinas G. en *Revista electrónica de Veterinaria*, Department of Dairy and Animal Science. The Pennsylvania State University, University Park. USA. Estación Experimental Alfredo Volio Mata. Facultad de Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, vol. 4, nº 9. p. 1695-7504.
- Elizondo - Salazar, J.A.; Jarayao, B.M.; Heinrichs, A.J. 2008 b. Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *Journal Dairy Science*, vol. 93. p. 961-967.
- Sousa, S.G.; Delgado, I.; Saraiva, J.A. 2014. Human milk composition and preservation: Evaluation of high- pressure

processing as a non-thermal pasteurization technology. Critical reviews in food science and nutrition accepted.

Torres, J. A.; Velazquez, G. 2005. Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods, *Journal of Food Engineering*, vol. 67, n° 1. p. 95-112.

Uruakpa, F.O.; Ismond, M.A.H.; Akobundu, E.N.T. 2002. Colostrum and its benefits: a review. Department of Food Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, R3T 2N2, Canada. Elsevier Science Ltd. *Nutrition Research* 22. p. 755–767.

Valdivia, F.A.; Martínez de A, A.; Ortiz, M.; Jaramillo, J.F.; de la cerda, G.E. 1995. El calostro bovino hiperinmune en la terapéutica de infecciones humanas gastroentéricas. en *Revista Investigación y ciencia*, Universidad autónoma de Aguascalientes. Centro Básico. México.

IMPLEMENTACIÓN DE LA NORMA ISO 17025:2005 EN LOS LABORATORIOS DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA EEA RAFAELA DEL INTA

ADORNI, M.B.^{1*}; CAMPOS, S.¹; GAGGIOTTI, M.¹; PAEZ, R.¹; COSTABEL, L.¹.

1 INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina.

** Autor de contacto: adorni.maria@inta.gob.ar*

INTRODUCCIÓN

La creciente especialización de los métodos de análisis, el desarrollo de una multiplicidad de técnicas de laboratorio, junto a la necesidad de satisfacer a los clientes, hace que los laboratorios se esfuercen para mejorar la calidad de los servicios que brindan.

La necesidad de contar con métodos que lleven a una optimización de los recursos y a una mejora continua de la calidad de los servicios ha determinado la aparición de nuevos paradigmas que se enmarcan en diferentes modelos de gestión de la calidad. La gestión del laboratorio es uno de ellos y la Norma ISO 17025:2005 marca oportunamente el Sistema de Gestión de Calidad (SGC) del Laboratorio de Calibración y Ensayo.

Trabajar bajo un SGC aumenta la satisfacción de los clientes brindando servicios que cumplen con sus necesidades y expectativas. Además, enfatiza las actividades de planificación, prevención, revisiones periódicas, mejora continua y formación. Permite generar mejoras internas en lo relacionado a comunicación, motivación, control de proveedores, productividad, capacidad de cambio y adaptabilidad de las personas.

Para implementar un SGC en un laboratorio de ensayo se deben seguir y cumplimentar los lineamientos especificados en la Norma ISO 17025:2005, “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo”. Dicha norma establece los criterios para los laboratorios que buscan demostrar que son técnicamente competentes, que operan con un sistema de calidad efectivo y que son capaces de generar resultados de ensayo técnicamente válidos.

Esta norma es la base para obtener la acreditación de laboratorios por organismos de acreditación (Organismo Argentino de Acreditación, 2014).

La acreditación es el reconocimiento formal de competencia e imparcialidad para los laboratorios. Se realiza mediante una evaluación independiente en base a requisitos normativos internacionales. Demuestra que esas entidades son confiables para realizar ensayos (Organismo Argentino de Acreditación, 2015).

El Organismo Argentino de Acreditación (OAA) es la entidad responsable de auditar y otorgar la acreditación a un laboratorio para un ensayo particular. Respaldada, con reconocimiento internacional, la competencia técnica de las entidades acreditadas y garantiza la calidad de los resultados obtenidos (OAA, 2015).

La acreditación de laboratorios debe basarse en alcances de acreditación definidos de forma clara, precisa y sin ambigüedades que proporcionen, tanto al cliente del laboratorio como a otras partes interesadas, información concreta sobre la competencia técnica demostrada por el laboratorio.

Los beneficios de acreditar un laboratorio bajo la norma ISO 17025 son:

- Reducción de riesgos, pues permite al laboratorio determinar si está realizando su trabajo correctamente;
- Compromiso de todo el personal del laboratorio con el cumplimiento de los requisitos de los clientes;
- Evaluaciones periódicas del organismo de acreditación le proporcionan un punto de referencia para mantener la competencia.
- Mejora continua del sistema de gestión del laboratorio;
- Desarrollo continuo de la competencia del personal a través de planes de formación y de la evaluación de la eficacia de los mismos;
- Mejora de la imagen e incremento de la confianza y satisfacción de los clientes;
- Reconocimiento internacional, por medio de los acuerdos de mutuo reconocimiento entre los organismos de acreditación de los distintos países.

En este sentido, los laboratorios de producción animal del INTA Rafaela compuesto por: el Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria (LCLA), Laboratorio de Miel (LM) y Laboratorio de Forrajes (LF) orientan sus actividades a implementar un SGC, según ISO 17025:2005, a las determinaciones de rutina, dando prioridad a aquellas que dan respuesta a ensayos de investigación y desarrollo (I&D) y servicios a terceros.

La implementación de SGC responde a las necesidades y exigencias de los productores y empresas de la zona, muchas de las cuales exportan sus productos, como así también de los responsables de las líneas de I&D que se realizan dentro de la Institución, requiriendo entonces la utilización de metodologías analíticas con reconocimiento internacional, lo que se traduce en confiabilidad y eficiencia en el trabajo realizado.

METODOLOGÍA

La primera etapa de la implementación de la norma ISO 17025:2005 involucró la sensibilización del personal con respecto a la filosofía, propósitos, importancia, ventajas, mejoras que se obtienen y el compromiso que deberán tener todos los implicados para alcanzar el éxito en la implementación del SGC.

Luego se realizó un análisis de la situación del SGC actual del laboratorio y su grado de aplicación de la norma ISO 17025:2005, valorando lo que tiene el laboratorio y lo que debería tener según la misma.

Se definió el alcance de la acreditación; por lo que se trabajó en los siguientes ensayos:

- Composición Química por Infrarrojo en leche fluida de vaca, parámetros: grasa, proteína y sólidos totales, ISO 9622 IDF 141:2013;
- Determinación de Valor Peróxido en grasa láctea anhidra, Norma ISO 3976, IDF 74 :2006;
- Determinación de Color Lovibond en miel, Norma IRAM 15941-1:2007;
- Determinación de Color Pfund en miel, Norma IRAM 15941-2:2007;

- Determinación de Humedad Refractométrica en miel, basado en la metodología descripta en Norma IRAM 15931:2007;
- Fibra Detergente Neutro en forrajes, método ANKOM validado con Norma ISO 16472:2006
- Fibra Detergente Ácido en forrajes, método ANKOM validado con Norma ISO 13906:2008.

Se confeccionó el Manual de Calidad junto con los objetivos y política de calidad y se elaboraron todos los procedimientos referidos a gestión correspondientes a organización, sistema de gestión, control de los documentos, revisión de los pedidos, ofertas y contratos, subcontratación de ensayos, compras, servicios al cliente, quejas, control de trabajo de ensayo no conformes, mejora, acciones correctivas, acciones preventivas, control de los registros, auditorías internas y revisión por la dirección.

Se implementaron los instructivos de ensayos y los de estimación de incertidumbre de cada una de las técnicas seleccionadas para la acreditación. En cada ensayo se planificó y diseñó un programa de aseguramiento de la calidad que incluyó una variedad de actividades tendientes a prevenir problemas, optimizar la precisión y exactitud de los ensayos. Entre ellas se pueden mencionar:

- Gráficos de control;
- Uso regular de Materiales de Referencia Certificados o un control de la calidad interno utilizando Materiales de Referencia;
- Repetición de ensayos utilizando el mismo método o métodos diferentes;
- Repetición del ensayo a partir de las contramuestras;
- Participación en ensayos interlaboratorio;
- etc.

Se llevaron a cabo auditorías internas para verificar el cumplimiento con los requisitos de la norma de referencia. En ellas se detectaron desvíos, acciones preventivas y oportunidades de mejora, las cuales fueron tratadas e implementadas para mejorar la eficiencia del SGC implementado.

Finalmente, se recibió la auditoría por parte del OAA y se logró obtener la acreditación de los ensayos mencionados anteriormente.

Cabe destacar que los laboratorios del área de producción animal cuentan con otras capacidades técnicas las cuales se detallan a continuación:

El LCLA está dividido en dos áreas de investigación, las cuales trabajan conjuntamente para dar respuesta a las actividades de I&D y servicios a terceros:

- Área Procesamiento de Productos Lácteos: dispone de una miniplanta experimental de quesos a escala de laboratorio (capacidad máxima de procesamiento 200 litros), que trata de reproducir las condiciones de fabricación industrial y permite el control y la regulación de cada una de las variables críticas para la elaboración de quesos de calidad, requisito indispensable para la realización de trabajos de I&D. Posee un equipo de filtración por membranas apto para

ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa. Además, cuenta con un sector de fermentación, equipado con tres fermentadores, una centrífuga continua y un secadero spray. Esto permite la producción de biomasa de bacterias y levaduras, en medios sintéticos, suero o permeado obtenidos por tecnología de membranas, su concentración y microencapsulación en diferentes matrices.

- Área de Análisis físico-químicos de leche y productos lácteos: cuenta con equipos modernos que permiten la ejecución de los siguientes ensayos:

- Acidez en Leche Fluida y en Leche en Polvo
- Cloruros en Leche Fluida y Queso
- Estabilidad Térmica en Leche Fluida y en Leche en Polvo
- Grasa Libre en Leche en Polvo
- Grasa en Leche Fluida y Queso
- Humedad en Leche en Polvo y Queso
- Lipasa en Suero
- Lipólisis en Muestras Frescas y Leche en Polvo
- Perfil de Ácidos Grasos Totales en muestra fresca y seca
- pH en Leche Fluida y Queso
- Proteína Total en Leche y productos lácteos
- Nitrógeno No Proteico en Leche y productos lácteos
- Caseína en Leche y productos lácteos
- Prueba del alcohol en Leche Fluida
- Secado Spray
- Tiempo de coagulación
- Valor Peróxido en Aceite, Leche Fluida y en Leche en Polvo

Por otra parte, el LM dispone de capacidades técnicas (profesionales y equipamiento) para la ejecución de proyectos de I&D y para la realización de servicios a terceros. Las actividades de investigación están orientadas hacia la caracterización integral de la miel, es decir analizarla desde el punto de vista fisicoquímico, palinológico y sensorial.

Los análisis en Miel que se ofrecen como servicio son:

- Acidez Libre
- Conductividad Eléctrica
- HMF (Método Winkler)
- pH
- Origen Botánico

Finalmente, el LF analiza forrajes conservados, verdes, productos y/o subproductos de la agroindustria y participa en las actividades de servicio, extensión e investigación. Integra una red

que tiene como objetivo ajustar permanentemente las distintas metodologías y ponerlas a disposición de productores, profesionales y contratistas del sector.

Los ensayos que ofrece el laboratorio son:

- Técnicas físico-químicas:

- Materia Seca, pH, tamaño de partícula, microscopía cualitativa de alimentos balanceados, actividad ureásica.
- Componentes nitrogenados: proteína bruta, nitrógeno no proteico, proteína soluble, proteína soluble en hidróxido de potasio, nitrógeno insoluble en detergente ácido, nitrógeno insoluble en detergente neutro, nitrógeno amoniacal.
- Pared celular: fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, lignina detergente ácida.
- Lípidos: extracto etéreo
- Materia inorgánica: cenizas, macrominerales (calcio, magnesio, sodio, potasio, fósforo, cloruro)

- Técnicas *in vitro*:

- Digestibilidad *in vitro* de la materia seca, fibra detergente neutra digestible, proteína degradable.

CONSIDERACIONES GENERALES

La acreditación de las líneas de ensayo mencionadas permitió a los laboratorios del área de producción animal garantizar su competencia técnica y la validez de sus resultados; asegurando la calidad de sus mediciones con el propósito de obtener resultados exactos, confiables, oportunos y adecuados para el uso previsto.

La implementación de los procedimientos especificados en la norma ISO 17025:2005 permitió estandarizar todos los procesos llevados a cabo en los laboratorios de manera de realizar las actividades de manera eficiente, teniendo como prioridad la satisfacción al cliente.

La realización periódica de auditorías internas y de las auditorías de mantenimiento del OAA permitió verificar y mejorar el SGC.

Actualmente, los laboratorios se encuentran trabajando para extender el alcance de la acreditación en las siguientes líneas de ensayo: determinación de lipólisis en grasa láctea anhidra, determinación de pH y conductividad en miel.

La experiencia adquirida en la implementación de la norma ISO 17025:2005 permitió a los laboratorios del área de producción animal generar un espacio de trabajo con otras instituciones. El objetivo de establecer este intercambio es detectar necesidades de capacitación, entrenamiento, asistencia técnica y brindar auditorías con el fin de generar un ámbito de discusión e intercambio con el resto de los laboratorios.

BIBLIOGRAFÍA

IRAM 301/ISO/IEC 17025:2005, “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”.

- ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN, 2014. “Criterios Generales para la evaluación y acreditación de laboratorios de ensayo / calibración”, CG-LE-01 versión 11, vigente desde 01/05/2014; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentos.html>. [Consulta: 13/01/2015].
- ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN, 2014. “Política y criterios para la participación en ensayos de aptitud/comparaciones interlaboratorios”, CE-LE-01 versión 10, vigente desde 18/09/2014; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentos.html>. [Consulta: 15/01/2015].

PLANIFICACIÓN Y DISEÑO DE UN ENSAYO INTERLABORATORIO PARA LA DETERMINACIÓN DE VALOR PERÓXIDO EN GRASA LÁCTEA ANHIDRA

ADORNI, M.B.*; CAMPOS, S.; CUATRIN, A.; PAEZ, R. ; COSTABEL, L.

1 INTA EEA Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina. Ruta 34 km 227,

** Autor de contacto: adorni.maria@inta.gob.ar*

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los laboratorios de ensayo encaminan sus esfuerzos hacia la implementación de un sistema de gestión de calidad (SGC) con el objetivo de garantizar su competencia técnica y la validez de sus resultados; asegurando la calidad de sus mediciones con el propósito de obtener resultados exactos, confiables, oportunos y adecuados para el uso previsto.

Para implementar un SGC en un laboratorio de ensayo se deben seguir y cumplimentar los lineamientos especificados en la Norma IRAM 301/ ISO/IEC 17025:2005, “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y ensayo”. Dicha norma establece los criterios para los laboratorios que buscan demostrar que son competentes, que operan con un sistema de calidad efectivo y que son capaces de generar resultados de ensayo técnicamente válidos. La norma es la base para obtener la acreditación de laboratorios por el Organismo Argentino de Acreditación (OAA).

Uno de los requisitos técnicos especificados en la Norma IRAM 301 / ISO/IEC 17025:2005 es que el laboratorio debe utilizar material de referencia (MR) o material de referencia certificado (MRC) y participar en ensayos interlaboratorios (EI) o ensayos de aptitud (EA) para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos llevados a cabo.

Ensayos interlaboratorios:

Los EA o EI, dentro de los instrumentos de gestión de la calidad, son una herramienta que permite a los laboratorios demostrar y evaluar su aptitud técnica, ajustar sus métodos de medición y calibración, comparar resultados con sus pares y por lo tanto asegurar la calidad de las mediciones.

El objetivo principal de los EI es verificar el desempeño analítico de cada uno de los laboratorios participantes. Esta actividad permite identificar las posibles causas de error en los métodos y por lo tanto perfeccionar los procedimientos de ensayo, así como también evaluar los desvíos, desarrollar nuevos métodos y realizar la comparación de los mismos.

Los EI implican la distribución simultánea de submuestras seleccionadas al azar a los diferentes laboratorios participantes para ser analizadas. Al finalizar el ensayo, los resultados son devueltos al organismo coordinador y son comparados con los valores asignados a fin de dar una indicación del desempeño de los laboratorios individuales y del grupo en su conjunto (Organismo Argentino de Acreditación, 2014).

La Norma ISO/IEC 17043:2010, “Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para los ensayos de aptitud”, especifica los requisitos generales que debe seguir una organización para planificar y diseñar un EI.

Materiales de referencia, control de calidad interno:

Los MR son una herramienta importante en la realización de varios aspectos de la calidad de la medición y se usan para la validación del método, calibración, estimación de incertidumbre de la medición, capacitación, control de calidad interno y para el aseguramiento de la calidad externo.

Existe una diferencia fundamental entre un MR y un MRC. El MR corresponde a un material suficientemente homogéneo y estable con respecto a una o más propiedades especificadas, las cuales han sido establecidas para ajustarse a un uso previsto de un procedimiento de medición. Puede ser elaborado por el mismo laboratorio para ser utilizado como un control de calidad interno con el objetivo de verificar la performance del ensayo llevado a cabo; en este caso se denomina MR interno.

Por el contrario, un MRC es un material de referencia caracterizado por un procedimiento metrológicamente válido para una o más propiedades especificadas, acompañado por un certificado que provee el valor de la propiedad especificada, su incertidumbre asociada y una declaración de su trazabilidad metrológica (IRAM 455:2002).

Implementación de actividades de aseguramiento de la calidad en la determinación de valor peróxido en grasa láctea anhidra:

El Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria (LCLA) del INTA Rafaela priorizó como uno de sus objetivos obtener la acreditación según Norma IRAM 301/ ISO/IEC 17025:2005 para la determinación de valor peróxido en grasa láctea anhidra.

La determinación de valor peróxido es un ensayo que permite conocer el grado de oxidación de productos lácteos, el cual provoca alteración de las propiedades organolépticas y pérdida del valor nutricional de los mismos. El valor obtenido es requerido por el mercado internacional para poder realizar la exportación del producto.

Uno de los requisitos técnicos especificados en la Norma IRAM 301 / ISO/IEC 17025:2005 es que “el laboratorio debe tener procedimientos de control de calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos llevados a cabo”. Para cumplimentar este requisito es necesario utilizar MRC o un control de calidad interno y participar en EI.

De acuerdo a este contexto, el problema que se presenta al momento de acreditar el ensayo de determinación de valor peróxido en grasa láctea anhidra es la inexistencia de MRC y EI a nivel nacional; los cuales constituyen una herramienta fundamental para comprobar la validez de los resultados emitidos por el laboratorio. Es así que se propuso planificar y diseñar un EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra acorde a los lineamientos especificados en la Norma ISO/IEC 17043:2010 y en elaborar un MR interno con el objetivo de enmarcar estas actividades en el programa de aseguramiento de la calidad interno desarrollado por el propio laboratorio, debido a la inexistencia de estas herramientas a nivel nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

El programa de aseguramiento de la calidad para la determinación de valor peróxido en grasa láctea anhidra contempló la planificación de dos actividades: el diseño de un EI, acorde a los lineamientos especificados en la Norma ISO/IEC 17043:2010 y la planificación de la elaboración de un MR interno con el objetivo de utilizarlo como herramienta de control de calidad cada vez que se realiza la determinación.

Se elaboró un set que contiene dos muestras (identificadas como 564 y 836) de grasa láctea anhidra, con valores de peróxidos contrastantes, similares a las concentraciones utilizadas en los ensayos de rutina en los laboratorios participantes.

Luego de que las muestras se envasaran en su forma final y previo a la distribución de las mismas a los diferentes laboratorios participantes, fueron analizadas con el objetivo de realizar la prueba de homogeneidad, cuyo fin es comprobar que las muestras distribuidas sean comparables entre sí.

En fecha igual o posterior a la indicada a los laboratorios participantes como límite para la realización de los ensayos, se realizó la prueba de estabilidad sobre las muestras, con el fin de evaluar la vida útil de las mismas mientras se mantienen almacenadas a temperatura de congelación.

Además, se evaluó la estabilidad durante el transporte. Para esto, se realizó una simulación de transporte, es decir, se preparó una conservadora y se expuso a las diferentes condiciones climáticas que se pudieran presentar durante un periodo de tiempo igual al empleado para entregar las muestras al destino más lejano, correspondiente a 300 km. Esta prueba tiene como objetivo verificar que no se altere la concentración de valor peróxido durante el transporte.

Una vez que se obtuvieron resultados satisfactorios en las pruebas descriptas anteriormente, las muestras fueron enviadas a los cinco laboratorios participantes para la determinación de valor peróxido, según norma ISO 3976/IDF 74:2006.

Los laboratorios enviaron los resultados obtenidos al LCLA, quién realizó un análisis estadístico que incluyó:

- Test de Grubbs: su finalidad es determinar la existencia de resultados anómalos respecto a la serie de resultados obtenidos;
- Valor asignado: se calculó como el promedio robusto (x^*) de los resultados reportados por los laboratorios participantes. El procedimiento aplicado es acorde a los lineamientos especificados en la Norma ISO 13528:2005;
- Desempeño de los laboratorios a través de la puntuación z: brinda al laboratorio participante una apreciación de la posición en términos del sesgo, respecto al resto de los laboratorios participantes. De acuerdo al valor z arrojado, el criterio de aceptación utilizado es el siguiente:

$|z| \leq 2$ Resultados satisfactorios

$2 < |z| \leq 3$ Resultados cuestionables

$|z| \geq 3$ Resultados insatisfactorios

El MR interno fue preparado a partir de grasa láctea anhidra, utilizándose para este fin las mismas muestras que se prepararon para el EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra. El valor

asignado calculado en el EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra fue utilizado para asignar el valor al MR interno.

El MR es utilizado al inicio de cada jornada laboral, con el objetivo de verificar la performance del método.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diseño y la ejecución del EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra y la elaboración del MR interno, constituyeron las actividades de aseguramiento de la calidad internas diseñadas por el LCLA para cumplimentar los requisitos de la Norma IRAM 301 / ISO/IEC 17025:2005 y los criterios establecidos por el OAA.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de homogeneidad y estabilidad se puede concluir que las muestras preparadas son homogéneas y estables durante el período de almacenamiento a temperatura de congelación (-18°C) y durante el tiempo de transporte en que son distribuidas a los diferentes laboratorios participantes.

Los laboratorios intervinientes realizaron la determinación de cada muestra por duplicado y registraron los valores obtenidos en el formulario de datos primarios el cual fue enviado al LCLA.

Cada laboratorio fue identificado con un número elegido al azar de manera de resguardar su confidencialidad.

Una vez recibidos todos los resultados se realizaron los análisis estadísticos correspondientes:

- Test de Grubbs: Los outliers detectados fueron los siguientes:

Muestra 564:

0,14 mmolO₂/Kg, correspondiente al laboratorio identificado con el número 2.

0,24 mmolO₂/Kg, correspondiente al laboratorio identificado con el número 3.

Muestra 836:

0,04 mmolO₂/Kg, correspondiente al laboratorio identificado con el número 2.

0,06 mmolO₂/Kg, correspondiente al laboratorio identificado con el número 3.

Los datos mencionados no se tuvieron en cuenta para el cálculo del valor asignado.

- Determinación del valor asignado: Se calculó el promedio robusto para cada muestra enviada (Tabla 1):

Tabla 1: Resultados obtenidos del valor asignado para cada muestra

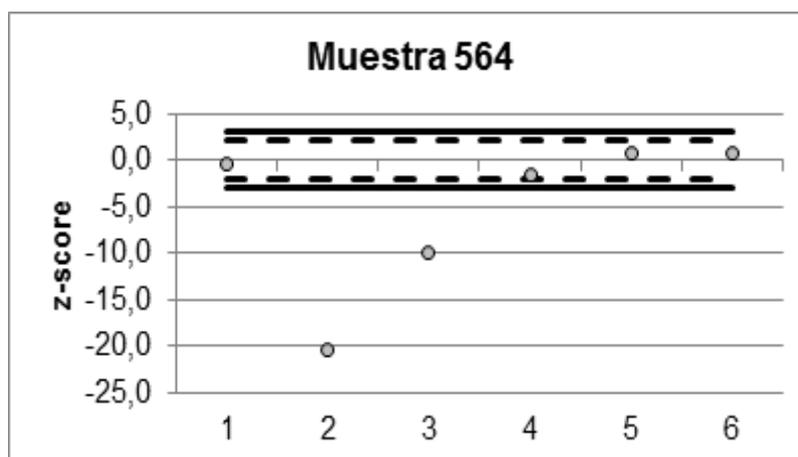
Muestra	Promedio robusto (X*)
564	0,32
836	0,10

- Determinación del desempeño de los laboratorios a través de la puntuación z

Tabla 2: Puntuación z para la muestra 564

Número de Laboratorio	Valor 1 (mmolO ₂ /Kg)	Valor 2 (mmolO ₂ /Kg)	Promedio (mmolO ₂ /Kg)	Puntuación z
MUESTRA 564				

1	0,32	0,32	0,32	-0,4
2	0,14	0,14	0,14	-20,5
3	0,22	0,25	0,24	-9,9
4	0,31	0,31	0,31	-1,5
5	0,33	0,33	0,33	0,7
6	0,33	0,33	0,33	0,7



Referencias: ---- ± 2 desvíos estándar; ___ ± 3 desvíos estándar

Figura 1. Gráfico que demuestra la puntuación z para muestra 564

Tabla 3: Puntuación z para la muestra 836

Número de Laboratorio	Valor 1 (mmolO ₂ /Kg)	Valor 2 (mmol O ₂ /Kg)	Promedio (mmol O ₂ /Kg)	Puntuación Z
	MUESTRA 836			
1	0,08	0,09	0,085	-2,0
2	0,03	0,04	0,035	-12,2
3	0,06	0,06	0,060	-7,1
4	0,09	0,10	0,095	0,0
5	0,09	0,10	0,095	0,0
6	0,10	0,10	0,100	1,0



Figura 2: Gráfico que demuestra la puntuación z para muestra 836

De acuerdo a los valores expuestos en la Tabla 2 y 3 y a lo observado en las Figuras 1 y 2 para las muestras 564 y 836, se puede concluir que todos los laboratorios, exceptuando los identificados como dos y tres, arrojaron un valor de puntuación z menor a dos por lo que el desempeño de los mismos fue clasificado como satisfactorio.

Los laboratorios identificados como dos y tres mostraron valores superiores a tres por lo que corresponden a un desempeño insatisfactorio.

El resultado de la puntuación z permite la comparación del resultado obtenido con el resto de laboratorios, y la evaluación estadística de los valores de puntuación z proporciona información al propio laboratorio de las tendencias de sus resultados en el tiempo y permite identificar posibles desviaciones o sesgos internos (Navarrete y Vergara, 2011).

El MR interno elaborado por el LCLA fue analizado al inicio de cada jornada laboral con el objetivo de verificar la performance del ensayo de valor peróxido en grasa láctea anhidra. Si el valor medido se encuentra dentro de la tolerancia permitida se comienza con la determinación de las muestras a ensayar, en caso contrario se detiene el ensayo.

El Valor Asignado calculado en el EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra fue utilizado para asignar el valor al MR interno. Desvío permitido: 0,07 mmolO₂/Kg mmolO₂/Kg; correspondiente al límite de reproducibilidad establecido en la Norma ISO 3976/IDF 74:2006.

CONCLUSIÓN

La ejecución del EI permitió al laboratorio:

- Garantizar la competencia técnica y la validez de los resultados emitidos;
- Demostrar y evaluar su aptitud técnica, asegurando la calidad de sus mediciones;
- Comparar los resultados con sus pares;
- Asignar valor al MR interno.

El informe de resultado del EI de valor peróxido en grasa láctea anhidra enviado permitió tanto al laboratorio como a los diferentes participantes realizar una evaluación del sistema de medición, valorar la presencia de errores aleatorios y sistemáticos, evaluar la presencia de

tendencias positivas o negativas en términos de la puntuación z y la oportunidad de tomar acciones correctivas y/o eventualmente acciones preventivas.

En cuanto al MR interno se puede concluir que el mismo fue utilizado para verificar la performance del método cada vez que se realiza la determinación. De este modo, en caso de que el valor arrojado se encuentre dentro de la tolerancia permitida, se puede comenzar con el análisis de las muestras a ensayar; en caso contrario se detiene el ensayo y de esta forma se evita el análisis de muestras cuando en el método se identifica algún desvío que puede provenir del analista, equipo o reactivos. Esto previene al laboratorio de emitir al cliente un resultado no confiable.

Las actividades diseñadas permitieron cumplimentar tanto los requisitos técnicos especificados en la Norma IRAM 301 / ISO/IEC 17025:2005 como los criterios del OAA que establecen que el laboratorio debe tener procedimientos de control de calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos llevados a cabo.

El programa de aseguramiento de la calidad fue evaluado por el OAA, en la auditoría de acreditación de la técnica valor peróxido en grasa láctea anhidra, de manera satisfactoria, avalando el diseño de estas actividades para asegurar la capacidad del laboratorio de producir resultados confiables. Esta auditoría realizada por el OAA otorgó la acreditación de la línea de ensayo mencionada, cumpliéndose de esta manera el objetivo final de laboratorio.

Cabe destacar que la metodología utilizada en el diseño del EI y en la elaboración de MR interno puede ser aplicada en cualquier ensayo de laboratorio independientemente de la matriz utilizada en la determinación.

BIBLIOGRAFÍA

- IRAM 455:2002, “Materiales de referencia. Requisitos generales para la competencia de los productores de materiales de referencia”
- IRAM 301/ISO/IEC 17025:2005, “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”.
- ISO 3976/IDF 74:2006, “Milk fat-Determination of peroxide value”.
- ISO/IEC 17043:2010 “Requisitos generales para los ensayos de aptitud”.
- ISO 13528:2005, “Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons”.
- NAVARRETE, P; VERGARA, A. (2011). “Evaluación de resultados de ensayos de intercomparación en análisis de aguas continentales mediante los índices RSZ y SSZ” en VI Congreso Iberolab; [Documento en línea], <http://www.iberolab.org/>, [Consulta: 28/12/2014].
- ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN, 2014 “Criterios Generales para la evaluación y acreditación de laboratorios de ensayo / calibración”, CG-LE-01 versión 11, vigente desde 01/05/2014; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentos.html>. [Consulta: 13/01/2015].
- ORGANISMO ARGENTINO DE ACREDITACIÓN, 2014. “Política y criterios para la participación en ensayos de aptitud/comparaciones interlaboratorios”, CE-LE-01 versión 10, vigente desde 18/09/2014; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentos.html>. [Consulta: 15/01/2015].

Esta publicación reúne parte de los trabajos realizados durante este año en el Área de Producción Animal de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA.

Los autores son nuestros profesionales, en muchos casos en forma conjunta e integrada con los de otras instituciones, en función de las temáticas y proyectos de investigación desarrollados.

Se han agrupado por áreas temáticas con el objeto de ordenar y facilitar la lectura: sistemas de producción, sanidad, nutrición, genética y calidad de leche y agroindustria.

Pretendemos que esta primera edición funcione como puntapié inicial de la recopilación y presentación sistemática de los resultados de las investigaciones realizadas en la Unidad, como aporte a las demandas e inquietudes de los diversos públicos de la institución.

ISBN



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación

