

Información técnica de producción animal 2017

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela



**Información técnica
de
producción animal**

2017

ISSN 2314-3126

Publicación Miscelánea

Año V - N°2

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

Centro Regional Santa Fe

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela

Área de Producción Animal

Septiembre de 2017

Información técnica de producción animal 2017

Editor responsable: INTA EEA Rafaela

Director: Ing. Prod. Agr. MSc. Jorge Villar Ezcurra

Coordinación General: Ing. Agr. Alejandra L. Cuatrin

Comité editorial

Comisión de publicaciones INTA EEA Rafaela

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA

Ruta 34 km 227

(2300) Rafaela, Santa Fe

Teléfonos: (03492) 440121/440125

inta.gob.ar/rafaela

eearafeela@inta.gob.ar

INDICE

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

USO DEL AGUA Y GESTION DE LOS EFLUENTES EN LA ARGENTINA Charlón, V.; Tieri, M.P.; Cuatrin, A.L.,	1
LA UTILIZACIÓN DE PASTURAS DE ALFALFA EN LOS SISTEMAS LECHEROS INTENSIFICADOS. Comeron, E. y Romero L.	5
ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA EFICIENCIA DE LA MANO DE OBRA EN SISTEMAS LECHEROS De Marco, N.; Comerón, E.A.; Calvinho, L.	17
EFFECTOS DE UN SISTEMA DE ENFRIAMIENTO/COOLING EN VACAS LECHERAS EN UN SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO EN LA CUENCA LECHERA SANTAFESINA DURANTE EL PERÍODO ESTIVAL Ghiano, J.; Costamagna, D.; Taverna, M.; Walter, E.; Galeano, G.; Destefani, R.; Leva, P.; Toffoli, G.; Leeuw, A. S.; Millapán, L.; Arias, M.B.; Poyo, E.; Larroque, F.; Carbone, L	29

FORRAJES

OBTENCIÓN DE UN NUEVO MATERIAL TOLERANTE A LA SALINIDAD EN <i>PANICUM COLORATUM</i> VAR. <i>MAKARIKARIENSE</i> Cardamone, L; Tomas, M. A.	43
COMPARACIÓN DEL MAÍZ GRANÍFERO EN RELACIÓN AL HÍBRIDO BMR PARA ENSILAJE Romero L.; Cuatrin, A.L.; Gaggiotti, M.; Fenoglio, F	50

SANIDAD

CONTROL DE MASTITIS BOVINA CAUSADAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y ORGANISMOS COLIFORMES MEDIANTE VACUNACIÓN: ¿CUÁLES SON LAS VACUNAS DISPONIBLES Y CUÁL ES SU EFICACIA? Calvinho L. y Camussone C.	66
GUÍA PARA EL CONTROL DE LOS PARÁSITOS EXTERNOS EN BOVINOS DE LECHE DEL ÁREA CENTRAL DE LA ARGENTINA Anziani, O. S.; Suarez Archilla. G.	75
EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LA GARRAPATA COMÚN DEL BOVINO <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i> EN ARGENTINA Nava, S.; Mangold, A.J.; Morel, N.; Rossner, M.V.; Guglielmone, A.A.	98
VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN LA PROVINCIA DE SANTA FE (ACTUALIZACIÓN) Vanzini V., Bergamasco M., Cervera M., Aguirre N., Torioni De Echaide S. y Muñoz P.	116

NUTRICIÓN

COMPARACIÓN DE SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN EN TERNEROS DE TAMBO

Salado, E.E.; Galarza, R.; Cuatrin, A.; Callaci, C. 123

CALIDAD DE LECHE Y AGROINDUSTRIA

ENSAYO DE VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LIPÓLISIS EN GRASA LÁCTEA ANHIDRA

Adorni, M.B.; Campos, S., Cuatrin, A., Costabel, L., Paez, R. 128

VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN FÓRMULAS INFANTILES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA

Campos, S.; Adorni, M.B.; Cuatrin, A.; Páez, R. 137

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

USO DEL AGUA Y GESTION DE LOS EFLUENTES EN LA ARGENTINA

CHARLÓN, V.^{1*}; TIERI, M.P.¹; CUATRIN, A.L.¹,

¹ INTA EEA Rafaela

* Autor de contacto: charlon.veronica@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La ganadería es uno de los principales contribuyentes de alimento para la población mundial y al mismo tiempo es un gran consumidor de recursos naturales. El sector ganadero compite cada vez más por recursos escasos como la tierra, el agua y la energía y simultáneamente genera efectos potencialmente nocivos para el ambiente y la salud. Los sistemas de producción pecuaria están siendo objeto de atención entre la comunidad científica y el público en general, como consecuencia de la pérdida de nutrientes, las emisiones de amoníaco, metano y otras sustancias, la excreción de nitrógeno y fósforo a través de las excretas y la degradación de los recursos naturales (Steinfeld et al., 2006). Según la FAO (2012), a lo largo de los años hasta el 2030, la presión sobre los recursos seguirá aumentando, aunque a un ritmo más lento que en el pasado, siempre y cuando se introduzcan tecnologías y se tomen decisiones políticas y se implementen normativas al respecto.

Como ocurre en otros países productores de leche, en los últimos años el sector primario argentino comenzó un proceso de concentración y de especialización de la escala productiva. Al mismo tiempo, en Argentina crece la preocupación por las consecuencias medioambientales de las explotaciones agropecuarias intensivas.

Existen numerosas y complejas relaciones entre los sistemas lecheros intensivos y su impacto ambiental. En Europa, ese proceso ha tenido un efecto medioambiental adverso. Si bien la producción primaria de leche está algo alejada en muchos aspectos de los niveles de intensificación asociados con estos problemas, en estudios americanos (Burkholder et al. 2007) y europeos (Verloop et al. 2006), se exponen algunas evidencias de que el agua disponible para la producción de leche en Argentina presenta problemas de contaminación química y microbiológica, llegando al 70% las aguas contaminadas por exceso de nitratos, arsénico y microorganismos (Herrero et al. 2009; Herrero et al. 2000; Charlón et al. 2012a). Además, se hallaron en perforaciones de agua cercanas a áreas con alta acumulación de excretas y exposición a contaminación puntual (por ejemplo, las lagunas de efluentes) los mayores valores de nitratos (mayor de 300 mg/l) y de sulfatos (mayor a 290 mg/l) (Charlón et al. 2012b) entre otros parámetros. Esas tendencias sumadas a falencias estructurales (inadecuado manejo de los efluentes, sistemas semi-estabulados, deficiencias en las perforaciones de agua, etc.) hacen necesario tomar precauciones respecto al cuidado de los recursos en los predios lecheros.

El objetivo de este estudio fue caracterizar el manejo actual de efluentes e identificar y evaluar las relaciones entre el uso del agua, insumos y las prácticas de manejo implementadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo surge del análisis de la información obtenida a través de encuestas realizadas en 114 establecimientos lecheros ubicados en la región pampeana durante el ciclo productivo 2014-2015. El cuestionario abarcó todos los aspectos relacionados con el manejo de estiércol y los efluentes generados, insumos, dieta, rodeo, instalaciones de ordeño (antigüedad,

características, equipamiento) y uso del agua. Los consumos diarios de agua para la limpieza se obtuvieron por fórmula para la máquina de ordeño (Lts/día)= $[27,75 * n^{\circ} \text{ unidades de ordeño} + 134,4]$; para el tanque de frío (Lts/día)= $[0,0403 * \text{capacidad tanque en Lts}] + 11,153$; para los pisos de hormigón (Lts/día)= $[6 \text{ Lts por m}^2 \text{ a limpiar}]$ y para la rutina de ordeño (Lts/día)= $[2 \text{ Lts/ubre}]$. No se consideró el agua empleada en la placa de refrescado. Para el cálculo del agua de bebida para las vacas en ordeño se consideró la fórmula (NRC, 2001) = $[1,58 * \text{CMS}] + (0,90 * \text{kg leche/día}) + (0,05 * \text{CNa}) + (1,20 * \text{T}^{\circ}\text{min}) + 15,99$, siendo CMS y CNa el consumo diario de materia seca (en kg) y de sodio (en g), respectivamente y $\text{T}^{\circ}\text{min}$ la temperatura mínima media de la zona.

Las relaciones entre las variables se analizaron con el paquete FactoMineR (R) a través del procedimiento de correspondencias múltiples, a fin de lograr una clasificación de los establecimientos de características similares en cuanto al uso del agua y el manejo de los efluentes. A partir del análisis de cluster, con el agrupamiento logrado, se realizó un análisis de la varianza de un factor para determinar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los parámetros cuantitativos evaluados en la encuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los establecimientos encuestados (114) correspondieron el 41% a la provincia de Santa Fe, el 30% a Córdoba, el 22% a Buenos Aires y el 7% a Entre Ríos. El 88% de los tambos son pastoriles y el 76% tiene implementado alguna práctica para el manejo de los efluentes generados. El 33% tiene un almacenamiento temporal y luego lo distribuye con un tanque estercolero y el 67% restante tiene lagunas de almacenamiento (66% una laguna y 34% dos o tres). De éstos, el 68% se encuentra a menos de 100 metros de las instalaciones de ordeño. Cuando se preguntó si realizaban separación de sólidos previo ingreso del efluente en la laguna, sólo el 13% respondió afirmativamente. Aunque hubo pocos productores que realizaron la separación de sólidos, el 80% mencionó el uso de estiércol como fertilizante. Sin embargo, cuando se refiere a la recuperación del estiércol de los corrales, el porcentaje desciende a 67%.

A través del análisis multivariado empleado, se identificaron tres grupos (G) de acuerdo a sus prácticas de manejo del estiércol y a la gestión del agua y los efluentes. En la Tabla 1, se detallan las características de los establecimientos relevados y las variables relacionadas al consumo de agua y producción de efluentes para los tres grupos resultantes. Se diferencia el G1, donde se agrupan los establecimientos (31) que no respondieron y/o no implementan alguna práctica para el manejo de sus efluentes, en contraposición con el G3 (53 tambos) que disponen de lagunas para el almacenamiento de los efluentes (en el 93% casos) y tienen planificado la reutilización de los mismos, por recirculación para el lavado de pisos (4%) y/o en forma de riego (92%). La frecuencia de la distribución de los efluentes en estos tambos estaba planificada en el 47% de los casos y variaba de menos de 7 días (13%), de 7 a 30 días (15%), de 60 a 180 días (13%) y mayor a 365 días (6%). Además en el G3 se encuentran los tambos (93%) que poseen alguna trampa de sólidos previo a las lagunas y que recuperan el estiércol de los corrales de alimentación. En G2 se agruparon los establecimientos (30) que si bien almacenaban los efluentes en lagunas (90%), carecían de infraestructura o de un plan de gestión de los mismos.

Tabla 1: Principales indicadores productivos e indicadores de uso de agua, según grupos de tambos analizados.

	Grupo 1 (n=31)		Grupo 2 (N=30)		Grupo 3 (n=53)	
	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
Características productivas						
Vacas en ordeño (VO)	132	101	133	116	167	92
Vacas totales (VT)	159	121	159	132	207	113
Superficie tambo (has)	178	119	230	153	223	139
Producción de Leche (kg LC/VO/día)	15	6	17	6	17	5
Carga (VT/ha)	1,4	0,5	1,3	0,6	1,5	0,4
Consumo materia seca (kg MS/VO)	18	2	19	2	19	2
Antigüedad equipo de ordeño (años)	16	8	15	10	11	7
Antigüedad instalación de ordeño (años)	20	15	18	10	14	11
Uso del agua						
Consumo de agua en equipo frio (Lts/día)	890	1609	874	1117	1323	1269
Consumo de agua en equipo de ordeño (Lts/día)	1021	27	1023	21	1032	23
Consumo de agua en pisos hormigón (Lts/día)	1222	1302	1388	926	1880	1767
Consumo de agua en rutina de ordeño (Lts/día)	263	201	265	233	333	185
Consumo de agua en el tambo (Lts/VO/día)	34	21	36	19	32	16
Estimación de efluentes generados (Lts/día)	3397	2626	3550	1552	4533	2261

LC: Leche corregida (Produccion de Leche (kg/año) = (0,1226 * % Grasa en Leche + 0,0776* % Proteína en Leche + 0,2534)

Los tambos menos productivos (menor kg LC/VO) presentaron instalaciones y equipamiento de ordeño más antiguo y mostraron un mayor consumo de agua y un manejo deficiente de los efluentes. En cambio, los de mayor productividad presentaron mayores aportes, mejores prácticas de manejo del estiércol y uso del agua.

CONCLUSIÓN

La gestión de los efluentes en los tambos de la Argentina es un tema pendiente aún. Con la intensificación de los sistemas y la baja adopción de tecnología, el estiércol y los efluentes generados se transformaron en un producto de desecho. A partir de la experiencia en otros países y a la luz de las nuevas regulaciones es necesario mejorar el conocimiento y la transferencia de tecnología y también identificar las limitaciones para su adopción. La información recogida puede utilizarse para priorizar temas de investigación y/o estrategias de difusión para una lechería amigable con el ambiente.

AGRADECIMIENTOS

A los responsables de las encuestas, a los encuestados y a INTA_Proyecto PNPA1126043 por la financiación.

BIBLIOGRAFÍA

- Burkholder, J., Libra, B., Weyer, P., Heathcote, S., Kolpin, D., Thorne, P. S., Wichman, M. 2007. Impacts of Waste from Concentrated Animal Feeding Operations on Water Quality. *Environmental Health Perspectives*, 115(2), 308–312.
- Charlón, V., y Herrero, M. A. 2012a. Aptitud del agua para diferentes usos en tambos de las cuencas lecheras de Argentina, II Jornadas del Agua en Agroecosistemas, CETA FCV, UBA, Buenos Aires, Argentina, p.20.
- Charlón, V., Herrero, M.A., Cuatrin, A. 2012b. Contaminación del agua subterránea por nitratos en sitios intensificados de predios lecheros. *Revista Argentina de Producción Animal*, 32 (1)
- FAO. 2012. Food and Agriculture Organization (FAO). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Rome, FAO.
- Herrero, M. A., Sardi, G. M. I., Maldonado May, V., Flores, M., Orlando, A., Carbó, L.I. 2000. Distribución de la calidad del agua subterránea en sistemas de producción agropecuarios bonaerenses: 2) Condiciones de manejo y grado de contaminación, *Revista Argentina de Producción Animal*, 20(3-4): 237-247.
- Herrero, M.A., Korol S.E., Charlón, V., Salazar, F., La Manna, A. 2009. Uso del agua, manejo de efluentes e impacto ambiental en el tambo. III Jornadas Internacionales para la calidad de leche (JICAL III), Buenos Aires, Argentina, 26-28 de Marzo de 2009. (pp. 27-57) Memorias de la jornada, Buenos Aires, Argentina: APROCAL.
- Husson, F., Josse, J. & Le, S. (2017). RcmdrPlugin.FactoMineR: Graphical User Interface for FactoMineR. Rpackageversion 1.35. <<https://cran.r-project.org/web/packages/FactoMineR/FactoMineR.pdf>>. [consulta: 25 de julio de 2017].
- NRC. 2001. National Research Council. "8. Water Requirements." *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition*, 2001. Washington, DC: The National Academies Press, 2001. 1.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., De Haan, C. 2006. Livestock's long shadow: environmental issues and options. Food and Agriculture of the United Nations.
- Verloop, J., Boumans, L.J.M., Van Keulen, H., Oenema, J., Hilhorst, G.J., Aarts, H.F.M; Sebek, L.B.J. 2006. Reducing Nitrate Leaching to Groundwater in an Intensive Dairy Farming System. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* (2006) 74: 59.

LA UTILIZACIÓN DE PASTURAS DE ALFALFA EN LOS SISTEMAS LECHEROS INTENSIFICADOS.

Compendio de resultados de ensayos y unidades demostrativas ejecutados en INTA Rafaela
COMERON, E. A*. y ROMERO, L. A.

INTA EEA Rafaela

*e-mail: comeron.eduardo@inta.gob.ar

Esta publicación trata de sintetizar de una manera práctica, la importante y casi exclusiva información producida en INTA Rafaela sobre la alfalfa utilizada en condiciones de pastoreo de vacas lecheras. La mayoría de las referencias bibliográficas de esta publicación, pueden consultarse en el libro El cultivo de la Alfalfa en Argentina (Comeron y Romero, 2007), cuya primera versión fue publicada por Romero et al (1995a). En otros tres libros de la misma temática, se participó como editor de dos de ellos y como redactor de dos capítulos realizados en forma conjunta con el EMBRAPA de Sao Carlos y Juiz de Fora. Finalmente, todos los ensayos reportados pueden consultarse en la RAPA (Volúmenes Suplementos 1. Resúmenes de congresos) de la Asociación Argentina de Producción Animal

LA ACTUALIDAD DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS LECHEROS

Encuestas realizadas por el sector público y privado en los últimos diez años, muestran cambios muy importantes en los diferentes subsistemas que componen la actividad tambera. En particular, el manejo alimenticio fue el que experimentó una transformación importante en cuanto a la composición de la dieta y la distribución de los alimentos (equipos e instalaciones).

En dos encuestas llevadas a cabo en la región de influencia de San Francisco (Cordoba) por Centeno (2012), realizada a la misma población de tambos y en dos ejercicios diferentes se constata que, luego de casi 7 años:

* la proporción de alfalfa en el total de materia seca (MS) consumida descendió al menos en un 23 % y

* aumentó la proporción de silaje de maíz o sorgo y en especial, la de concentrado.

A modo de ejemplo, la dieta promedio para la cuenca central santafesina y centro este de Córdoba evolucionó de acuerdo al Cuadro 1.

Cuadro 1.- Evolución de la dieta en sistemas lecheros encuestados en dos ejercicios.

	2003-2004	2010-2011
Dieta en % de la MS consumida (concentrado : silo : pastura)	25 : 25 : 50	43 : 30 : 27

Esto no debería interpretarse como la desaparición, en el futuro cercano, de las pasturas de alfalfa sino por el contrario, ubica a las mismas en una situación más conveniente o competitiva ya que, alrededor de esos niveles (25% de la dieta), permite:

- un adecuado balance de nutrientes (especialmente de los que aportan energía y proteína), al poder combinarlo con los otros alimentos y los nutrientes que estos aportan.

- reducir los costos de alimentación y por lo tanto, obtener aceptables resultados económicos para la empresa

La información proveniente de distintas fuentes y experiencias, concuerda en la obtención de resultados económicos muy similares en tambos con estrategia alimenticia pastoril, ración parcialmente mezclada (RPM) versus alimentación estabulada del tipo RTM (ración totalmente mezclada). Trabajos realizados en INTA Rafaela por Salado y Bretschneider (2011 y 2012) confirman esa indiferencia productiva entre RTM y RPM donde el pastoreo participa en un 25% del total consumido, con una mejor sanidad de ubre y resultados económicos comparables.

A partir del análisis de información proveniente fundamentalmente de unidades experimentales, se concluye que en sistemas de base pastoril (con dietas del tipo 30:30:30:10; concentrado: pastura: silaje: heno), se pueden mantener producciones de hasta 7500-8000 litros por lactancia a 305 días en vacas Holando, con condición corporal adecuada. Si este resultado se combina con una carga de 1,5 VT/haVT/año, la productividad alcanza los 11.000 litros/haVT/año, la cual equivale al margen bruto de un cultivo de soja de un rinde de 26 qq/ha con capital inmovilizado equivalente (Schneider, comunicación personal).

Por todo lo expuesto se confirma que existen evidencias productivas y económicas que justifican el uso de pasturas (anuales y semipermanentes) en “sistema de Raciones Parcialmente Mezcladas con pastoreo” (RPMp). Estos sistemas implicarían menor inversión y costo, siendo más viables en tambos pequeños y medianos (menos de 3.500 litros diarios). Por otra parte, resultan ser menos riesgosos (más estables) ante variaciones de precios importantes como podría suceder en lecherías con un porcentaje cada vez más importante destinado a la exportación.

LOS SISTEMAS DE APROVECHAMIENTO DE LA ALFALFA

Si bien la alfalfa es una especie más adaptada al corte, se puede pastorear sin afectar su supervivencia cuando se le aplica un manejo correcto. El sistema de pastoreo más recomendado para la alfalfa es el rotativo en franjas, si se pretende lograr un manejo adecuado de las reservas de la planta y permitir un rebrote vigoroso. Sin embargo, existen diferentes alternativas de uso que podrían ser más beneficiosas para la productividad de los animales, manteniendo un grado aceptable de persistencia de la alfalfa.

1) Pastoreo rotativo y las variantes de tiempos de permanencia en la franja

Durante varios años, en INTA Rafaela se han llevado a cabo una serie de experiencias con vacas lecheras sobre pasturas de alfalfa tendientes a evaluar alternativas que favorezcan una mayor eficiencia de cosecha durante parte de la primavera y el verano.

Una alternativa evaluada fue el pastoreo “rotativo en franjas de tiempos de ocupación variables”, realizada para mejorar la persistencia de las plantas de alfalfa a través de la reducción de la carga animal instantánea, pero sin disminuir la carga media del sistema, se propone agrandar las franjas de pastoreo aumentando paralelamente los tiempos de permanencia. Se evaluaron tres tamaños de franja con ocupaciones de 1, 3 y 5 días, con una cantidad de animales similar (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características del manejo y la producción de leche obtenida en la evaluación de un sistema de pastoreo rotativo con franjas de tamaño o tiempo de ocupación variable

	Franja de 1 día de ocupación	Franja de 3 días de ocupación	Franja de 5 días de ocupación
Asignación de pastura (kgMS/vaca)	26	78	130
Producción de leche (litros/vaca/día)	23,2 (1)	23,5 (2)	23,9 (3)
Eficiencia de cosecha (%)	62	62	60
Carga instantánea (vacas/ha)	127	37	18

(1) Promedio diario, (2) promedio de 3 días y (3) promedio de 5 días.

Como se observa en el Cuadro 2, mientras que el nivel de asignación de pastura se mantenga constante respecto a diferentes tiempos de ocupación de la franja, la producción media de leche será similar para el mismo período de tiempo.

Tomando la alternativa presentada en el Cuadro 2, se la aplicó durante 2 años en un sistema de producción denominado UPLO (Unidad de Producción de Leche Orgánica) del INTA Rafaela, una adaptación práctica del uso de franjas de tiempos de ocupación variable en función de las características de la planta de alfalfa en el rechazo (altura del tallo y presencia de hojas). Es decir, que la decisión de retirar los animales de la franja fue como consecuencia de la apreciación visual del remanente el cual representaría una eficiencia de cosecha entre el 70 y 80%. Finalmente se concluye que el valor máximo no debe nunca superar el 85% de esa eficiencia para preservar a la planta (corona) y que la alternancia de eventuales retiros anticipados de la franja (subpastoreo) o retiros tardíos (sobrepastoreo), parecerían que no producen efectos significativos sobre la pastura ni los animales.

En el otro extremo de la variante citada anteriormente se encuentra el sistema denominado “rotativo con franjas diarias de acceso fraccionado” (o subfranjas diarias de pastoreo). En la EEA Rafaela se evaluaron los accesos restringidos en franjas de ocupación diaria a través de la respuesta de vacas lecheras. Las características de las experiencias y los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Características del manejo alimenticio y la respuesta animal obtenida entre franja diaria de acceso completo versus restringido a medio día (2 subfranjas) en pasturas de alfalfa utilizadas por vacas lecheras, con acceso a agua y sombra natural.

	Franja Diaria	
	Acceso completo	Acceso dividido en dos subfranjas
Asignación de pastura (kgMS/vaca/día)	25	25
Suplementación (kgMS/vaca/día) (*)	5,3	5,3
Producción de leche (litros/vaca/día)	24,0	24,5
Consumo de pastura (kgMS/vaca/día)	14,1	14,5

(*) Sin el agregado de antiespumante

Como se puede observar en el cuadro 3, no hubo diferencias en la respuesta animal, aunque se observó un mayor tiempo de pastoreo en los animales afectados al manejo de franjas divididas en dos mitades versus franja completa (55% vs 42% del tiempo total de observación)

En el mismo sentido, se efectuaron dos ensayos donde se comparó el acceso completo a toda la franja versus el acceso fraccionado en 5 porciones o subfranjas iguales (a las que se iba accediendo cada 2 horas aproximadamente) retirando o desplazando el alambrado eléctrico. El tiempo de ocupación dependía en parte de la insistencia del animal en pasar a consumir la subfranja siguiente. En el Cuadro 4 se presentan las características del manejo alimenticio y la respuesta animal obtenida.

Cuadro 4. Características del manejo alimenticio y la respuesta animal obtenida en franja diaria de acceso completo versus acceso dividido en 5 subfranjas en dos experiencias realizadas sobre alfalfa con vacas lecheras de lactancia intermedia

	Franja Diaria	
	Acceso completo	Acceso dividido en cinco subfranjas
Asignación de pastura (kgMS/vaca/día) (*)	25,8 (20,8 a 32,0)	
Suplementación (kgMS/vaca/día) (**)	2,75	
Acceso a sombra natural y agua	No	
Producción de leche (litros/vaca/día)	23,74	24,55
Consumo de pastura (kgMS/vaca/día)	15,9	16,1
Asignación de pastura (kgMS/vaca/día)	21,1	20,0
Suplementación (kgMS/vaca/día) (**)	5,2	
Acceso a sombra natural y agua	Sí	
Producción de leche (litros/vaca/día)	22,0	22,2
Consumo de pastura (kgMS/vaca/día)	14,1	14,3

(*) Niveles de asignación variables; (**) Con el agregado de un antiespumante

En ambas experiencias realizadas bajo diferentes condiciones de manejo, no se encontraron diferencias significativas en la respuesta animal. La eficiencia de cosecha tampoco fue diferente en ninguna de las dos comparaciones (en promedio 62 y 69% respectivamente, para el primer y segundo ensayo) aunque hubo cierta tendencia ($P=0,092$) a ser algo más elevada con el acceso dividido en varias subfranjas. Los resultados de las variantes de pastoreo fueron afectados en el mismo sentido (interacciones no significativas), por los factores del ambiente (clima), el manejo (asignación) y la calidad de la pastura. Tampoco se observaron diferencias a nivel del tiempo de pastoreo entre los animales afectados a ambos tratamientos.

2) Pastoreo de la alfalfa en pie vs alfalfa preoreada

Debido a que durante el verano (y especialmente en días de estrés calórico), el tiempo de pastoreo diurno disminuye fuertemente, se efectuó una experiencia, a un nivel alto de asignación de pastura (por encima de 25 kgMS/vaca/día), con el objeto de mejorar el consumo de vacas en pastoreo de alfalfa a través de un aumento en la velocidad de cosecha del material.

Para ello se propuso el pastoreo de forraje cortado en andanas con tiempo de preoreo corto (alrededor de 1 hora). Los resultados obtenidos indican que los animales que consumían la pastura en

pie lograban una mayor producción de leche respecto al pasto cortado-preoreado (25,56 vs 22,60 litros/vaca/día, respectivamente). Cabe aclarar que estos animales tenían acceso libre a sombra natural y agua fresca, y fueron suplementados con 4,4 kg de un concentrado energético que contenía un antiespumante. Estos resultados se explican fundamentalmente por la mayor selección que realiza el animal del material cosechado en el pastoreo directo de la alfalfa en pie.

En un ensayo posterior, con un nivel de asignación de la pastura más bajo (22 kg MS/vaca/día), donde las posibilidades de selección en el pastoreo directo disminuyen, no se hallaron cambios significativos en la producción de leche respecto al preoreado (23,32 vs 23,14 litros/vaca/día, respectivamente).

3) Estrategia de pastoreo “Líderes y Seguidores”

Otra alternativa al pastoreo rotativo es el Sistema de “Líderes y Seguidores” (LS), el cual consiste en utilizar dos rodeos de animales de manera desfasada para el pastoreo de una misma franja de pastura (el seguidor accede a la franja ya consumida por el líder).

En INTA Rafaela, se realizó una serie de experiencias sobre pasturas de alfalfa donde se evaluaron dos variantes de este sistema:

Rodeos constituidos por vacas en producción según el momento de la lactancia:

En este caso se realizaron dos experiencias. En una de ellas se comparó la respuesta animal de un solo rodeo (sistema tradicional) versus dos subrodeos (sistema LS) donde el líder estaba constituido por vacas de primer tercio de lactancia (40 días) y el seguidor, por vacas de segundo tercio (160 días). La asignación de pastura “media teórica” fue de 23 kgMS/vaca/día para ambos sistemas y los animales recibieron dos niveles de suplementación según el momento de la lactancia (5,75 y 2,0 kg/vaca/día para el primer y segundo tercio, respectivamente), más el agregado de un antiespumante.

Los principales resultados de la respuesta animal se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Respuesta animal al sistema de pastoreo tradicional versus Líderes-Seguidores

Sistema de pastoreo	Consumo de pastura (kgMS/v/d)	Eficiencia de cosecha (%)	Producción de Leche (litros/vaca/día)	
			Media del sistema	Según tercio de lactancia Primer – Segundo
Rodeo único	15,2	69,3	23,58	25,3 – 22,0
Líder-Seguidor	16,3 – 15,2	67,1 (1)	23,41	26,2 – 20,6

No existieron diferencias estadísticamente significativas en el consumo ni en la producción de leche como valores medios de ambos sistemas de pastoreo. Por otra parte, el análisis dentro del sistema LS muestra que la reducción de la producción en el subrodeo “seguidor” (- 1,4 litros) no pudo ser compensada por el aumento registrado en el subrodeo “líder” (+ 0,9 litros).

En una segunda experiencia repitió la comparación anterior, pero utilizando en el sistema LS vacas de segundo tercio de lactancia (120 días) como subrodeo “líder” y de tercer tercio (240 días) como subrodeo “seguidor”. La asignación de pastura “media teórica” fue de 29,5 kgMS/vaca/día para ambos sistemas y los animales recibieron idéntico nivel de suplementación (en promedio 2,5

kg/vaca/día), más el agregado de un antiespumante. Los principales resultados de la respuesta animal se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Respuesta animal al sistema de pastoreo tradicional versus Líderes-Seguidores

Sistema de pastoreo	Consumo de pastura (kgMS/v/d)	Eficiencia de cosecha (%)	Producción de Leche (l/vaca/día)		
			Media rodeo	Según tercio de lactancia Segundo - Tercero	
Rodeo único	15,7	56,8	20,93	22,78	– 19,09
Líder-Seguidor	18,6 – 14,2	56,9	21,91	24,94	– 18,86

Nuevamente se corroboran los resultados obtenidos en la experiencia anterior donde no se obtuvieron diferencias significativas a nivel de respuesta animal con la aplicación del sistema LS.

Se considera que la falta de respuesta del Sistema LS puede en gran medida explicarse por el potencial de producción de los animales que conforman el subrodeo “Líder” y por la cantidad y calidad de la pastura que encuentra el subrodeo “Seguidor”. En ese sentido, cabe recordar que el valor nutritivo de la alfalfa se reduce fuertemente desde la mitad de la planta hacia el nivel de suelo como lo graficaron Romero et al (1995b).

Rodeos constituidos por vacas en producción (líder) y secas (seguidoras)

Independientemente de los resultados comentados anteriormente, el sistema de LS con vacas en producción trae aparejado demasiados problemas operativos a nivel de potrero que no hacen muy recomendable su implementación. En función de esto, se desarrolló una experiencia para evaluar el sistema “Líder y Seguidor” utilizando vacas lecheras en producción y secas con el objeto de mejorar la eficiencia de cosecha de la pastura de alfalfa en el periodo estival sin afectar la producción individual. Para ello compararon dos tratamientos:

Sistema Tradicional (2 lotes constituidos por vacas en ordeño o vacas secas, los cuales accedieron separadamente y en forma diaria a nuevas franjas de pastoreo)

Sistema Líderes-Seguidores (2 lotes que utilizan en forma secuencial y durante dos días una única franja de pastoreo, donde el lote “líder” compuesto por vacas en ordeño ingresa a una nueva franja en forma diaria mientras que el lote “seguidor” compuesto por vacas secas, efectúa el repaso de la misma al día siguiente).

En el cuadro 7 se presentan los resultados obtenidos de respuesta animal entre Sistema Tradicional (rodeos independientes) y Sistema Líder-Seguidor (rodeos secuenciales)

Cuadro 7. Respuesta animal obtenida entre Sistema Tradicional (rodeos independientes) y Sistema Líder-Seguidor (rodeos secuenciales) utilizando vacas en producción y vacas secas

Sistema de pastoreo	Asignación de pastura (kgMS/vaca/día)	Superficie asignada (m ² /vaca/día)	Consumo de pastura (kgMS/vaca/día)	Eficiencia de cosecha (%)	Producción de leche (litros/vaca/día)
Tradicional	13,3	87,8	9,8	74	26,02 a
Líder-Seguidor	20,8	122,5	13,4	88	28,45 b

NOTA: los animales en producción recibieron 6 kg de concentrado/día y un antiespumante

Se concluye que, bajo condiciones de carga media, el sistema de pastoreo LS con la variante de vacas lactando y secas, logró aumentar su producción a pesar de incrementarse la eficiencia de cosecha.

4) Pastoreo mecánico

El pastoreo mecánico de la alfalfa puede ser otra alternativa para incrementar la baja eficiencia de cosecha (en promedio 65%) del pastoreo directo durante el periodo noviembre a marzo.

En vacas con más de 2 meses de lactancia sometidas a un ensayo con dietas mixtas del tipo RPM donde la pastura de alfalfa participaba con más del 35% de la MS total ofrecida y con una carga animal para el sector de la franja a utilizar en el lote de pastura picada un 25% superior, se logró aumentar en +20 puntos la eficiencia de cosecha, y en un +12% del consumo de MS. La producción de leche fue similar para ambos tratamientos (en promedio 32,5 litros/vaca/día) y por consiguiente, la productividad por superficie (litros mensuales/ha) fue un 20% superior en el pasto picado.

En un ensayo de características similares al anteriormente descrito, pero usando vacas con más de 200 días de lactancia, se obtuvieron los mismos resultados.

Queda por evaluar si la mayor productividad por superficie lograda con el pastoreo mecánico puede compensar holgadamente la inversión y el gasto operativo de las maquinarias incluyendo el de la mano de obra

Algunas variables a tener en cuenta para la utilización de la alfalfa

1) Nivel de asignación

Como se ha visto hasta ahora, existen distintas formas de aprovechamiento de la alfalfa. Sin embargo, el nivel de asignación de pastura (oferta de alfalfa) es la variable a utilizar. Ese valor debe ser ajustado por la eficiencia de cosecha que permita lograr el consumo deseado de alfalfa.

Para una biomasa dada, todo cambio de la superficie ofrecida al animal va a traducirse en una variación en la cantidad de pasto ofrecido por animal o nivel de asignación de pastura (AP).

Donde la AP se puede expresar como:

- porcentaje del peso vivo,
- gramos de materia seca (MS) por kg de peso vivo (PV) o,
- kg de MS por vaca (más recomendable para vacas lecheras).

Si utilizamos la última expresión y habiendo fijado previamente el nivel de intensidad de pastoreo deseado o eficiencia de cosecha o utilización de la pastura, la AP se calcula como:

$$\frac{\text{Biomasa ofrecida (kg MS/ a)} \quad \text{Superficie ofrecida (m}^2\text{/vaca)}}{10000 \text{ m}^2\text{/ a}}$$

En la práctica, la incógnita resulta ser la “superficie asignada” o sea el tamaño de la parcela a utilizar ya que la AP es un valor predeterminado y la “biomasa” es un dato. En este caso, el cálculo debería ser:

$$\text{Superficie (m}^2\text{/vaca)} = \frac{\text{AP (kg MS/vaca)}}{\text{Biomasa ofrecida (kg MS/ a)}} \quad 10000 \text{ m}^2\text{/ a}$$

El valor de AP no es muy preciso dependiendo del método de medición. En el caso de gramíneas, cuando la biomasa es estimada con segadora, se puede llegar a subestimar el pasto realmente ofrecido ya que los animales logran pastorear por debajo de la altura de corte en cargas muy elevadas o niveles de AP muy bajos. En alfalfa, se considera que es más precisa la estimación de la biomasa cuando el corte se efectúa a 4-5 cm del suelo.

Independientemente de la especie, se ha observado un efecto directo del nivel de asignación de pasto sobre la ingestión en una relación asintótica. En efecto, a niveles bajos de AP la respuesta marginal de la ingestión es importante, disminuyendo a medida que se incrementan dichos niveles hasta hacerse nula.

Si bien con valores relativos se verifica esa evolución asintótica entre la relación del nivel de AP con el consumo, en valores absolutos puede haber diferencias. Las mismas se asocian al efecto propio de un solo factor o, como sucede generalmente, al efecto combinado de varios de ellos (potencial de producción del animal, calidad del pasto, composición botánica de la oferta, estación del año, estructura de la pastura, biomasa).

Se define la noción de eficiencia de pastoreo (EUP) como la relación entre el consumo de pasto y la cantidad ofrecida. Se estima que el consumo sería máximo para una eficiencia de pastoreo de alrededor del 50 %. Para el caso de raigrás perenne, se considera que el nivel mínimo de AP (medido al ras del suelo) para obtener la máxima ingestión (y por ende, producción de leche) debe ser de dos veces el consumo máximo esperado (CME).

En un análisis realizado por Delagarde y O'Donovan (2005) sobre 5 ecuaciones o modelos de predicción del consumo de vacas lecheras (GrazFeed, GrazeIn, Stockdale, Pature'IN, Comerón) y describiendo el incremento curvilíneo del consumo de pastura (fundamentalmente raigrás) con la AP medida a ras del suelo, se demostró lo siguiente:

El consumo de pasto aumenta en promedio de 0,20; 0,15 y 0,11 kgMS por cada kg de MS ofrecido dentro del rango de 20 a 30, 30 a 40 y 40 a 50 kgMS/vaca/día.

Aproximadamente a 40-45 kgMS/vaca/día (medido al ras del suelo) se constataría el mínimo valor de AP para lograr el máximo consumo. Esto representaría alrededor de 2,4 veces el CME. El valor de predicción de la cantidad ingerida resulta ser similar (variación de 1 kg) entre las ecuaciones

o modelos usados a un valor de AP de 35 a 40 kgMS/v/d. Pero a AP reducidas (< 30 kg) o elevadas (> 50 kg) la variación resulta ser importante (de 4 a 6 kg).

Para la alfalfa, ese valor de AP (medido a 4-5 cm del suelo) sería el equivalente a 1,75 veces el CME (o 50-55 gramos de MS/kg de peso vivo o el 5% del peso). Para pasturas de alfalfa y un rango de AP de 10 a 30 kg MS/vaca/día el incremento marginal en consumo y producción de leche fue de 0,5 y 0,25 kg/kg de AP.

II) Frecuencia de pastoreo

Varias son las causas que determinan que no se logre llegar al potencial productivo de la alfalfa en la mayoría de los sistemas productivos, pudiendo señalarse entre ellas a: la elección del cultivar, al tipo y microrelieve del suelo, las deficiencias en la siembra, el inexistente o insuficiente control de plagas y malezas, el manejo incorrecto, etc.

El incorrecto manejo que se hace de la alfalfa (especialmente en los sistemas lecheros) afecta la sostenibilidad del sistema. En general, esta situación surge como consecuencia de inadecuados tiempos de reposo entre pastoreos:

- demasiado cortos durante el otoño-invierno (asociado en gran medida a una baja proporción de pasturas),
- demasiado largos durante la primavera-verano (estados muy avanzados de madurez que afectan la calidad nutricional).

Existe suficiente información que indica que la alfalfa es una especie donde, por su fisiología de crecimiento, el momento de utilización más recomendable es en inicio de floración o la presencia de suficiente rebrote basal y que además soporta defoliaciones relativamente intensas, pero no frecuentes.

Para compatibilizar la producción de leche con la longevidad de la pastura se recomienda utilizar la alfalfa en forma alternada, es decir uno o dos pastoreos al estado de prebotón y luego un corte para heno o silaje con la alfalfa al 10-20% de floración.

En momentos de altas tasas de crecimiento (generalmente durante octubre-noviembre) o en períodos con significativas deficiencias hídricas donde ocurre una floración prematura, el inicio de utilización de un potrero debería efectuarse en estadios más tempranos a los recomendados (por ejemplo, antes de botón floral). En el caso que las tasas de crecimiento sean demasiado elevadas (a veces combinadas con la imposibilidad temporaria de acceso por falta de piso) es recomendable pastorear una parte del potrero y dejar el resto para efectuar el corte para heno o henolaje.

III) Intensidad del pastoreo

Si bien es cierto que la alfalfa soporta pastoreos intensos, existe un límite a la eficiencia de utilización o nivel de carga animal a partir del cual se perjudica a la planta afectando su rendimiento y persistencia.

En un suelo Argiudol típico, se cuantificó el efecto del nivel de carga animal instantánea (cantidad de animales por ha y por día) sobre la producción y persistencia de una pastura de alfalfa utilizada bajo un sistema de pastoreo rotativo en franjas diarias con vacas lecheras (cuadro 8).

Cuadro 8. Características de los tratamientos evaluados y los resultados obtenidos para tres niveles de carga animal

Nivel de carga animal	Alta	Media	Baja
Carga animal instantánea (vacas/ha/d) (1)	228	114	76
Superficie ofrecida (m ² /vaca/día)	50	101	151
Asignación de pastura (kgMS/v/d)	7,8	20,6	30,8
Consumo (kgMS/v/d)	6,2	14,3	16,8
Eficiencia de cosecha (%)	82	70	55
Carga animal media (VO/haVO/año) (2)	4,21	1,61	1,08
Producción total acumulada (kgMS/ha) (3)	30068 a	35026 b	34850 b
Densidad de la pastura (plantas/m ²) (4)	35 a	42 b	45 b
Cantidad de tallos/planta (4)	7,1	7,2	7,0
Peso de la raíz (gMS/planta) (4)	7,45 a	8,35 a	10,35 b
Peso de la corona (gMS/planta) (4)	9,65	10,25	11,50

(1) Peso vivo de las vacas = 560 kg; (2) Calculada en función de una producción de alfalfa promedio de 12000 kgMS/ha/año y una duración de 4 años; (3) 27 meses; (4) Al 27° mes de implantada. VO = Vaca en ordeño

Luego de utilizar la pastura en 14 oportunidades, los resultados del cuadro 8 muestran claramente el efecto negativo que tuvo la alta carga animal aplicada sobre la producción y persistencia de la alfalfa

Los efectos negativos sobre la pastura empezaron a registrarse a los 18 meses de la fecha de implantación. Se concluye que cuando se superan en estos suelos una carga instantánea de 114 vacas/ha/día (65.000 kg de peso vivo adulto), la compactación de la zona superficial del suelo puede provocar una reducción de la velocidad de infiltración del agua y de la tasa de difusión de oxígeno que afectan seriamente la supervivencia de la planta y por ende, la producción de la pastura. Es probable que en suelos arenosos los problemas comiencen a ocurrir con cargas más elevadas que las mencionadas.

Sin embargo, de acuerdo a observaciones de los ensayos efectuados con otros objetivos, así como la de los modelos intensivos de producción de leche del INTA Rafaela, se estima que hasta cargas de alrededor de 140 vacas en ordeño por hectárea y por día, no afectarían el desarrollo normal de la planta de alfalfa. Esto correspondería a una carga animal media cercana a 2 vacas en ordeño/ha/año. Esta limitante orientada hacia una mayor carga se puede superar, como se explicó anteriormente en el cuadro 2, utilizando franjas de tiempo de permanencia de los animales mayores a 1 día, lo cual va diluyendo el efecto de la compactación por alta carga instantánea.

La información obtenida sobre alfalfa en pastoreo (Comerón et al, 1995a y b ; Romero et al, 1995 b) indica que el valor de AP (medido a 4-5 cm del suelo) sería el equivalente a 1,75 veces el CME (o 50-55 gramos de MS/kg de peso vivo o el 5% del peso). Para pasturas de alfalfa y un rango de AP de 10 a 30 kg MS/vaca/día el incremento marginal en consumo y producción de leche fue de 0,5 y 0,25 kg/kg de AP.

CONSIDERACIONES FINALES

La alfalfa sigue siendo un excelente alimento para todo el proceso de intensificación que ha vivido la lechería y seguramente seguirá siendo viable en un proceso de optimización. Puede afirmarse, que la alfalfa ha encontrado en el esquema o la estrategia alimentaria actual, el lugar adecuado donde se reducen sus desventajas (empaste, exceso de nitrógeno, variabilidad productiva), se favorece el buen estado sanitario (ubre y patas), en un contexto también favorable desde el punto de vista económico (costo, beneficio, inversiones y gastos operativos).

Para los investigadores europeos (Delaby et al, 2016) las leguminosas tienen numerosas “cartas ganadoras” que se pueden agrupar en 3 ítems: fijación simbiótica, transferencia de fertilidad y riqueza en proteínas. Esto tendrá consecuencias agronómicas y zootécnicas a todos los niveles, desde la parcela hasta la alimentación de los animales. Tal vez es por ello que perciben cierta viabilidad y potencialidad productiva en la inserción de la pastura de alfalfa en las dietas y las estrategias de alimentación aplicadas como se detalló en el inicio de este compendio

BIBLIOGRAFIA

- Comeron, E.A., Romero, L.A., Peyraud, J.L., Bruno, O., Delaby, L. 1995a. Effects of herbage allowance on performances of dairy cows grazing alfalfa swards. IVE Symposium International sur la Nutrition des Herbivores, Theix (Francia). *Annales de Zootechnie*, 44 (Supl 1), 368.
- Comeron, E.A., Romero, L.A., Bruno, O.A., Diaz, M.C. 1995b. Efecto del nivel de asignación de pasturas de alfalfa sobre la respuesta de vacas lecheras. 2. Producción y composición de la leche. *Rev.Arg.Prod.Anim. Resúmenes del XIV Reunión Latinoamericana de Producción Animal y XIX Congreso Argentino de Producción Animal*, Vol.15 (2), 627-629.
- Comeron, E.A. y Romero, L.A., 2007. Utilización de la alfalfa para vacas lecheras en pastoreo. En: *El cultivo de la Alfalfa en la Argentina*. (2da Edición). Ed. Daniel Basigalup, Subprograma Alfalfa de INTA, EEA Manfredi, Ediciones INTA. Capítulo 14, 305 a 334.
- Delaby, L., D., Pavie, J., McCarthy, B.,Comerón, E.A., Peyraud, J.L. 2016. Les legumineuses à l'élevage de demain. *Journées AFPP Paris (France) Fourrages*, 226, 77-86.
- Delagarde, R. y O'Donovan, M, 2005. Les modèles de prévision de l'ingestion journalière d'herbe et de la production laitière des vaches au pâturage. *INRA Prod.Anim.*, 18 (4), 241-253
- Romero. N.A., Comeron, E.A., Ustarroz, E. 1995a. Crecimiento y utilización de la alfalfa. En: *La Alfalfa en la Argentina*. Ed.E. Hijano y A. Navarro. INTA Subprograma Alfalfa. Capítulo 8, 149-170.
- Romero, L.A., Comeron, E.A., Bruno, O.A., Diaz, M.C. 1995b. Efecto del nivel de asignación de pasturas de alfalfa sobre la respuesta de vacas lecheras. 1. Consumo y comportamiento ingestivo. *Rev.Arg.Prod.Anim. Resúmenes del XIV Reunión Latinoamericana de Producción Animal y XIX Congreso Argentino de Producción Animal*, Vol.15 (2), 623-626.

- Salado, E., Bretschneider, G. y Castignani, H. 2011. Evaluación productivo-económica de dietas basadas en TMRs vs. PMRs. INTA Proyecto Lechero, Ficha Técnica N° 21. Agosto 2011. http://www.inta.gov.ar/lecheria/fichas/ficha_2
- Salado, E. 2012. Estrategias de alimentación en sistemas lecheros: comparación de sistemas confinados vs. pastoriles. 12° Congreso Panamericano de la Leche. Asunción, Paraguay. (PDF Download Available). Available from: https://www.researchgate.net/publication/281116569_Estrategias_de_alimentacion_en_sistemas_lecheros_comparacion_de_sistemas_confinados_vs_pastoriles12_Congreso_Panamericano_de_la_Leche_Asuncion_Paraguay [accessed Jul 17, 2017]

ESTRATEGIAS PARA MEJORAR LA EFICIENCIA DE LA MANO DE OBRA EN SISTEMAS LECHEROS

DE MARCO, N.^{1*}; COMERÓN, E.A.²; CALVINHO, L.²

¹INTA EEA Rafaela/CONICET; ²INTA EEA Rafaela

* Autor de contacto: demarco.noeli@inta.gob.ar

El sector lechero argentino

La producción lechera argentina alcanzó un máximo en el 2015 con 11.300 millones de litros, con 11.000 tambos aproximadamente (FunPEL, 2015). Encuestas recientes realizadas por INTA (Centeno et al., 2015) caracterizaron la estructura productiva del tambo medio argentino de la siguiente manera: 137 has de superficie dedicadas a vacas totales (VT); 143 vacas en ordeño (VO); 2.866 litros diarios producidos; 19,3 litros/vaca/día; 11.030 litros/haVT/año; 1,3 VT/haVT/año; 55% del campo propio y 42% de la mano de obra familiar. La competencia por la tierra, el nivel de complejidad de la actividad, los problemas de continuidad en el sector, de disponibilidad y rotación de la mano de obra inciden en la reducción de la cantidad de tambos y el aumento de la concentración de la producción en menor cantidad de unidades productivas. En consecuencia, se debería dar prioridad a la aplicación tanto de tecnologías de insumos como de procesos, para colaborar en la desaceleración de la tasa de cierre de tambos a través de la reducción de costos de producción y de la carga laboral, el aumento de la productividad para compensar la menor escala y la simplificación de las tareas de los subsistemas del tambo (Comeron, 2015).

Como consecuencia de lo comentado y si bien el proceso de cierre de tambos tiene alcance mundial (menos tambos, pero más grandes): en el año 1988 Argentina contabilizaba 30.131 unidades productivas; en el 2002 se estimó en 15.000 unidades; 11.542 en el 2008; 12.003 en el 2012; 11.497 en el 2014 y 11.314 en el 2016. En los últimos cuatro años, un conjunto de factores afectó recurrentemente la producción lechera de las principales cuencas de la pampa húmeda, pudiendo citar entre las causas: precios deprimidos de la materia prima y de los productos lácteos en general, récords de excedentes de lluvia con anegamientos de larga duración y reiteradas recomposiciones de la base forrajera. Esta situación colaboró en el aumento de la tasa de cierre de tambos con limitantes crecientes en la absorción de vacas por tambos con alguna posibilidad para acelerar o mantener el crecimiento del stock. A principios del 2017, las inundaciones provocadas por las intensas lluvias empeoraron la situación de las zonas afectadas en los años anteriores, agravando el descenso de la producción del primer trimestre. En el cuadro 1 se muestra el efecto negativo del clima (lluvia y temperatura) sobre la producción nacional de enero, febrero y marzo de 2017 respecto a la del 2016, y su recuperación en abril y mayo.

Cuadro 1. Variación entre los meses de enero a mayo de la producción nacional de leche entre 2016 y 2017. (Fuente: www.ocla.com.ar)

enero	febrero	marzo	abril	mayo	Promedio
-5.9%	-8.1%	-6.1%	+4.9%	+4.1%	-2.2%

Caracterización de los tambos

La información y el análisis que caracterizan a los tambos argentinos en general corresponden a estadísticas disponibles a partir de encuestas efectuadas con anterioridad a los problemas climáticos y económicos que afectaron al sector lechero.

En el cuadro 2 se presenta la estratificación de los tambos de acuerdo a la cantidad diaria de leche y de empresas que representan. Como se observa, el 56% de la producción proviene de algo más del 87% del total de tambos. Existe suficiente consenso por parte de los referentes del sector lácteo (público o privados) en calificar como “escala críticamente sustentable” a aquellos tambos con menos de 3.500-4.000 litros diarios. Como todo valor medio para una población, dicha escala es acompañada de un desvío que en este caso particularmente es afectado por variables como la capacidad gerencial del productor, la calidad de la mano de obra o los niveles de eficiencia de producción, por nombrar alguno de los factores que pueden modificar favorablemente los resultados de la empresa y su viabilidad.

Cuadro 2. Distribución de la producción y cantidad de tambos registrados en abril de 2017 y su acumulado. (www.ocla.org.ar)

Estrato de producción (litros/día)	Abril - 2017		Acumulado	
	% tambos	% de producción	% tambos	% de producción
< 1000	36.1	8.4	36.1	8.4
1000 – 2000	28.1	18.7	64.2	27.1
2000 – 3000	15.2	16.9	79.4	44.0
3000 – 4000	7.7	12.2	87.2	56.2
4000 – 6000	7.0	15.3	94.2	71.5
6000 – 10000	3.5	12.0	97.7	83.5
> 10000	2.3	16.5	100.0	100.0

El trabajo realizado por Gastaldi et al (2015), posteriormente analizado y difundido por la página web del OCLA (2016), permite caracterizar la evolución de 118 tambos encuestados en los ejercicios 2001/04 y 2012/13 en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos y Santa Fe.

Cuadro 3. Evolución de criterios o indicadores más relevantes en una población de 118 tambos de la cuenca central argentina durante los años 2001-2013. (Fuente: Gastaldi et al (2015) modificado por OCLA (2016)).

Concepto	Unidad	2001- 2004	2012- 2013	Variación (%)
Dirección de la empresa	años	50	55	+10.0
Productores que viven en el campo	%	36.8	28.4	-22.8
Ordeño a cargo del productor	%	19.0	14.0	-26.3
Mano de obra	EH	3.3	4.3	+30.3
Producción por EH	l/día	652	667	2.4
Superficie total	ha	255	195	-23.5
Superficie vaca total	ha	154	157	+1.9
Participación de las sup. VT	%	60	81	+33.0
Superficie con pasturas	%	55	47	-14.5
Dieta: participación forraje verde y heno	%	66	44	-33.3
Dieta: participación silajes	%	12	25	+108.3
Dieta: participación concentrados	%	22	31	+40.9
Compra de alimentos	kg/día	450	900	+100
Concentrado	g/día	220	304	+38.2
Balanceado comercial dentro de concentrado	%	35	50	+42.9
Vacas totales	Cab.	173	175	+1.2
Vacas en ordeño	Cab.	135	143	+5.9
Relación VO/VT	%	78	82	+1.7
Carga animal	VT/haVT	1.16	1.32	+13.8
Producción individual	l/VO/día	15.1	19.2	+27.2
Producción total	l/día	2150	2870	+33.5
Grasa butirosa	%	3.50	3.60	+2.9
Proteína	%	3.20	3.30	+3.1
Productividad	l/haVT/año	4980	7580	+52.2
Productividad con alimento producido	l/haVT/año	4010	5240	+30.7
Espina de pescado	%	63	75	+19.0
Control lechero	%	39	61	+56.4
Inseminación artificial	%	49	70	+42.9

NOTA:

1 EH (Equivalente Hombre) = 46 horas de trabajo semanales o 2400 hs anuales; VT = Vaca Total; VO = Vaca Ordeño; Cab = cabezas; ha = hectáreas

A partir de estos datos, se puede señalar la evolución por grupos o conjunto de indicadores. El primero de ellos se refiere a la **gestión de la empresa** o a la **organización de los recursos humanos** (nucleando a los 5 primeros indicadores del cuadro). Se destaca el aumento del 30% en la mano de obra del tambo (expresada en EH) aunque el incremento de la producción (+34%) permitió mantener la eficiencia (653 vs 667 litros/día/EH). Confirmando una característica de excepción respecto a la lechería mundial, se mantiene una caída en el porcentaje de productores que se hacen cargo del ordeño (de 19 a 14%) a pesar de que ésta es una de las posibilidades para sostener operativamente a tambos de escala media y especialmente chicos. Esto se puede explicar, en parte, por el significativo éxodo del productor hacia ciudades o pueblos vecinos.

En el segundo grupo concerniente al **uso de la tierra** se destaca una mayor participación de la superficie. VT, y una menor superficie dedicada a pasturas, seguramente destinada a incrementar la superficie de cultivos anuales (maíz o sorgo para silaje).

Con respecto al tercer grupo, **alimentos y alimentación**, los más notables son: los cambios equilibrados en la participación de los grupos de alimentos en la dieta, el aumento importante del silaje y los concentrados (+108 y +41%) en las dietas, tanto en la cantidad como en la extensión durante el año. Con distinto grado de conocimiento, la implementación de una estrategia de alimentación se encuentra encaminada aparentemente hacia dietas del tipo 31: 31: 7: 31 para silaje: pastura: heno: concentrado, en % de la materia seca (MS) total consumida. Según Comerón *et al.*, (2016) esta variable está relacionada a la implementación de estrategias de alimentación que atenúen la movilización de reservas corporales en los primeros 50 días de lactancia. Por diferentes motivos, la variable que se considera más coherente a utilizar en sistemas pastoriles con suplementación (tipo Ración Parcialmente Mezclada para vacas con alrededor de 8.000 a 8.500 litros/305 días) es “momento de la lactancia = menos de 100 DEL”. La meta a alcanzar consiste en evitar una caída de la condición corporal superior a 1 punto durante ese periodo (equivalente a -0,900 kg/día) y para ello puede incrementarse la calidad de la dieta (EM/kgMS; ENI/kgMS; kgFDN) y el nivel de suplementos en el periodo 0 a 100 DEL (máxima eficiencia de conversión; litros de leche/kgMS consumida), descendiendo de manera drástica en el periodo 101 a 305 DEL (más la respuesta marginal adicional proveniente de periodo 0 a 100 DEL).

El cuarto grupo corresponde a los indicadores de **producción y calidad de leche**, componentes básicos de la productividad física. Se destaca la producción individual que en algo más de 10 años pasó de 15 a 19 litros/vaca/día con un aumento (+27,2%), en la composición de la leche de 2,9 % de GB y de 3,1 % de PB. Se observa que la carga (de 1,16 a 1,32 VT/haVT) tuvo una evolución o crecimiento menor que la producción individual (+14 vs +27%, respectivamente), lo cual es de esperar en una primera etapa de un proceso de intensificación. Estos datos junto con la relación VO/VT, permitieron un aumento en la productividad del 52% (de 5.000 a 7.600 litros/ha VT/año). En cuanto a los valores de calidad higiénica - sanitaria de la leche (según lo informado por OCLA en julio de 2017), el recuento bacteriano varió entre 70.000 y 200.000 Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml) y el Recuento de Células Somáticas entre 330.000 y 570.000.

El quinto grupo muestra la **tecnología incorporada** en el periodo analizado, aunque sólo representado por tres indicadores: instalaciones tipo espina de pescado, control lechero e inseminación artificial. La más destacable se refiere a una intención por adecuar y/o ampliar las

instalaciones de ordeño como respuesta al incremento de animales en el tambo. En cuanto al control lechero, esto no asegura *per se* la incorporación de tecnología al sistema. En alguna medida, tampoco la inseminación artificial asegura un avance si no existe un programa de mejoramiento que permita solucionar defectos e incorporar variables productivas deseadas.

Líneas de acción

Como lo indica Taverna (2010), se efectuó a partir del año 2009 un análisis prospectivo de la lechería bovina y su proyección hacia el año 2020. Dicho análisis consideró un valor inicial (“línea de base”) de 10.353 millones de litros para el año 2010, como resultado de una producción de leche de casi 16,9 litros/vaca/día y un rodeo de vacas en ordeño de 1.679.429 animales (2.153.114 vacas totales). Los desafíos para alcanzar metas de producción más elevadas, consisten en promover un Crecimiento Genuino de la Producción (tambo constante) acompañado de un Proceso de Intensificación Sustentable o de Optimización de la Intensificación.

Como lo señala Comerón (2015), la promoción y la implementación de algunas líneas de acción que difundan y generen información pertinente se mencionan a continuación:

Con respecto a la **difusión**, actualmente existe suficiente información generada localmente y del exterior (muchas de ellas validadas), para encarar acciones dirigidas a cada actor involucrado en el sector primario (productor, tambero, peón y profesional), con un impacto significativo sobre los factores que están limitando el aumento de stock y, por lo tanto, el de una lechería en crecimiento y con alto valor agregado.

En lo que hace a la **generación de información**, las prioridades serían:

a) Esquemas y herramientas particulares creadas para la **gestión de la empresa y organización de recursos humanos** en especial si se pretende algún éxito significativo y perdurable. La competitividad actual del sector lechero argentino se sustenta en su capacidad de aprender, de incorporar y usar tecnología que permita adquirir una mayor eficiencia global de la empresa reduciendo en lo posible la carga laboral. Para ello requiere de personal calificado, con capacitación y destrezas que le acrediten eficiencia y autonomía, y donde se tenga en cuenta el compromiso de reducción de la carga laboral.

b) En segundo lugar, se posiciona fuertemente la planificación de una **rotación intensivamente sustentable**, que aporte, en dietas RPM, todo el forraje conservado (silaje y heno) necesario (y algo más), con un sector reservado para las pasturas de alfalfa o verdeos que permita al menos un 20 a 25% del consumo total en MS y que además atenúe los inconvenientes observados en animales confinados (Salado *et al.*, 2014).

c) En tercer lugar, delinear para cada objetivo o meta productiva, la **estrategia alimentaria adecuada** (incluye dietas y suministro) para obtener en un principio la mejor eficiencia económica y luego introducir los ajustes necesarios para alcanzar los indicadores ambientales recomendados.

Situación laboral de la mano de obra

La mano de obra en el tambo es uno de los pilares fundamentales para que el sistema funcione correctamente y en armonía con los otros componentes. Uno de los mayores problemas es la creciente rotación de la misma en los establecimientos lecheros y la dificultad para conseguir personal

calificado que esté dispuesto a permanecer en un trabajo que es muy sacrificado debido a factores como las contingencias climáticas, el horario en el que se realiza el ordeño y la falta de descansos semanales y vacaciones, entre otros. Esto hace que sea imperioso buscar estrategias que permitan mantener o aumentar la motivación de los trabajadores, mejorando su calidad de vida, para que el tambo sea una actividad atractiva.

Existen tres tipos de motivaciones que llevan al personal a permanecer en sus trabajos: intrínseca, extrínseca y trascendente (Lyford-Pike, 2010). En el primero, la mano de obra se siente complacida por haber ejecutado las tareas en forma correcta y con resultados concretos a la vista. El segundo tipo está relacionado con la remuneración y el reconocimiento no monetario, para que la persona además de ahorrar también pueda crecer personal y profesionalmente. El último ejemplo de motivación se da cuando la persona siente que su trabajo beneficia a la comunidad en su conjunto, situación que es muy común en el sector lácteo por la importancia que tiene la leche en la nutrición de los seres humanos.

Según Preumayr, (2017) se realizó una encuesta sobre más de 300 empleados tamberos de las provincias de Santa Fe y Córdoba, la mayoría de las personas que trabajan en el tambo sólo tienen estudios primarios, son menores de 30 años y la duración promedio en cada puesto de trabajo es de dos años, siendo que la mayoría tiene una experiencia de más cinco años en la actividad. En relación a los aspectos que hacen a la comodidad en el ámbito laboral, un alto porcentaje coincide en que las instalaciones influyen en el desarrollo de las tareas diarias, y esto se relaciona con el barro y la lluvia, factores que fueron mencionados como los que menos les atraían de su tarea a los tamberos. Si la infraestructura no es la adecuada, los corrales de espera son de tierra y no tienen el dimensionamiento apropiado, es muy probable que, en días lluviosos, los animales se embarren, aumentando la probabilidad de contraer enfermedades y haciendo más dificultosa la tarea de ordeño. Por otro lado, la calidad de las viviendas que habitan los trabajadores no es la adecuada, impidiendo la satisfacción de las necesidades básicas de habitabilidad. Es de destacar que en cuanto a lo que transformaría a este trabajo en algo más atractivo y motivador se encuentra la implementación de un régimen de francos, descansos y vacaciones. En un estudio realizado en Suecia se detectó que, en dicho país, si bien hay escasez de mano de obra, los motivos por lo que esto ocurre son distintos a lo que sucede en Argentina. Por ejemplo, para los suecos son más importantes las motivaciones internas como la realización en el trabajo y que éste sea reconocido, además de que sea divertido y dinámico. Otra cuestión relevante es el trabajo en equipo y que haya una comunicación fluida entre el personal.

Sustentabilidad de los sistemas lecheros

Según un trabajo de Litwin *et al.*, (2016), la sustentabilidad posee tres dimensiones: social, económica y ambiental. En el mismo se relevó información de tambos de la Cuenca Lechera Central Argentina, llegando a la conclusión de que ésta se ve mayormente comprometida desde el punto de vista ecológico-ambiental. La propuesta metodológica presentada se utilizó durante el ejercicio 2015 para los indicadores propuestos de once casos de Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires y Entre Ríos. La unidad de análisis comprendió establecimientos comerciales distribuidos geográficamente en las cuatro provincias mencionadas y los cuales destinaban el 70% o más de la superficie total a la actividad tambo. Para arribar a estos resultados fue necesario proponer una metodología que

permitiera calcular una serie de indicadores que tuvieran en cuenta estas tres dimensiones. El relevamiento de datos a nivel predial en los tambos seleccionados se efectuó a través de encuestas trimestrales realizadas desde abril del 2015 hasta mayo del 2016.

A través del tiempo la forma de producir atravesó un proceso de cambios, donde la agricultura desplazó a la ganadería y cobró un papel preponderante en la economía de los argentinos. La lechería debió intensificarse, teniendo como consecuencia la desaparición de un gran número de tambos. (Piñeiro y Villarreal, 2005). Pese a esto, los volúmenes de leche se incrementaron debido a la concentración de las unidades productivas y al aumento del uso de suplementos en la dieta que hizo que las pasturas tuvieran un lugar menos relevante en la misma. La consecuencia fue una mayor contaminación del agua por parte de los establecimientos dedicados a la producción de leche. De esta manera surgió un mayor interés por parte de los productores y de la sociedad para poder sostener la producción a largo plazo, que reflató el concepto de desarrollo sustentable. Éste sostiene que debemos satisfacer las necesidades de las generaciones actuales sin comprometer los recursos de las futuras, teniendo en cuenta la productividad, el medio ambiente y la rentabilidad económica.

Uno de los mayores problemas que se presentan al momento de medir la sustentabilidad de un sistema es cómo vincular las propiedades del mismo con aspectos tangibles y fáciles de ser medidos y analizados. (Astier *et al.*, 2008). Para ello se deben identificar y definir atributos o propiedades que nos permitan cuantificar la sustentabilidad de los sistemas. Los indicadores brindan un panorama del funcionamiento del sistema y deben tener ciertas características como ser factibles de medir y controlar, poder ser aplicados en varios contextos, ser sencillos de comprender y que se puedan concentrar en aspectos prácticos y claros. Además, es importante que calculen los cambios que se produzcan en períodos de tiempo determinados, manifiesten el atributo que se va a evaluar y sean integradores. Estos indicadores a su vez se evalúan mediante una escala cromática, que de acuerdo a los colores verde, amarillo y rojo representa tres niveles de sustentabilidad en orden decreciente. Por lo tanto, además de responder a los tradicionales indicadores productivos y económicos, se deberían abordar los aspectos sociales como lo proponen Engler *et al.*, (2014), para finalmente calificar la sustentabilidad de tambos comerciales pampeanos.

Los subsistemas en el tambo

La eficiencia del tambo es en realidad la sumatoria de diferentes eficiencias provenientes de las distintas partes que lo componen. En el tambo “conviven” varios subsistemas, y cada uno ellos, es dependiente de los otros y viceversa, pero manteniendo una complejidad particular. Se pueden citar:

- * sector vaca seca y parto
- * sector crianza
- * sector recría de vaquillonas
- * sector ordeño
- * sector alimentos y alimentación
- * sector sanidad y servicio

Sin dejar de reconocer la importancia de los otros sectores o subsistemas, así como sus interrelaciones, esta revisión pretende abordar exclusivamente el sector o subsistema Ordeño, como estrategia de acción para ir paulatinamente comprendiendo y solucionando cada uno de estos eslabones, con actividades agrupadas en una temática común pero independientes y francamente particulares.

El subsistema ordeño

Para el tambo, la tarea de ordeño es una de las de mayor grado de complejidad y precisa atención por parte del personal directamente involucrado en la misma. Por ser el subsistema más demandante en tiempo, al menos, se considera que debe tratarse prioritariamente. Pero, además, se llevan a cabo varias actividades muy diferentes entre ellas y con articulaciones importantes con los otros subsistemas.

De manera general, los operarios no deberían superar las **2 horas consecutivas** realizando la misma actividad, para que el proceso sea eficiente y se mantenga la motivación (Jago y Burke, 2010). Ordeños largos producen jornadas laborales extensas, generando trabajos poco atractivos, mayor rotación de empleados y mayor tasa de accidentes laborales (Tipples *et al.*, 2012).

Baudracco *et al.*, (2014) relevaron información en tambos argentinos, constatando las siguientes características promedio:

- Presencia de 2 personas en fosa de ordeño;
- Relación de 67 VO/persona en instalación de ordeño;
- Atención de 4 bajadas/persona;
- Tiempo de ordeño completo (incluye limpieza) = 2,4 horas;
1,8 horas de tiempo efectivo y
0,6 horas de tiempo de limpieza en la sala de ordeño y el corral.

El valor ideal del tiempo de ordeño sería menor o igual a 1,5 horas.

Se asume que la selección genética realizada en vacas lecheras ordeñadas dos veces al día durante muchos años, hace imprescindible que en la actualidad las vacas tengan que ser ordeñadas con esta frecuencia. Sin embargo, investigadores de Nueva Zelanda (Clark *et al.*, 2007) e Irlanda (Gleeson *et al.*, 2007) han desafiado esta teoría, experimentando con vacas ordeñadas una vez al día. Este cambio en la frecuencia de ordeño es un camino efectivo para reducir el tiempo empleado en el ordeño y los costos de la empresa (Hickson *et al.*, 2006).

Si se logra disminuir la frecuencia de ordeño y pasar de dos ordeños diarios (DOD) a solo uno, este ahorro de tiempo y esfuerzo tendría una influencia positiva, (Tipples *et al.*, 2007) dado que un ordeño diario (UOD) modifica el día completo de trabajo en un tambo, permitiendo más horas para el descanso y otorgando así mejores condiciones de vida/trabajo. Está demostrado que las personas que ordeñan una vez al día trabajan más rápido, son más responsables y combinan los diferentes trabajos del tambo de manera más eficiente. Este sistema también podría tener ventajas para los productores lecheros, los que se verían beneficiados por la disminución en la rotación de personal como consecuencia de generar un trabajo menos sacrificado. Para las vacas, la principal ventaja de UOD radica en disminuir las distancias diarias de caminata, reducir problemas podales y mejorar la condición corporal de los animales al final de la lactancia (Tucker *et al.*, 2007). Sin

embargo, reducir la frecuencia de ordeño implica en general una disminución en la producción de leche.

Ensayos realizados en Nueva Zelanda (Clark *et al.*, 2007) mostraron que un cambio de DOD a UOD, causa una reducción en la producción del 25% a 30% por vaca. Sin embargo, con un aumento en la carga animal en rodeos de UOD, se compensaría la reducción en producción/vaca y en balance, la producción/hectárea podría disminuir solo 10% a 15%. En contraste con la baja producción de leche que mostraron las vacas en el régimen de UOD, el desempeño reproductivo de las mismas fue mayor que en vacas con DOD. Este aspecto puede estar asociado a una mejora en la salud del animal debido a la reducción en el número de ordeños, destinando mayor cantidad de energía para la reproducción.

Aún no está claro si UOD tiene consecuencias negativas para la salud de la ubre, ya que los resultados de estudios que evalúan este aspecto son contrastantes (Gleeson *et al.*, 2007, Lacy-Hulbert *et al.*, 2005). Pero se considera *a priori* que aplicar este sistema de ordeño UOD en vacas Holando de medio-alto nivel de producción de leche (> 8.000 litros/lactancia) podría ser contraproducente durante el primer tercio de la lactancia (especialmente, de 0 a 60 días). En esa etapa, el animal recién alcanza su pico de consumo, encontrándose en Balance Energético Negativo (BEN), siendo normal hasta una pérdida de peso de -0,900 kg/día (1 punto de condición corporal; CC). Mejorando la oferta de nutrientes, la vaca de buen mérito genético puede incrementar su producción, pero no logra siquiera atenuar la pérdida de peso, (imposibilitando la recuperación de la CC), perjudicando finalmente la eficiencia reproductiva. En síntesis, en el primer tercio se define la lactancia actual y futura, por lo que introducir un UOD después de un DOD requiere de una evaluación de los factores en juego para definir el momento de lactancia más apropiado para pasar de frecuencia de ordeño. Además, en circunstancias de un servicio estacionado (2 épocas) se debe contemplar que existe un periodo de recuperación conformado por los primeros 45 o 60 días de lactancia, y otro de inseminaciones posibles (3 = 63 días), resultando en un promedio de 100 a 115 días de lactancia.

Existen otras estrategias menos extremas al UOD que tienden a reducir la “continua” intensidad de trabajo, pudiéndose citar el sistema “13x14”, donde se elimina un turno de ordeño por semana. Según Hostiou y Fagon (2012), este sistema podría tener una influencia positiva en el bienestar de las personas que realizan esta tarea. Varios autores consideran que, al contrario del UOD, es nula o no significativa la disminución de producción y composición de la leche (de 6 a 7%) aplicado durante un periodo extenso de la lactancia (Labussiere y Coindet, 1968; Autrey *et al.*, 1963; Radcliffe *et al.*, 1973; Ayadi *et al.*, 2003; Meffe *et al.*, 2003). Sin embargo, el mayor problema se verifica en el aumento del recuento de células somáticas (RCS) como lo indican Radcliffe *et al.*, (1973) aunque luego de unos días se normalizan dichos valores. Este nuevo enfoque sobre la rutina de ordeño y la lactancia puede contribuir a reducir la carga de trabajo en el sistema. Si bien Lazzarini *et al.*, (2014) realizaron una revisión sobre este tema, no hay información científica acerca de esta alternativa o las variantes a explorar en un ensayo convencional.

CONCLUSION

Como conclusión, se acuerda que existe información sobre el efecto de la reducción de la frecuencia de ordeño, pero surgen otras alternativas que merecen ser evaluadas para tratar de que los efectos sobre los animales y sobre el sistema sean lo menos perjudiciales posibles.

Las hipótesis que se plantean en las líneas de investigación propuestas para esta temática serían:

- Pasados los 120 días de lactancia, la eliminación de un ordeño diario no afecta significativamente la performance productiva de los animales ni el resultado económico del tambo.
- La alternativa de resignar un turno de ordeño semanal, no trae aparejado inconvenientes productivos ni sanitarios ni económicos.
- El uso de indicadores sociales permitirá evaluar si la restricción de UOD (+ 100 días DEL o 1 x semana) influye en la mejora de la calidad de vida de la mano de obra y/o en la reorganización de otros subsistemas del tambo.

BIBLIOGRAFÍA

- Astier, M., Maser, O. R., & Galván-Miyoshi, Y. 2008. Evaluación de sustentabilidad: un enfoque dinámico y multidimensional. Valencia: SEAE.
- Autrey, K.M.; Rollins, G.H.; Cannon, R.Y. 1963. Effects of omitting one and two milkings weekly on yield, composition and flavour of milk and on udder health. *Journal of Dairy Science* 46: 626.
- Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X.; y Knight, C.H. 2003. Effect of omitting one milking weekly on lactational performances and morphological udder changes in dairy cows. *Journal of dairy science*, 86(7), 2352- 2358.
- Baudracco, J.; Lazzarini, B.; Rosset, A.; Jáuregui, J.; Braidá, D.; Maiztegui, J. y Lyons, N. 2014. Cuantificación de limitantes productivas en tambos de Argentina. Informe Final.
- Centeno, A.; Suero, M.; Gastaldi, L.; Litwin, G.; Maekawa, M.; Engler, P.; Cuatrin, A. y Comeron, E.A. 2015. El tambo argentino: Caracterización de estratos a través de indicadores productivos. Ediciones INTA Lechero Nro. 2.
- Clark, D.; Dalley D.; Hofmann, L. y Frost, B. 2007. Milk production from Once-a-Day (OAD) milking. Proc. The Once-a-Day Milking Conference. Hamilton, New Zealand. Pp: 3-8.
- Comerón, E. 2015. Documento Interno de Proyecto Integrador de Leche Bovina de INTA.
- Davis, S.R.; Farr, V.C.; Stelwagen, K. 1999. Regulation of yield loss and milk composition during once daily milking: a review. *Livestock Production Science*, 59:77-94.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy sci.* 72: 68 – 78.
- Engler, P.L.; Litwin, G.M.; Alvarez, H.J.; Gimenez, G.D.; Centeno, A.R.; Maekawa, M., Almada, G., Ferrer, J.L. 2014. Seguimiento de indicadores de sustentabilidad en tambos comerciales de la cuenca lechera pampeana argentina. En XVII Jornadas Nacionales de Extensión Rural y IX del Mercosur. pp. 170-176. ISSN 1515-2553

- FunPEL. 2015. Fundación para la Promoción y el Desarrollo de la Cadena Láctea Argentina. Anuario de la Lechería Argentina 2014. 78 pp.
- Gastaldi, L.B.; Litwin, G.M.; Maekawa, M.; Centeno, A.R.; Engler, P.L.; Cuatrin, A.; Chimicz, J.; Ferrer, J.L.; Suero, M.M. 2015. El tambo argentino: una mirada integral de los sistemas de producción de leche en la Región Pampeana.
- Gleeson, D. E.; O'Brien, B.; Boyle, L. y Earley, B. 2007. Effect of milking frequency and nutritional level on aspects of the health and welfare of dairy cows. *Animal* 1(1):125-132.
- Hickson, R.E.; Lopez-Villalobos, N.; Dalley, D.E.; Clark, D.A. y Holmes, C.W. 2006. Yields and persistency of lactation in Friesian and Jersey cows milked once daily. *Journal of dairy science*. 89(6):2017-2024.
- Hostiou, N. y Fagon, J. 2012. Simplification of livestock management: an analysis of simplified practices developed in herbivore and grain-fed production systems. *INRA Productions Animales*,25(2). Pp: 127- 140.
- INTA. 2008. Guía para cuidado y uso de animales en experimentación. Centro de Inv. en Cs. Veterinarias, Bs.As, Argentina. 90 pp.
- Jago, J.G. y Burke, J.L.K. 2010. Shorter milking times. *Proceedings of the SIDE Conference*. New Zealand. Pp: 132-148.
- Labussiere, J.; Coindet, J. 1968. Effect of the Sunday afternoon milking in French Friesian Black and White cows. In *Annales de Zootechnie*. Vol. 14. Pp. 63-126.
- Lacy-Hulbert, S.J.; Dalley, D.E y Clark, D.A. 2005. The effects of once a day milking on mastitis and somatic cell count. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 65:137-142.
- Lazzarini, B., Baudracco, J., Lopez-Villalobos, N., Comeron, E.; Lyons, N. 2015. ¿Es posible suprimir un ordeño semanal en vacas lecheras sin afectar la producción? Revisión bibliográfica. *Comunicación*. 38° Congreso de AAPA. Volumen 35, Supl 1.
- Lyford-Pike, F. 2010. “Lo importante es ser empleador de elección”. Artículo extraído de www.agrositio.com. [Fecha de consulta: 10 de julio de 2017]
- Litwin, G.; Giménez, G.; Álvarez, H.; Esnaola, I.; Centeno, A.; Moretto, M.; Maekawa, M.; Butarelli, S.; Engler, P.; Spilj, G.; Almada, G.; Ferrer, J.L.; Tieri, M.P.; Charlón, V. 2016. Indicadores de sustentabilidad en tambos comerciales de la Cuenca lechera pampeana argentina. *Asociación Argentina de Economía Agraria*. 24 Pp.
- MacRae, J.C.; Armstrong, D.G. 1968. Enzyme method for determination of α -linked glucose polymers in biological materials. *Journal of the Sciences of Food and Agricultural Volume* 19, Issue 10. Pp: 578–581.
- Meffe, N.; Tache, C.; Gaudin, V.; Marnet, G. 2003. Suppressing one milking per week throughout lactation of high producing dairy cows: effects on animal performances and milk physico-chemical characteristics. *Renc. Rech. Ruminants*: 85-88.
- Piñeiro, M. y Villarreal, F. 2005. Modernización agrícola y nuevos actores sociales. *Ciencia Hoy* 15 (87): 32-36.
- Preumayr, F. ¿Cómo trabajamos el factor humano en el tambo? www.infortambo.com [Fecha de consulta: 14 de julio de 2017]

- Radcliffe, J.C.; Bailey, L.F.; Horne, M.L. 1973. Periodic omission of dairy cow milking. I. Effect on milk yield and composition and on udder health. *J. Dairy Res.* 40 (2): 247-257.
- Salado, E.E; Bretschneider, G.; Castignani, H. 2014. Artículo técnico. 9 Pp.
- Taverna, M. 2010. Programa Nacional Leches. INTA. 37 Pp.
- Tipples, R., Hill, R., & Wilson, K. (2012). How did dairy fatigue research come about and what are we doing?. South Island Dairy Event. University of Otago. Dunedin. Pp:25-27.
- Tipples, R.; Verwoerd, N.; Bewsell, D.; Dalley, D.; y D. Turner. 2007. Social impacts of Once-a-Day (OAD) milking. The Once-a-Day Milking Conference. Hamilton, New Zealand. Pp: 23-27.
- Tucker, C.; Dalley, D.E.; Kendal, P.; y Clark, D.A. 2007. Does once-a-day (OAD) milking improve animal welfare? The Once-a-Day Milking Conference. Hamilton, New Zealand. Pp: 14-17.
- www.ocla.com.ar [Fecha de consulta: 14 de julio de 2017].

EFFECTOS DE UN SISTEMA DE ENFRIAMIENTO/COOLING EN VACAS LECHERAS EN UN SISTEMA DE ORDEÑO VOLUNTARIO EN LA CUENCA LECHERA SANTAFESINA DURANTE EL PERÍODO ESTIVAL

GHIANO, J.^{1*}; COSTAMAGNA, D.¹; TAVERNA, M.¹; WALTER, E.¹; GALEANO, G.¹; DESTEFANI, R.¹; LEVA, P.²; TOFFOLI, G.²; LEEUW, A. S.²; MILLAPÁN, L.³; ARIAS, M.B.³; POYO, E.³; LARROQUE, F.³; CARBONE, L.⁴

¹INTA EEA Rafaela; ²FCA-UNL; ³FAUBA; ⁴DeLaval

*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 se mueven mediante incentivos, sin necesidad de ser arreadas. Los diferentes estímulos (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 en 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.

El período estival afecta negativamente el bienestar y la performance animal. El estrés calórico afecta directa e indirectamente el consumo de alimento, la temperatura corporal del animal, los requerimientos de mantenimiento, procesos metabólicos, la eficiencia de conversión de alimento a leche, la producción, la performance reproductiva, el estado sanitario y el comportamiento y bienestar animal (Thatcher, 1974; Cook et al., 2007; Tucker et al., 2007; Rhoads et al., 2009).

En sistemas VMS en pastoreo, el impacto negativo del estrés térmico, es de suma importancia ya que afecta directamente la frecuencia de ordeño de los animales, debido a una disminución del tráfico, y consecuentemente la producción de leche.

Uno de los métodos más difundidos y mejor evaluados a nivel mundial para mitigar los efectos del estrés calórico, es el enfriamiento directo de los animales con combinación de ventilación y humedecimiento (Hahn, 1981).

El objetivo del presente trabajo fue realizar un seguimiento del tambo VMS del INTA EEA Rafaela con sistema de enfriamiento/cooling BSC[®] Barn System Controller DeLaval[®] sobre parámetros productivos, de comportamiento y bienestar animal en condiciones estivales.

MATERIALES Y MÉTODOS

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 (Enero-Febrero) 2017.

El sistema de enfriamiento/cooling BSC[®] consistió en ciclos consecutivos de 20 segundos de aspersión de agua y 240 segundos de ventilación forzada, sobre el sector de comedero y a la entrada de la unidad de ordeño robotizado VMS (Figura 1). El caudal aplicado fue de 21 litros de agua por aspersor por hora, lo que equivale a 300 cm³ por vaca por ciclo de refrescado. El tamaño de gota generado era de 5 milímetros, lo que posibilitaba un mojado completo del cuerpo del animal. El caudal de aire generado por los ventiladores era de 34.000 metros cúbicos por hora, con una velocidad de viento de 2 metros por segundo (Taverna et al, 2014). El sistema de ventilación y mojado se encendía automáticamente mediante el sistema BSC[®] cuando el Índice de Temperatura y Humedad (ITH) superaba el umbral de estrés calórico de 68. El ITH es el índice mundialmente utilizado para medir el impacto del estrés calórico en bovinos (Thom, 1958) y se calcula como:

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

donde Ta es la temperatura del aire, Td es la temperatura del punto de rocío y hr es la humedad relativa expresada en forma decimal.



Figura 1: Sistema de refrescado/cooling BCS en comedero

Se realizó el seguimiento de 51 vacas en ordeño raza Holando Argentino, 32 de primera lactancia y 19 de dos o más lactancias, con las características que se describen en la Tabla 1.

Tabla 1: Características físicas y productivas de las vacas al inicio del estudio

Variable evaluada	Promedio ± desvío estándar
Días en leche (días)	192±99
Número de lactancias	1,49±0,5
Producción de leche (kg vaca ⁻¹ día ⁻¹)	29,59±1,69
Producción de leche al 4% GB (kg vaca ⁻¹ día ⁻¹)	28,9±0,96
Grasa Butirosa (g/100ml)	3,64±0,09
Proteína (g/100ml)	3,2±0,04
Recuento células somáticas (log10)	5,3±4,69
UFC/ml	17.750±10.000
Score corporal	2,78±0,25

Las vacas permanecieron encerradas de 7 a 21 horas en un Corral Estabilizado para Alimentación (CEA) con una asignación de 75 m² de superficie y 70 cm de frente de comedero por animal. El tiempo nocturno lo pasaron pastoreando las respectivas franjas de asignación diaria.

EL CEA disponía de estructuras de media sombra móviles en el extremo opuesto al sector de comedero. La malla plástica de la media sombra era de 80% y la estructura estaba orientada en dirección norte-sur, logrando una superficie sombreada de 4 m² por animal. Todos los animales tenían libre acceso a esta sombra. La oferta de agua era *ad libitum*, en bebederos plásticos con alta capacidad de llenado, que se encontraban en las inmediaciones del VMS. El sector de comedero, consistía en una platea de hormigón armado.

La dieta estaba formulada para alcanzar los requerimientos de los animales (National Research Council, 2001). En la tabla 2 se muestra la composición física de la dieta. El balanceado se suministraba individualmente en el VMS y en una estación de alimentación ubicada en el sector de comedero, según producción y período de lactancia. El acceso de los animales a la estación de alimentación era libre. El resto de la Ración Total Mezclada RTM se distribuía con mixer a las 7 hs.

Tabla 2: Composición física de la dieta ofrecida a los animales durante el período de ensayo

Alimento	Oferta (kg MS/VO/día)
Expeller de soja	1,7
Silaje maíz	7
Pellet de girasol	1,7
Heno pastura	2
Soja pastoreo	3
Balanceado	6,1
Semilla de algodón	1,7
TOTAL	23,2

Proteína Bruta de la dieta: 16,5%
Energía Neta de Lactación: 1,58 Megacalorías por kg de MS
Relación forraje:concentrado: 52/48

Durante el seguimiento del sistema VMS con enfriamiento/cooling, se monitorearon parámetros ambientales, fisiológicos y comportamentales que se detallan a continuación.

Mediciones ambientales

La información meteorológica, temperatura media diaria (T_{Md}, °C) y humedad relativa media diaria (HR_d, %) fueron suministradas por la Estación Agrometeorológica de INTA EEA Rafaela.

Se colocaron esferas de globo negro (GN) o esferas de Vernon (Berbigier, 1988) en el sector de comederos, VMS, media sombra y a la intemperie, en los que se registraban en forma horaria, la temperatura con los aportes del calor por convección y radiación, mediante dispositivos "thermobutton datalogger". Su importancia radica en que representa un valor que combina los efectos de la temperatura, la radiación y la velocidad del viento, expresando las ganancias o pérdidas de calor del ambiente (Hertig, 1972).

Con los datos diarios de T_{Md} y HR_d se calculó el Índice de Temperatura y Humedad ITH (Thom, 1958).

Mediciones en los animales. Mediciones fisiológicas

Frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria se midió a las 9, 12, 15, 18 y 21 horas, a 13 animales. La misma fue determinada en forma visual por el conteo de los movimientos respiratorios por minuto en la zona del flanco de los animales.

Consumo de agua

El consumo de agua se midió con caudalímetros colocados en cada uno de los bebederos presentes en las instalaciones del VMS, una vez por semana.

Temperatura corporal

La temperatura corporal fue registrada en forma horaria mediante dispositivos “thermobutton datalogger” colocados en un dispositivo intravaginal para la regulación del ciclo estral de vacas y vaquillonas, sin progesterona, a los mismos 13 animales a los cuales se les registraba la frecuencia respiratoria (Figura 2)



Figura 2: “Termobutton Datalogger”

Producción de leche y frecuencia de ordeño

La producción de leche de todos los animales fue medida y registrada diariamente a través del sistema Delpo DeLaval®.

Comportamiento animal

El comportamiento animal se observó y registró mediante la metodología de *Scan Sampling* (Martin, 1991) con una frecuencia de 15 minutos de intervalo, entre las 6 y 20 hs.

Las categorías o conductas observadas para comportamiento fueron:

- Comiendo: animal que tenía su cabeza en el interior del comedero, comiendo alimentos
- Bebiendo: animal que tenía introducido su morro en el interior del bebedero ingiriendo agua
- Descansando: animal que estaba en estado de reposo.
- Ordeñándose: animal que se encontraba dentro de la estación VMS.
- Caminando: animal que se encontraba con sus miembros en movimiento.
- Rumiano: animal que realizaba movimientos de re-masticación (desplazamiento del maxilar inferior) con la boca, pudiendo encontrarse parado o echado.
- Jadeando: aquel o aquellos animales que realizaban respiraciones rápidas y superficiales con la boca abierta y que tenían un patrón respiratorio descrito por la escala de jadeo de Gaughan et al, 2008.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediciones en el ambiente. Información meteorológica

El ITH promedio diario durante el período evaluado fue 76 con un máximo de 83. La mayor parte de los días presentaron condiciones estresantes para los animales con ITH superior a 68 (Gráfico1).

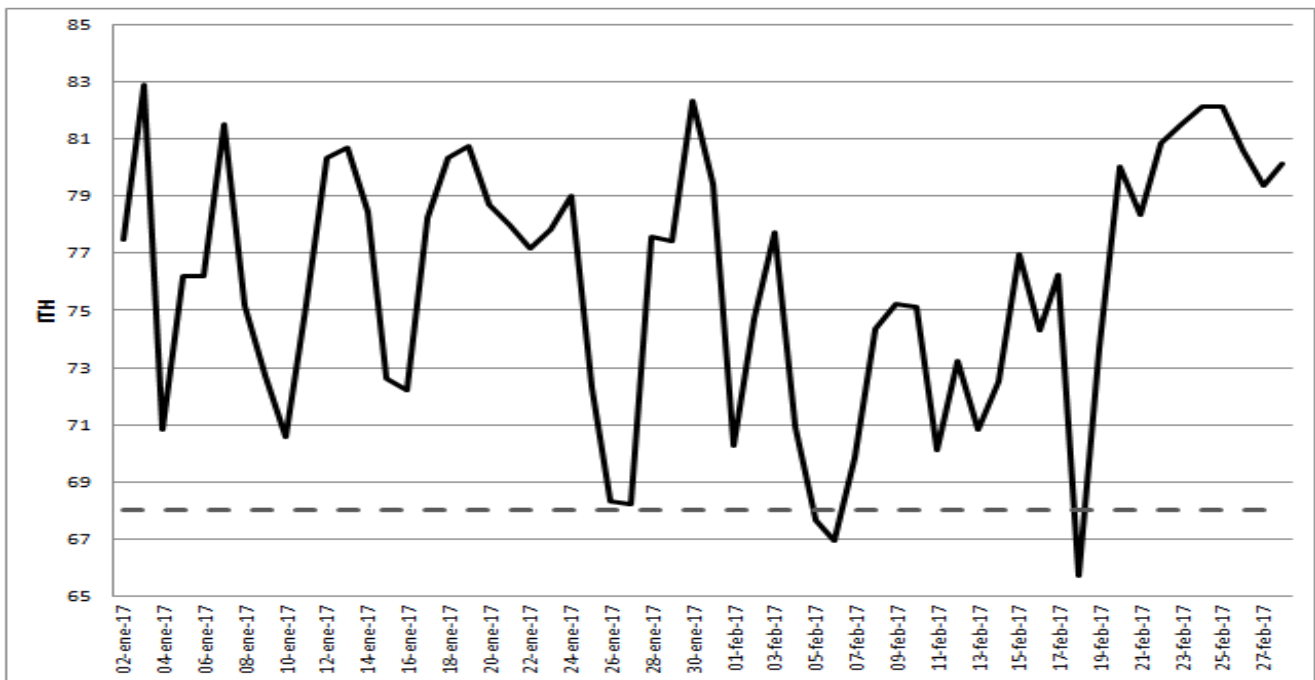


Gráfico 1: ITH medio diario. Período enero-febrero 2017. Umbral ITH(--): 68

Con respecto a la Temperatura de Globo Negro (TGN), el menor valor se registró en el VMS con el sistema de refrescado BSC. La diferencia entre el VMS y los demás sectores fue 15, 12 y 3°C para aire libre, media sombra y cooling comedero, respectivamente (Gráfico 2). Esta diferencia de 15°C explica el mejor confort que experimentan los animales con el refrescado o cooling.

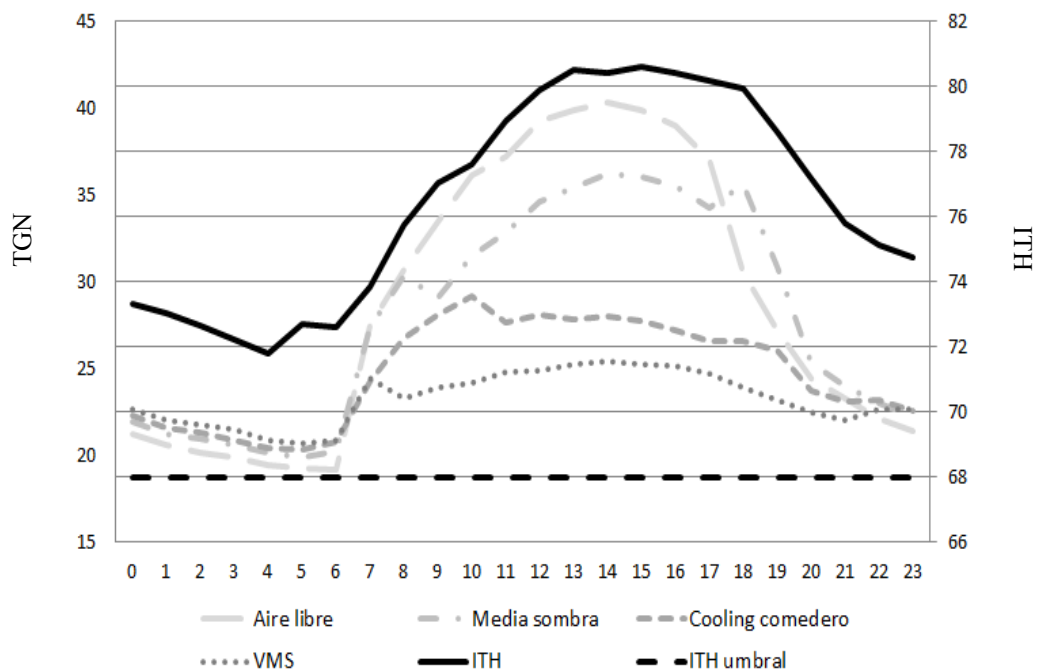


Gráfico 2: Temperatura promedio horaria Globo Negro (TGN) VMS, “Cooling” comedero, Media sombra y Aire libre (eje izquierdo). ITH promedio horario y umbral (eje derecho).

Mediciones en los animales. Mediciones fisiológicas

Frecuencia respiratoria

El aumento de la Frecuencia Respiratoria FR es uno de los mecanismos fisiológicos de control de la temperatura corporal del animal ante situaciones de estrés calórico. Mediante el mismo, el animal incrementa el dióxido de carbono (CO₂) exhalado, disminuye el ácido carbónico y aumenta el pH sanguíneo.

El incremento de la actividad respiratoria suele ser el primer síntoma visible de la respuesta al estrés térmico. A medida que aumenta la cantidad de aire respirado que puede ser calentado y saturado de humedad, mayor será la pérdida de calor.

El ritmo respiratorio aumenta al elevarse la temperatura del aire. En condiciones de termoneutralidad las vacas respiran unas 20 veces por minuto y el volumen del aire expirado es de 40 a 60 litros, variando con la raza y el tamaño corporal. Sin embargo, a 40°C pueden respirar 115 veces por minuto con un volumen expirado de 300 litros (Johnston et al., 1959). Esta diferencia representa, aproximadamente, la triplicación de la pérdida de calor. En Israel, Berman et al. (1985) observaron ritmos de 50 y 60 respiraciones por minuto (rpm), cuando la temperatura ambiente superaba los 25°C y en Argentina, Valtorta et al. (1996) registraron ritmos del orden de 80 rpm, con temperaturas de 30°C.

La frecuencia respiratoria elevada no indica que los animales mantengan con éxito su equilibrio térmico, más bien señala que poseen una carga excesiva de calor y que tratan de restablecer su equilibrio normal. Los jadeos respiratorios cortos y rápidos pueden ser útiles hasta que la vaca ponga en funcionamiento otros mecanismos de pérdidas de calor.

La pérdida de calor por evaporación tiene lugar en el tracto respiratorio y en la superficie de la piel. Es el mecanismo más eficiente para eliminar calor que posee el organismo, ya que se requieren 600 cal para evaporar un gramo de agua a 20°C.

La frecuencia respiratoria registrada se presenta en el gráfico 3. Estos valores indicaron un estado de confort en los animales, considerando la época del año y los niveles de producción de leche.

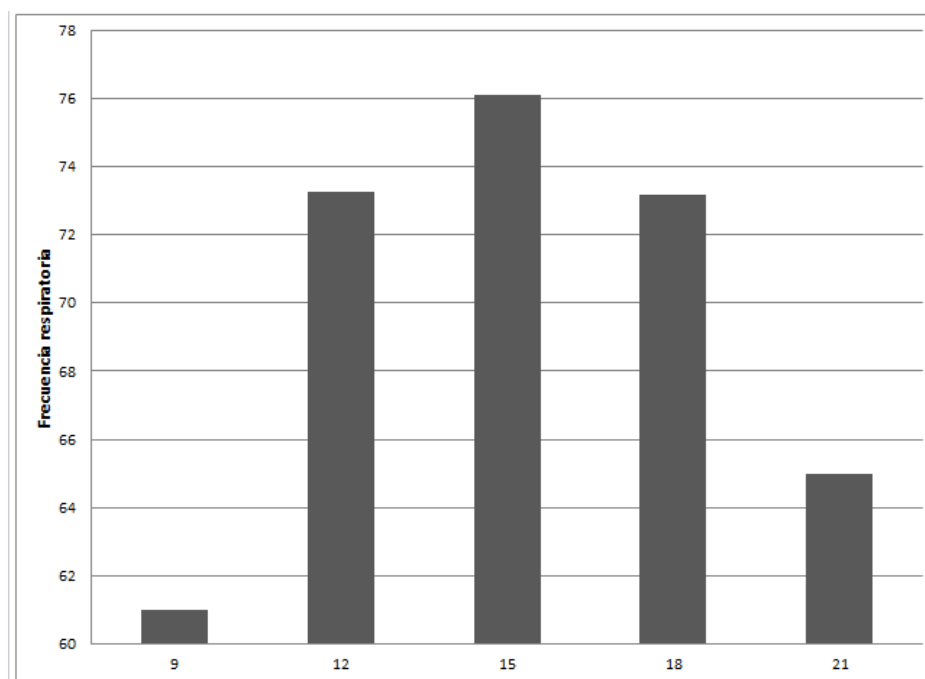


Gráfico 3: Frecuencia respiratoria (movimientos respiratorios por minuto) a las 9, 12, 15, 18 y 21 hs.

Consumo de agua

El agua es el nutriente más importante para cualquier organismo vivo. El agua es sumamente importante para la producción de leche, ya que la misma se reduce el mismo día en que el agua es deficiente o no está disponible en cantidad y calidad suficiente.

Considerando que el potencial genético de las vacas lecheras actuales para producción de leche supera en general los 6000 litros por lactancia, el aporte de agua en cuanto a cantidad y calidad es un aspecto muy importante no sólo desde punto de vista del bienestar de ellas, sino también desde el punto de vista productivo.

El consumo promedio de agua fue de 107,82 ltsVO⁻¹día⁻¹, con un máximo de 125,05 y un mínimo de 93.42 litros VO⁻¹día⁻¹, valores similares a lo publicado por Murphy, 1983.

Al analizar el consumo individual de agua entre las 9 y las 20:30 horas, se determinó que los litros promedio consumidos en cada toma correspondieron a 13,24 litros VO⁻¹ toma⁻¹. A su vez el promedio del tiempo que permanecieron bebiendo fue de 5 minutos VO⁻¹ toma⁻¹, con un máximo de 6 minutos y un mínimo de menos de un minuto.

Durante las mediciones realizadas en los distintos momentos del día se observó que el mayor consumo se presentó entre las 12 y las 15 horas (Gráfico 4).

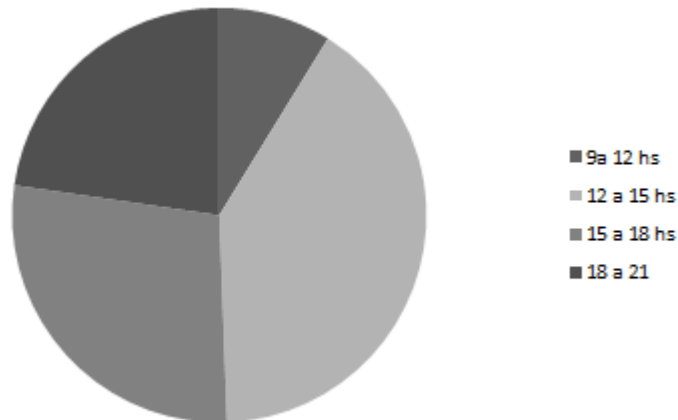


Gráfico 4: Consumo de agua en los intervalos de tiempo: 9:00 -12:00 hs; 12:00 -15:00hs; 15:00 - 18:00 y 18:00 - 21:00 hs.

Temperatura corporal

La temperatura vaginal de los animales presentó valores por debajo del umbral de estrés calórico para el ganado lechero que es 39 °C (Reneau et al., 2012) (Gráfico 5).

Esto coincide con lo informado por Flamenbaun (2010) donde vacas de alta producción manejadas con sistemas de refrigeración, son capaces de mantener su temperatura vaginal dentro de rangos de normalidad.

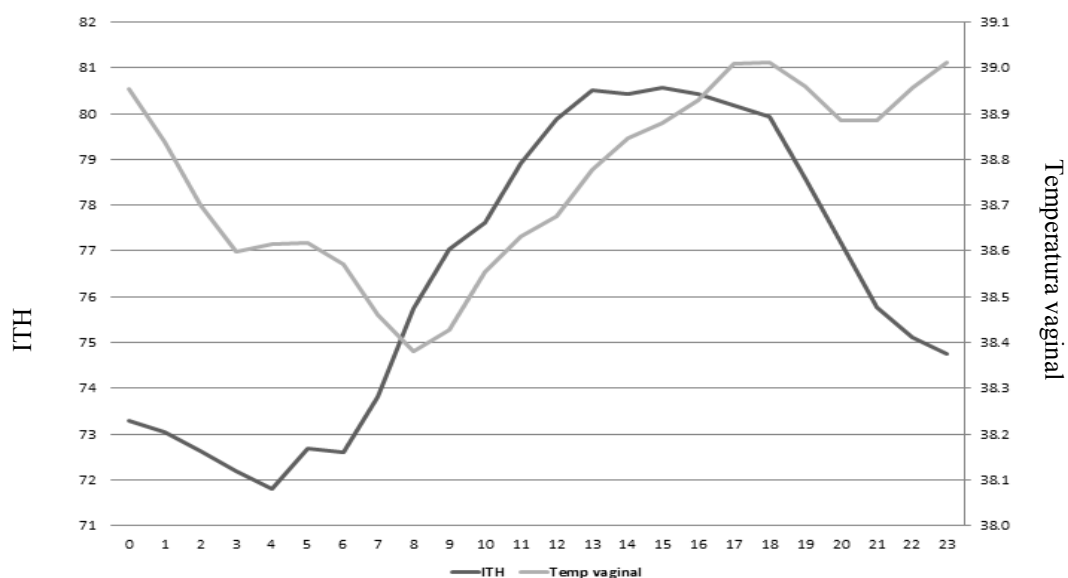


Gráfico 5: ITH horario (eje izquierdo) y temperatura vaginal °C (eje derecho). Período enero/febrero 2017.

El sistema de refrescado tanto en el VMS como en el sector de comedero mantuvo la temperatura corporal de los animales por debajo del umbral de 39°C en condiciones de elevados ITH.

Producción de leche y frecuencia de ordeño

La producción de leche promedio por animal en el período Enero-Febrero 2017 fue 29,4±2,0 litros VO⁻¹ día⁻¹, con un máximo de 34,4 y un mínimo de 23,8 litros VO⁻¹ día⁻¹ (Gráfico 6).

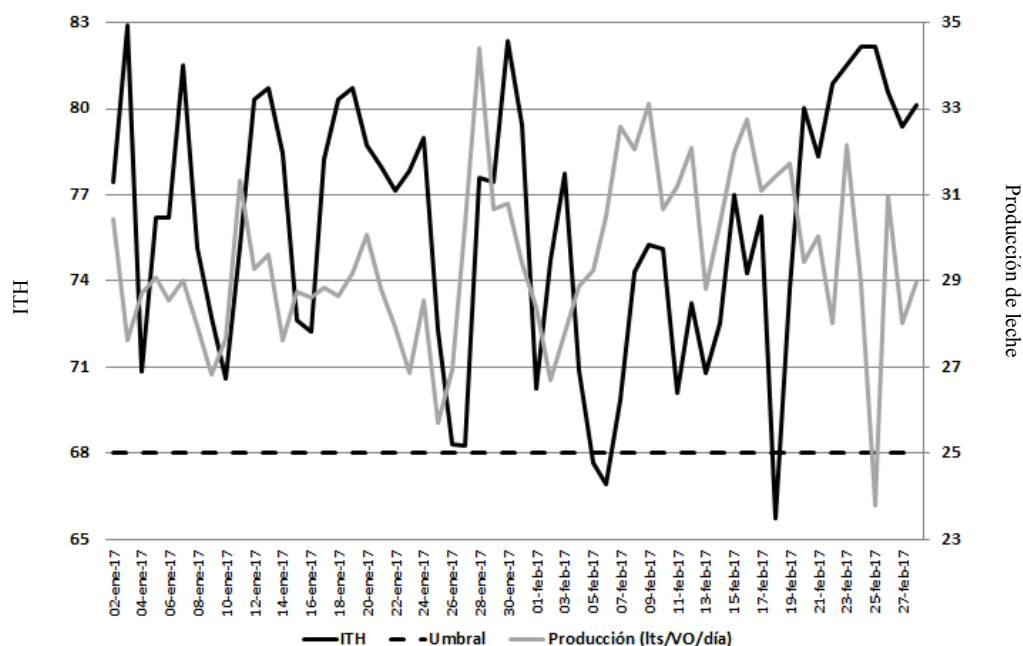


Gráfico 6: Producción de leche lts VO⁻¹ día⁻¹ (eje derecho), ITH promedio diario e ITH umbral (eje izquierdo), período Enero-Febrero 2017.

La correlación entre el ITH y la producción de leche fue de 0.1217 (Gráfico 7). Esta baja correlación es consecuencia de las modificaciones en el ambiente causadas por las estructuras de media sombra y el sistema de refrescado BSC colocado en el VMS y en el sector de comedero, los cuales mejoraron el bienestar animal. La correlación entre estas dos variables durante el verano en distintos sistemas de producción de leche sin modificaciones del ambiente es de 0,7 (Bernabucci, 2014) y 0,8 (Smith, 2003).

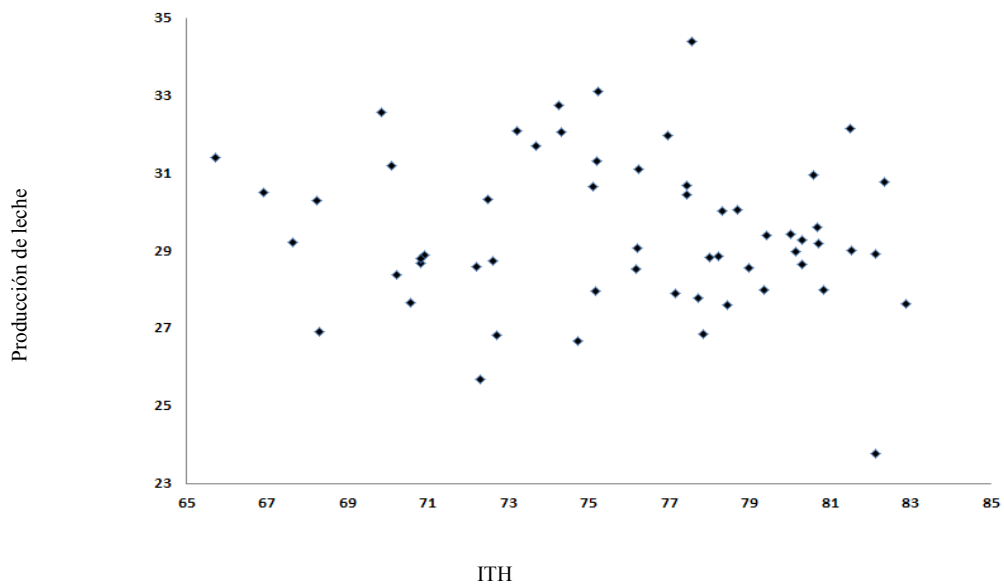


Gráfico 7: Correlación entre la producción de leche e ITH promedio diario. $R=0.1217$

Se pudo determinar que existe una tendencia positiva entre la frecuencia de ordeño y la producción ($R=0,458$) (Gráfico 8 y 9). La frecuencia de ordeño fue $2,46 \pm 0,15$ durante el período observado.

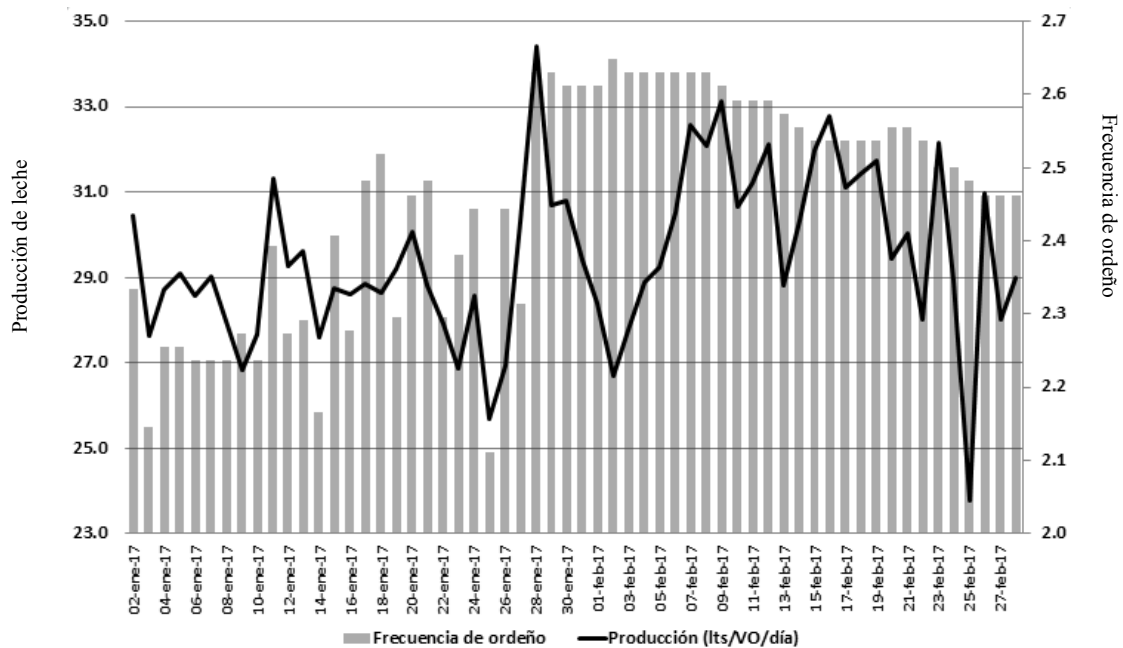


Gráfico 8: Frecuencia de ordeño y producción promedio diaria.

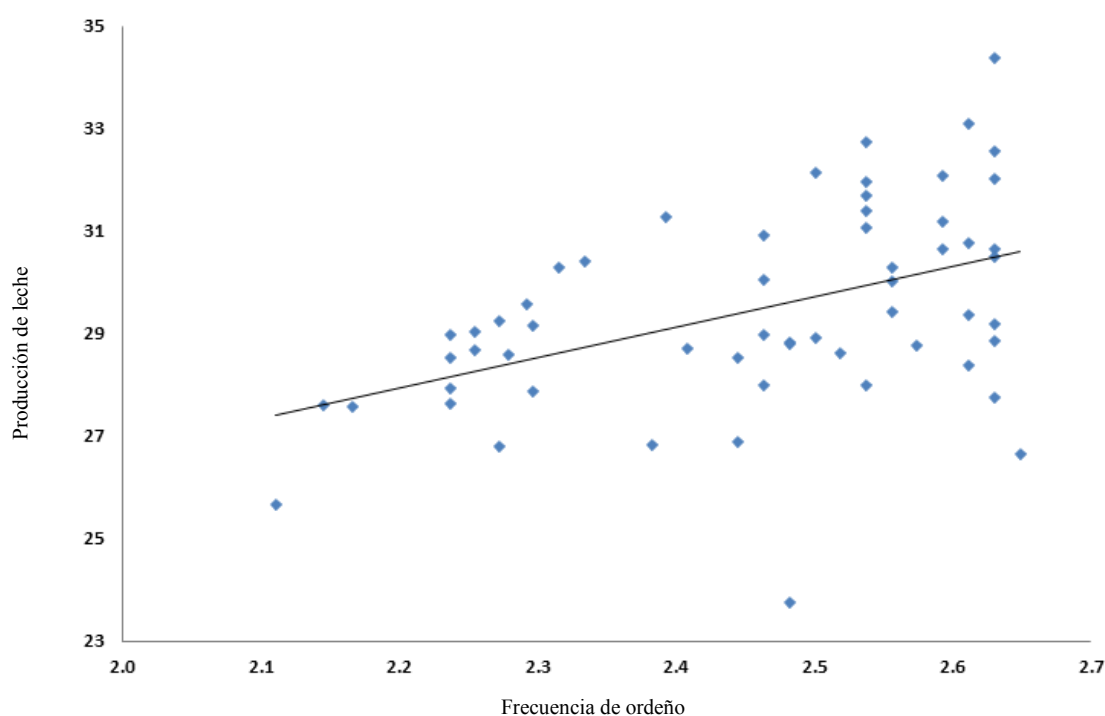


Gráfico 9: Correlación entre la producción de leche y la frecuencia de ordeño diaria.

Cabe destacar que las frecuencias de ordeño son superiores a los 1,8 ordeños por día informado por Lyons (2014), durante el período estival.

Comportamiento animal

La observación del comportamiento es una herramienta muy valiosa para ayudar a determinar el grado de estrés que sufren los animales en un ambiente dado. Davison et al. (1999) presentaron una lista de los cambios frente al estrés por calor, en orden creciente:

- Alineación del cuerpo con la dirección de la radiación
- Búsqueda de sombra
- Rechazo a echarse
- Reducción del consumo
- Amontonamiento alrededor de las aguadas
- Salpicado del cuerpo
- Agitación e intranquilidad
- Disminución o supresión de la rumia
- Búsqueda de sombra de otros animales
- Boca abierta y respiración trabajosa
- Salivación excesiva
- Inhabilidad para moverse
- Colapso, convulsiones, coma, fallo fisiológico y muerte

Es importante tener en cuenta estos signos, dado que los animales tienen también diferentes prioridades en ambientes adversos que, ordenadas en forma decreciente, son:

- Equilibrio de los fluidos corporales

- Normalidad de la temperatura corporal
- Crecimiento
- Producción de leche
- Reproducción

Se observó que los animales pasaron un 42% del tiempo (5,88 h) comiendo y refrescándose en el sector de comedero, un 33% (4,62 h) descansando y un 19% (2,8 h) rumiando (Gráfico 10). Es importante remarcar que no jadearon durante el día, demostrando el grado de confort con el sistema de refrescado.

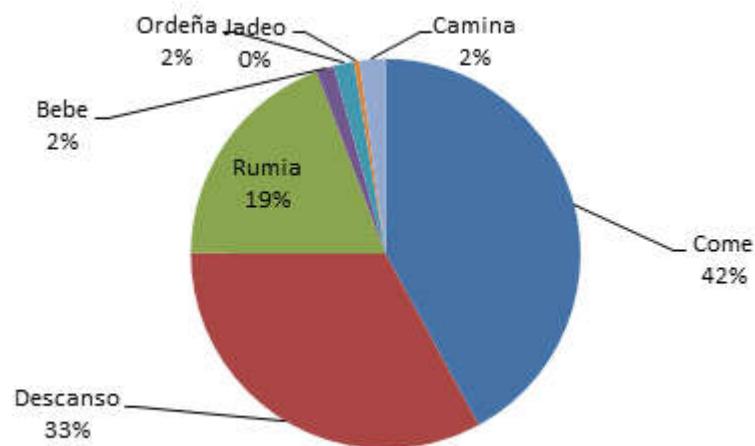


Gráfico 10: Comportamiento animal de vacas en VMS durante el verano entre las 6 y 20 hs.

También se registró el número de animales presentes en el sistema de refrescado BCS en el comedero a las 9, 12, 15, 18 y 21 horas (Gráfico 11). Se observó el mayor número de animales entre las 12 y 15 horas, como consecuencia de los altos niveles de ITH. Cabe remarcar que, al ser un sistema libre o voluntario, las vacas decidían cuando refrescarse. Las vacas dominantes en reiteradas ocasiones expulsaban al resto de los animales de este sector.

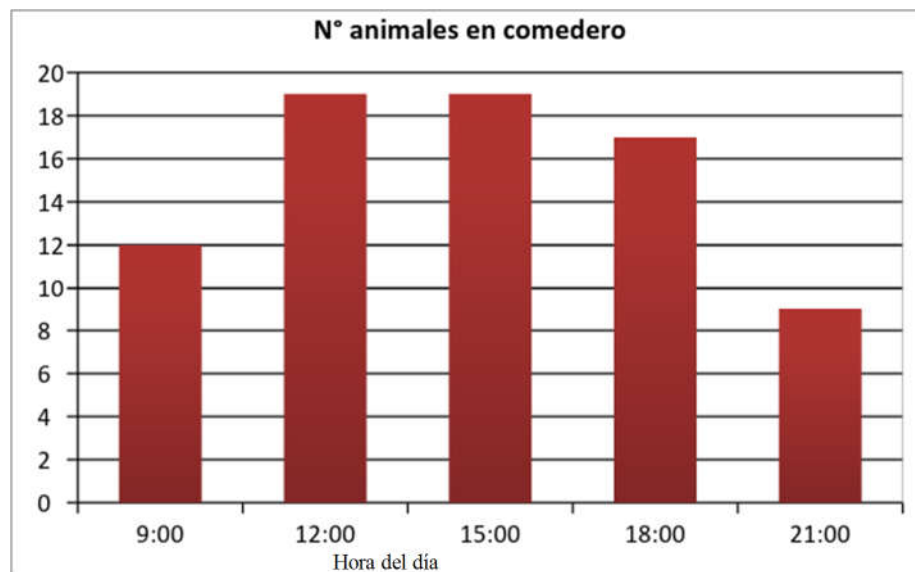


Gráfico 11: Número de animales presentes en el sistema de refrescado BCS en el comedero a las 9, 12, 15, 18 y 21 horas.

CONCLUSIÓN

La implementación del refrescado/cooling en sistemas de ordeño voluntario VMS, permite mantener condiciones de normotermia en vacas lecheras durante la época estival, manteniendo altos niveles productivos y mejorando el confort animal.

BIBLIOGRAFIA

- Berbigier, P. 1988. Bioclimatologie des ruminants domestiques en zone tropicale. Paris. INRA. 237 p.
- Berman A, Folman YM, Kaim M, Mamen, Z, Herz D, Wolfenson A, Graber Y. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a tropical climate. *J. Dairy Sci.* 68: 488–495.
- Bernabucci, U., Biffani, S., Buggiotti, L., Vitali, A., Lacetera, N., Nardone, A., 2014. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97 :471–486. American Dairy Science Association. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6611>.
- Cook, N. B., R. L. Mentink, T. B. Bennett, and K. Burgi. 2007. The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:1674-1682.
- Davison T, McGowan M, Mayer D, Young B, Jonsson N, Hall A, Matschoss A, Goodwin P, Drackley JK. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier. *J. Dairy Sci.* 82: 2259-2273.
- Gaughan, J., T. L. Mader, S. Holt, and A. Lisle. 2008. A new heat load index for feedlot cattle. *Faculty Papers and Publications in Animal Science.* Paper 613. <http://digitalcommons.unl.edu/animals.scifacpub/613>.
- Hahn GL. 1981. Housing and management to reduce climatic impacts on livestock. *J. Anim. Sci.* 52: 175-186.
- Hertig, B., 1972. Medición del medio ambiente físico. *Principios de la Adaptación Animal.* Hafez, E. ed. México:438-456.

- Johnston JE, McDowell RE, Shrode RR, Legates JE. 1959. Summer climate and its effect on dairy cattle in the Southern region. En: Southern Cooperative Series Bulletin No. 63.
- Lyons, N.A., Kerrisk, K.L., Garcia S.C., 2014. Milking frequency management in pasture-based automatic milking systems: A review. Dairy Science Group, Faculty of Veterinary Science, The University of Sydney, Camden, 2570 NSW, Australia. *Livestock Science* 159 (2014) 102–116.
- Martin, P.; Bateson, P., 1991. La medición del comportamiento. Alianza Universidad. Versión española de Fernando Colmenares, 1° edición. Ed. Alianza. Madrid - España. Pp:215.
- Murphy, M. R., Davis, C.L., McCoy, G. C., 1983. Factors Affecting Water Consumption by Holstein Cows in Early Lactation. *Journal of Dairy Science*. Volume 66, Issue 1, January 1983, Pages 35–38.
- NRC (National Research Council), 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. National Academy of Science Press, Washington, DC.
- Reneau J. 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/>. Published July 28, 2012. Accessed February 25, 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*.
- Smith JF, Brouk MJ, Harner JP. Heat abatement strategies for optimal dairy cattle performance. In: *Proceedings of the Four-State Dairy Nutrition and Management Conference*; 2003: 99-108.
- Taverna, M., Ghiano, J., Walter, E., Gastaldi, L., Solis, F., Pairola, M., 2014. Estrés calórico. Enfriamiento de vacas mediante la combinación de mojado y ventilación forzada. Web page: <http://inta.gob.ar/documentos/estres-calorico.-enfriamiento-de-vacas-mediante-la-combinacion-de-mojado-y-ventilacion-forzada/>
- Thatcher, W. W. 1974. Effects of season, climate, and temperature on reproduction and lactation. *J. Dairy Sci.* 57:360-368.
- Thom, E.C. 1958. The discomfort index. *Weatherwise* 12: 57-59.
- Tucker, C. B., A. R. Rogers, and K. E. Shutz. 2007. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109:141-154.
- Valtorta SE, Gallardo MR, Castro HC, Castelli M. 1996. Artificial shade and supplementation effects on grazing dairy cows in Argentina. *Trans. ASAE.* 39: 233-236.

FORRAJES

OBTENCIÓN DE UN NUEVO MATERIAL TOLERANTE A LA SALINIDAD EN *PANICUM COLORATUM* VAR. *MAKARIKARIENSE*

CARDAMONE, L^{1,2}.; TOMAS, M. A.^{2*}

¹ CONICET ² INTA EEA RAFAELA

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

INTRODUCCION

En la provincia de Santa Fe hay más de 2.000.000 ha. de su superficie que presentan problemas de sodicidad y alcalinidad, a veces entremezcladas entre parches de suelos agrícolas. Actualmente, son muy pocas las posibilidades de cultivar estas tierras y mayormente se caracterizan por ser pastizales degradados de muy poca productividad que dificultan una producción ganadera sustentable. Una alternativa para incrementar la oferta forrajera en este tipo de situaciones es la introducción de especies de gramíneas con tipo de fotosíntesis C4 que son rústicas y resultan más tolerantes a las altas temperaturas. *Panicum coloratum* es una especie megatérmica perenne (Tischler y Ocumpaugh, 2004) que produce forraje de buena calidad y en buena cantidad. La variedad más difundida de la especie es la *coloratum*, siendo su cultivar más conocido el Klein. Sin embargo, existe otra variedad de la especie, la var. *makarikariense* que se caracteriza por ser tolerante a salinidad (Taleisnik et al. 1999) y a inundaciones frecuentes (Petruzi et al. 2003) ya que se originó en la planicie de inundación del lago Makarikari en África. Esta variedad ha sido profundamente estudiada por nuestro grupo de trabajo en la EEA Rafaela donde se cuenta con una colección de la especie que reúne el germoplasma disponible en el país (Armando et al. 2013) Una minuciosa caracterización de las poblaciones de la colección permitió asegurar que se cuenta con una amplia variación en caracteres morfofisiológicos que además fue corroborada por marcadores moleculares (Armando et al. 2015). Por tratarse de una especie cuyo modo reproductivo predominante es la alogamia, es decir que las flores se abren y el polen se intercambia entre individuos (Armando et al. enviado), el método más recomendable de mejoramiento genético es el de la selección fenotípica recurrente, en el que se logran sintéticas con una amplia base genética para evitar la depresión por endogamia. De hecho, en nuestro grupo de trabajo, fue utilizado el método de selección recurrente fenotípica y se obtuvo un material con incrementado peso de semilla en la EEA Rafaela. Esta diferencia en peso de semilla le confiere un embrión más vigoroso que aumenta su capacidad de implantación (Giordano et al. 2013). Este material ya fue inscripto en el registro nacional de cultivares bajo el N° 3721 (Expediente N° 0052552/14), fue transferido a Agroempresa Semillas S. A. (convenio número=21132) y se encuentra en proceso de multiplicación.

MEJORAMIENTO GENETICO PARA INCREMENTAR LA TOLERANCIA A LA SALINIDAD

Para iniciar un programa de mejoramiento genético por selección recurrente es necesario primero conocer la variabilidad genética con que se cuenta en el germoplasma base en la característica a mejorar. Es por eso que el primer paso es evaluar la característica de interés en todas las plantas de la colección o en una muestra de la misma. En este proyecto se realizó un *screening* de la tolerancia

a la salinidad de plantas de la colección, encontrándose variabilidad suficiente como para efectuar la selección. Para esto se realizó un ensayo en hidroponía en el invernáculo en el que se pusieron a crecer plántulas en una solución nutritiva en dos tratamientos: control (sin el agregado de sal) y salino (con el agregado de 200 mM de cloruro de sodio, figura 1).

Figura 1: Vista general del ensayo de hidroponía en el invernadero. En cada bandeja se pusieron a crecer 10 plántulas por familia en solución nutritiva. Las que correspondieron al tratamiento salino tuvieron el agregado de cloruro de sodio hasta alcanzar una concentración de 200 mM. Todas las macetas estuvieron aireadas durante todo el ensayo.



Durante el ensayo se tomaron muestras de hojas en las que se midieron parámetros fisiológicos como acumulación de sodio en las hojas y otras medidas bioquímicas y al final del mismo se pesaron las plantas separando sus componentes en raíz y parte aérea (hojas y tallo) y se midió la altura, el número de hojas y de macollos. Estas mediciones permitieron visualizar diferencias entre individuos tolerantes y susceptibles a la salinidad. La tolerancia a la salinidad puede verse a través del crecimiento de la plántula en condición salina. Otra forma de expresarla es como la magnitud del daño relativo en producción de biomasa de una planta creciendo en ambiente salino frente a una que lo hace en un control no salino (Griffa et al. 2010). La tolerancia a la salinidad en este caso se estimó a través de: variables morfológicas que indican mayor crecimiento en condiciones salinas y mediante el cálculo del daño (Gráfico 2), como la diferencia de crecimiento entre el control y la reducción del mismo a causa del tratamiento salino relativo al peso en el tratamiento control.

$$\text{Daño} = \frac{(\text{peso seco control} - \text{peso seco salino})}{\text{peso seco control}}$$

Los resultados mostraron amplia variabilidad entre las familias de plantas analizadas lo que puede visualizarse en el Gráfico 1. Si bien se encontró variación entre las familias creciendo en control y en salinidad, no fueron las mismas familias las más productivas en ambas condiciones por lo que resulta muy ilustrativo el cálculo del daño. Sin embargo, es fundamental tener en cuenta los individuos que demuestran mayor biomasa en condición salina dado que el objetivo es obtener plantas

con buena producción en esa condición y no solo individuos que, aunque expresen poco daño tengan poca producción.

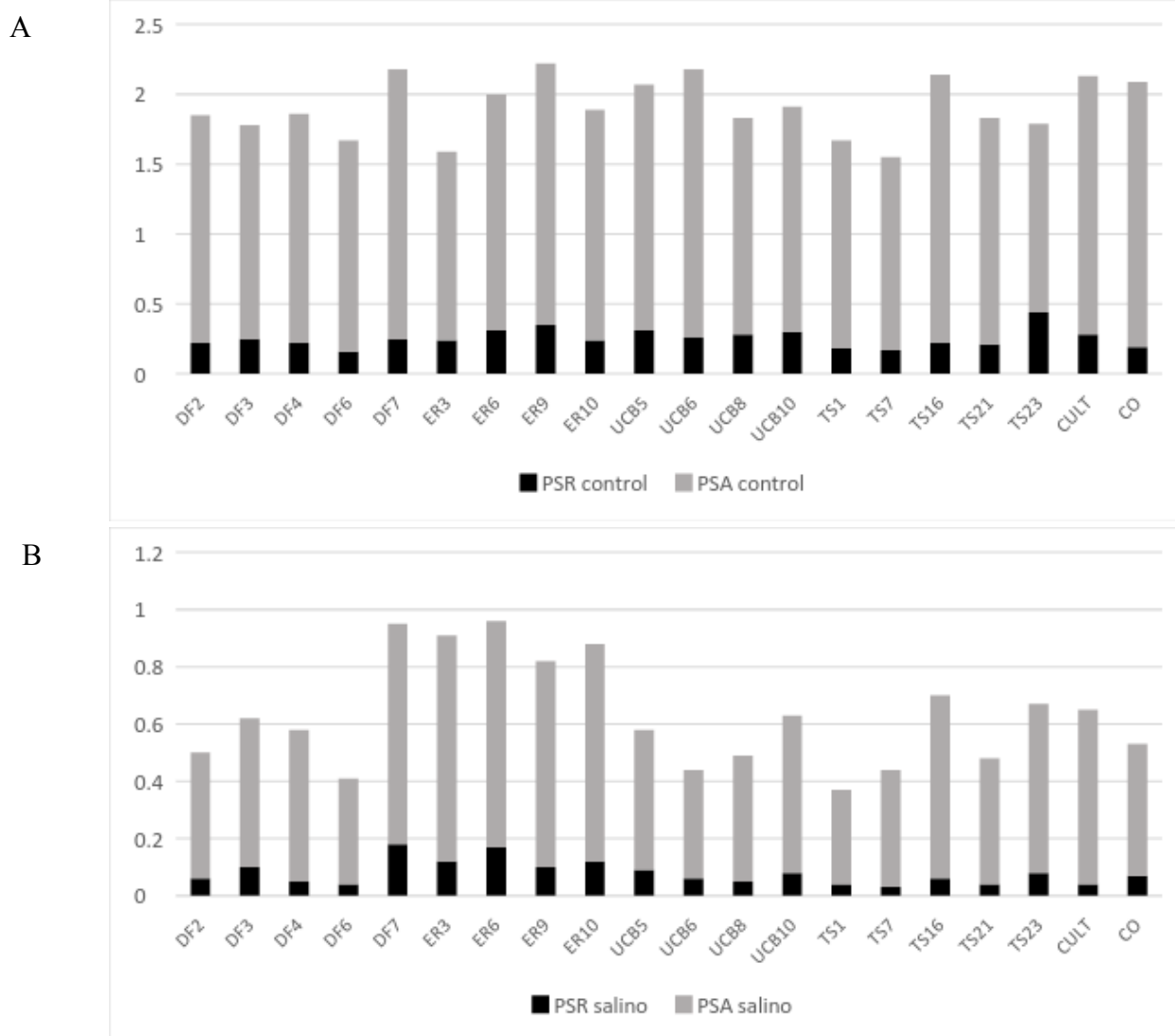


Gráfico 1. Variabilidad en la producción en gramos de biomasa de raíz (PSR) y aérea (PSA) (hojas y tallos) en plántulas creciendo en A: condición control (solución nutritiva sin el agregado de sal) y B: salino (solución nutritiva con el agregado de NaCl 200 mM). Para A y B. PSR: Peso seco Raíz, PSA, Peso seco aéreo. Eje X. Denominación de los individuos analizados. Eje Y: Gramos

En el gráfico 2 se muestran como flechas las variables pesos secos (PSA y PSR) y sus respectivos daños (DPSA: daño de peso seco aéreo y DPSR: daño de peso seco raíz). En el cuadrante izquierdo se encuentran las familias más afectadas, ya que presentan los menores pesos en condiciones salinas, mientras que hacia la derecha del gráfico están representadas las familias más tolerantes, es decir, las de mayor peso en esa condición. Esto coincide con el hecho de que las familias a la derecha (en el círculo) son además las que presentan menos daño, mientras que las que están a la izquierda son las más afectadas y las que mayor daño sufrieron.

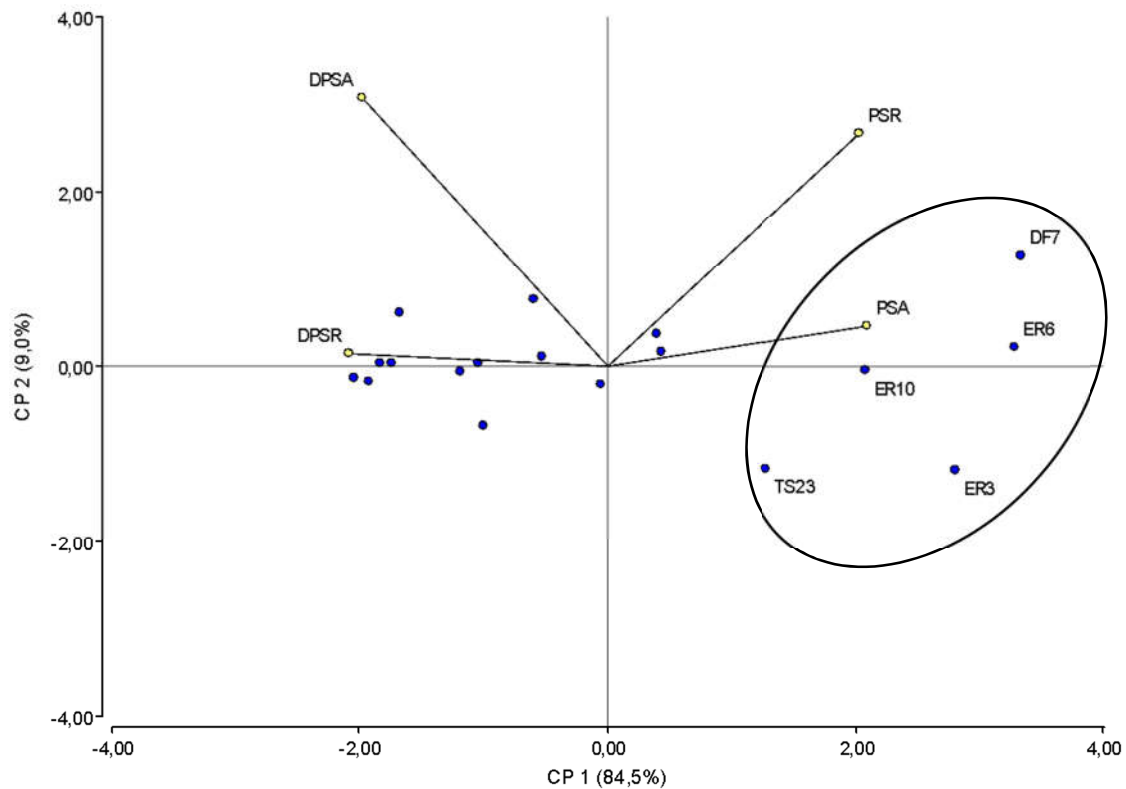


Gráfico 2: Gráfico de componentes principales (CP) mostrando las variables involucradas PSR, PSA, DPSA y DPSR (peso seco raíz, peso seco aéreo, daño peso seco aéreo, daño peso seco raíz, ver texto para explicaciones). En el círculo se enmarcan las familias que mostraron mayor peso en salinidad y menor daño.

En todo programa de mejoramiento, conocer los parámetros genéticos de caracteres asociados a la característica de interés posibilita determinar la factibilidad de avanzar a través del cálculo del progreso genético que se lograría de efectuar el proceso de selección (Falconer, 1987; Maijidi et al. 2009; Fogaça et al., 2012). Además, basado en estas estimaciones, es posible predecir el valor de la media mejorada en la próxima generación de efectuarse la selección prevista. En este trabajo fue posible estimar la heredabilidad (h^2) de los caracteres relacionados a la tolerancia. La heredabilidad es una medida de la varianza genética disponible en la colección, que puede ser utilizada para realizar mejoramiento, es la relación entre la varianza genética aditiva y la varianza genética total. Por tratarse de una relación de varianzas en la que se involucra la varianza fenotípica total, puede cambiar según el ambiente considerado, por lo que su estimación debería realizarse para las diferentes condiciones por separado. Así es que, por un lado, se determinó la heredabilidad de los caracteres de producción de biomasa en las condiciones salinas y por otra parte, se estimó la heredabilidad de los daños, como caracteres representativos de la tolerancia a la salinidad en la especie. Finalmente, se estimó el posible

éxito por progreso genético que se obtendría de realizar selección con un 33 % de intensidad y se obtuvo una estimación de la media que tendría la población mejorada de la siguiente generación. En la tabla 1 se muestran algunos parámetros genéticos y los progresos esperados en algunas de las variables medidas.

Tabla 1: Parámetros genéticos de caracteres de tolerancia a la salinidad en *Panicum coloratum* var. *makarikariense*. Peso seco de: parte aérea (PSA), raíz (PSR), y total (PST) y sus respectivos daños. Se muestran los valores de heredabilidad (h^2), % de incremento de realizar una selección del 15 % de intensidad y el valor que se podría obtener por plántula de realizarse la selección.

Variables	Promedio por plántula	h^2	% incremento	Media mejorada
PSA	0,56 g	0,42	28,27 %	0,72 g
PSR	0,08 g	1,01	125,66 %	0,18 g
PST	0,64 g	1,12	83,67 %	1,18 g
Daño PSA	0,63	0,65	-24,70 %	0,47
Daño PSR	0,65	0,86	-39,64 %	0,39
Daño PST	0,63	0,69	-28,34 %	0,45

Los resultados promisorios de estos análisis promovieron la realización de una policruza entre los elementos más destacados a fin de comenzar el proceso de selección. La cruza se diseñó con 6 genotipos que resultaron seleccionados por su tolerancia a la salinidad y su producción en condiciones salinas. A partir de la cruza se obtuvo un material seleccionado que fue probado en el invernadero en condiciones de hidroponía comparándolo además no sólo con el germoplasma base sino también con los cultivares comerciales disponibles: cv. Bambatsi, que es el más reconocido y el nuevo cultivar Kapivera INTA antes mencionado.

Efectivamente, aplicando una intensidad de selección del 33% se logró un avance genético de 50% en promedio, por lo que es de esperar que, después de un proceso de selección, el nuevo material muestre mayor biomasa cuando crece en salinidad que la que mostrarían sus progenitores. El material mejorado produjo mayor biomasa en salinidad que los materiales comerciales Kapivera INTA y Bambatsi. Cabe destacar que, la mejora en la tolerancia a la salinidad por su menor reducción de biomasa total creciendo en condición salina no significó un detrimento en el crecimiento en la condición control.

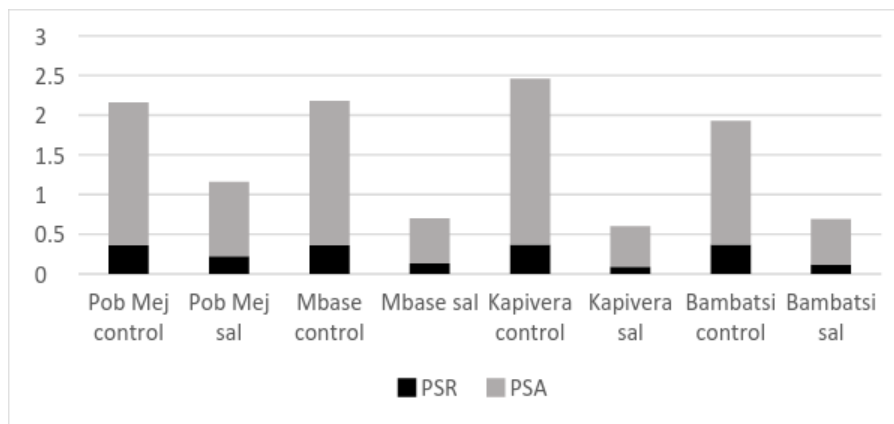


Figura 2: peso promedio en gramos por plántula creciendo en hidropónia de una población mejorada, el material base, Kapivera INTA y Bambatsi en condición control (sin el agregado de sal y en condición salina 200 mM).

Sin embargo, dado que el material fue obtenido en hidropónia, es necesario corroborar que efectivamente, el germoplasma es tolerante en las condiciones nativas del suelo. La condición de halo e hidromorfismo hace que la implantación de las pasturas sea lenta y difícil, la superficie queda expuesta provocando altas temperaturas, pérdida de agua y ascenso de sales. Lograr una buena cobertura y actividad radicular disminuyen la concentración de sales en la rizósfera, impiden la pérdida de agua y aumenta la estabilidad estructural disminuyendo la susceptibilidad al sellado superficial mejorando la infiltración.

CONCLUSION Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Se corroboró que existe entre las plantas de la colección de la EEA Rafaela de *P. coloratum* var. *makarikariense*, variabilidad genética como para realizar un programa de mejoramiento genético para aumentar la tolerancia a la salinidad. A su vez, las determinaciones de los parámetros genéticos permitieron estimar que se obtendría un progreso genético considerable por lo que resulta promisorio avanzar en el programa. Es por eso que se realizó un ciclo de selección recurrente a fin de obtener un material con menor daño en condiciones salinas a la vez que no se redujo su producción en condiciones neutras. A su vez, el material obtenido por selección presenta mayor tolerancia a la salinidad que el material base del cual proviene y que los materiales comerciales Bambatsi y Kapivera INTA.

Nuestro equipo de trabajo continuará trabajando en el mejoramiento genético con miras de obtener un material con mayor tolerancia a la salinidad. Este material obtenido y probado en hidropónia será comparado con los materiales comerciales en condiciones de campo a fin de determinar efectivamente su mayor tolerancia a las condiciones adversas de los suelos con problemas de salinidad.

BIBLIOGRAFIA

- 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. <http://doi.org/10.1111/aab.12234>
- 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, 1737–1747. <http://doi.org/10.1007/s10722-013-9982-3>
- Falconer DS (1987) Introducción a genética cuantitativa. UFV Impr Univ, Vic,osa, p 279
- Fogaça, L. A., Oliveira, R. A., Cuquel, F. L., Filho, J. C. B., Vendrame, W. A. y Tombolato, A. F. C. (2012). Heritability and genetic correlation in daylily selection. *Euphytica*, 184(3), 301–310. <http://doi.org/10.1007/s10681-011-0478-y>
- Giordano, M. C., Berone, G. D. y Tomás, M. A. (2013). Selection by seed weight improves traits related to seedling establishment in *Panicum coloratum* L. var. *makarikariense*. *Plant Breeding*, 132(870 mm), 620–624. <http://doi.org/10.1111/pbr.12106>
- Griffa, S., Ribotta, A., López Colomba, E., Tommasino, E., Carloni, E., Luna, C. y Grunberg, K. (2010). Evaluation seedling biomass and its components as selection criteria for improving salt tolerance in Buffel grass genotypes. *Grass and Forage Science*, 65, 358–361. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00754.x>
- Majidi M.M., Mirlohi A. y Amini F. (2009) Genetic variation heritability and correlation of agro-morphological traits in tall fescue (*Festuca arundinaceae* Schreb.). *Euphytica* 167:323–331.
- Petruzzi HJ, Stritzler NP, Adema EO, Ferri CM, Pagella JH (2003) Mijo perenne- *Panicum coloratum*. Informe Técnico N_51 EEA INTA Anguil, La Pampa, Argentina, p 28
- Taleisnik, E., Pérez, H., Córdoba, A., Moreno, H., García Seffino, L., Arias, C., Zenoff, A. (1999). Salinity effects on the early development stages of *Panicum coloratum*: Cultivar differences. *Grass and Forage Science*, 53(1994), 270–278. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2494.1998.00139.x>
- Tischler, C. R. y Ocumpaugh, W. R. (2004). Kleingrass, Blue Panic, and Vine Mesquite, (45), 623–649.

COMPARACIÓN DEL MAÍZ GRANÍFERO EN RELACIÓN AL HÍBRIDO BMR PARA ENSILAJE

ROMERO L.^{1*}; CUATRIN, A.L.¹; GAGGIOTTI, M.¹; FENOGLIO, F.²

¹INTA EEA Rafaela. Área de Investigaciones en Producción Animal

²Tesista de grado, Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad de Villa María

* Autor de contacto: romero.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

El ensilado de maíz (*Zea mays L.*) es uno de los forrajes conservados más importantes en el mundo (Romero, 2012). El producto obtenido constituye una herramienta fundamental para mantener y/o aumentar la producción, y esta alternativa es casi indispensable hoy en día (La Ragione Senin, 2008). Su popularidad se debe a la gran rentabilidad de un cultivo de alta energía, muy digerible, ya que el maíz para ensilaje encaja perfectamente en la siembra directa y programas de doble cultivo (Bates, 2002).

El maíz presenta ventajas sobre otros cultivos debido a sus altos rendimientos de materia seca (MS) por hectárea con buen valor energético, alta palatabilidad, rápida cosecha, bajos niveles de pérdida a campo durante su ensilado y bajos costos de almacenamiento (Romero, 2012).

Cuando el grano representa el 40-50% de la MS total, se considera un forraje de alta energía para la confección de silaje (Bragachini *et al.*, 2008). La porción grano es la que contiene más energía digestible, seguida por las hojas, chalas, marlo y tallos (Romero, 2012). La espiga es el componente de la planta de mayor valor nutritivo debido a que el grano, constituido fundamentalmente por almidón, es altamente utilizado para los rumiantes (Di Marco y Aello, 2008). Es muy importante tener en cuenta la relación entre el contenido de granos y la calidad del resto de la planta (Romero, 2012). La importancia nutritiva de la planta se puede describir en base a cuanto sustrato degradable en el rumen aportan sus componentes (Di Marco y Aello, 2008). Romero (2012) ha encontrado variaciones en la calidad del resto de la planta (tallo, hoja, marlo y chala), donde el conocimiento de esta variación es de gran importancia en la calidad final del ensilaje.

La pared celular vegetal, es una matriz compleja constituida de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectinas) y lignina. La celulosa y hemicelulosa de los forrajes son totalmente digeribles por parte de los microorganismos del rumen, pero la lignina es casi indigerible e inhibe la digestión de otros constituyentes orgánicos (Torrecillas, 2004). La lignina es el componente de la pared celular indicada como el principal factor limitante de la degradación ruminal de la fracción fibrosa (Van Soest *et al.*, 1994).

Una baja calidad de la planta o una caída brusca de la digestibilidad (debido a una gran lignificación del tallo), puede enmascarar el efecto favorable que produce la acumulación de grano en la espiga (Romero, 2012).

Una pauta de manejo que influye sobre la calidad y cantidad de cultivo que va a ser cosechado es la selección del híbrido, la cual va a influenciar en el rendimiento del material cosechado, contenido de grano al momento de la cosecha y la digestibilidad o contenido de fibra detergente ácida (FDA), celulosa y lignina del silaje (Bragachini *et al.*, 2008). En la mayor parte de los casos la elección del híbrido a utilizar para ensilaje se debe hacer tanto por el rendimiento de espiga como por la cantidad

y calidad del forraje producido por el resto del vegetal (Bertoia, 2007). La mayor proporción de MS aportada por los granos es siempre deseable por el aporte de almidón (energía), aunque se debe correlacionar con la digestibilidad de toda la planta (Fernandez Mayer, 2008). Actualmente, los híbridos BMR (*Brown Mid Rib*), son una excelente alternativa cuando se habla de selección de materiales para ensilaje (Bertoia, 2007).

El rasgo BMR (nervadura central marrón) fue inicialmente observado en maíz en 1924, y desde entonces, ha sido introducido en sorgo (*Sorghum spp.*), pasto sudan (*Sorghum drummondii*) y mijo (*Panicum miliaceum*) (Cherney y Cherney, 1991). Se descubrió en el estado de Minnesota (EE.UU.) y ocurrió como una mutación natural que resulta en una formación incompleta de la lignina (Genero y Cangiano, 2013). El nombre *Brown Mid Rib* es debido a la coloración marrón de la nervadura central en la parte inferior de la hoja (Eastridge *et al.*, 1999). Las plantas de maíz de nervadura marrón, presentan esta pigmentación no solo en las hojas, sino también en la corteza y la médula; la coloración finalmente desaparece en las hojas pero permanece en el tallo (Launer y Coors, 1994).

Inicialmente, los maíces BMR presentaban bajos rendimientos de forraje y grano, problemas de vuelco y menos resistencia a la sequía. Actualmente, los nuevos cultivares logran rendimientos similares o levemente inferiores que los maíces convencionales de igual madurez, pero con una calidad forrajera superior (Lus, 2014).

La composición nutricional del ensilaje de maíz BMR es muy semejante a los híbridos convencionales (Kung, 2011). La principal diferencia radica en el contenido de lignina, la cual se encuentra reducida entre un 40-50 % en los materiales Brown Mid Rib (Torrecillas, 2004). La menor concentración de lignina aumenta la digestibilidad del forraje, lo que resulta en un forraje con mayor concentración de energía (Eastridge *et al.*, 1999). Los aumentos en la digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN), celulosa y hemicelulosa, conducen a un aumento en la ingesta de MS, trayendo consigo mayor producción de leche, mayor contenido de proteína de la leche, y mejor condición corporal animal (Darby *et al.*, 2012).

Stone *et al.* (2012) mostraron que vacas alimentadas con silaje de maíz BMR, produjeron 2,29 Kg más de leche por día durante las primeras 15 semanas de lactancia, siendo las mayores respuestas en animales de alta producción.

La pared celular es un componente del vegetal que condiciona fuertemente la calidad nutricional del mismo. Está constituida esencialmente por una estructura fibrilar celulósica ligada a una matriz de compuestos fenólicos (ligninas, ácidos hidroxicinámicos) y a hemicelulosa (Di Marco y Aello, 2008). El tenor de lignina es el principal factor limitante de la degradabilidad de la pared celular conjuntamente con otros factores que influyen en la digestibilidad de la misma, tales como la composición química de la lignina, la naturaleza de la ligazón entre los alcoholes cinámicos constitutivos, el tipo de ácidos cinámicos que están ligados a la lignina, y la frecuencia de los puentes entre el ácido ferulico y la lignina por un lado y la hemicelulosa por otro (Argillier *et al.*, 1996, citado por Bertoia, 2004).

En un maíz para ensilaje, con buenos valores agronómicos y nutricionales, el polimorfismo de las enzimas ligadas a la lignificación y la variabilidad de los genes que la regulan son sin duda una fuente de recursos a los que el mejorador puede recurrir (Alesandro, 2002). Como ejemplo, es posible

citar la serie alélica mutante recesiva, denominada BMR, la cual genera una brusca caída en el porcentaje de lignina que contiene la pared celular, obteniéndose un incremento en la digestibilidad de los tejidos (Barriere y Argillier, 1993). Estos maíces representan una excelente alternativa ante situaciones en las cuales se requiera de un silaje de alta calidad, sin depender tanto del contenido de granos para lograr calidad de material a ensilar. Lo cual puede convertirse en una ventaja estratégica frente a los maíces convencionales, ya que estos últimos presentan una fuerte dependencia de los granos para aportar calidad de material picado (Lus, 2014).

La finalidad de este trabajo fue caracterizar y comparar la curva de acumulación de materia seca en híbridos de maíz de diferente composición genética, relacionando los contenidos de materia seca, estados vegetativos y calidad del forraje en los diferentes híbridos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante la campaña 2013/14 en la Estación Experimental Agropecuaria de Rafaela perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (I.N.T.A.), ubicado sobre la ruta nacional N° 34 en el Km 27 (Lat. 31°11'57.07'' S y long. 61°29'49.81'' W). La siembra fue en directa sobre un suelo perteneciente a la serie Rafaela, clasificado taxonómicamente como Arguidol típico según la carta de suelos de INTA escala 1:50.000, con un horizonte A1 de 20 a 24cm de espesor y textura franco-limosa pesada (Panigatti *et al.*, 1982).

Se utilizó un diseño en bloques con tratamientos distribuidos al azar con tres repeticiones. El 8 de octubre de 2013 se aplicaron 3 l ha⁻¹ de glifosato 48 % y 0,6 l ha⁻¹ de 2,4 D éster 97 %, dando comienzo al periodo de barbecho.

En el ensayo participaron dos materiales de maíz de diferente composición genética, ambos destinados a ensilaje, con el objetivo de conocer la acumulación de materia seca y la calidad de la misma tanto en planta entera como en sus diferentes componentes composicionales (tallo, hoja y espiga).

1) Híbrido granífero LT 624 MG RR del semillero La Tijereta. La tecnología MG brinda protección contra insectos lepidópteros a lo largo de todo el ciclo del cultivo y en toda la planta (Monsanto, 2002). Mientras que la tecnología RR (*Roundup Ready*) brinda la resistencia al herbicida glifosato (Monsanto, 2002).

2) Híbrido nervadura marrón BMR 126 HX CL del semillero Forratec. La tecnología HX (Herculex I) ofrece un alto nivel de protección, a lo largo de todo el ciclo del cultivo, para ciertos insectos tales como barrenador del tallo (*Diatraea saccharalis*), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), oruga cortadora (*Agrotis ipsolon*), e isoca de la espiga (*Heliothis zea*), además confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio (Maizar, 2006). Por su parte, la tecnología CL (Clearfield) brinda la resistencia del cultivo a los herbicidas Lightning® y OnDuty® (Nidera, 2014).

La siembra se llevó a cabo en la segunda quincena del mes de diciembre del año 2013, más específicamente el día 19 con una sembradora neumática de labranza cero o siembra directa. El espaciamiento entre surcos fue de 52cm y se utilizó una densidad objetiva de 76000 plantas ha⁻¹ (4 semillas por metro lineal de surco). Se realizó, al momento de la siembra, una fertilización nitrogenada con 50kg ha⁻¹ de urea (46% N).

En pre-emergencia del cultivo (21/12/13) se aplicó una dosis de 4 l ha⁻¹ de atrazina 50%. En el estado vegetativo V6 (Ritchie y Benson, 1993) se efectuó un control post-emergente en el híbrido LT 624, con el herbicida glifosato dada su condición de RR mientras que en el híbrido de BMR 126 no se pudo aplicar el herbicida opcional (OnDuty®) debido a las condiciones ambientales reinantes (falta de humedad). Durante ningún estadio fenológico de ambos tratamientos, se realizó aplicación dirigida al control de plagas.

Se realizaron un total de 9 muestreos, comenzando el día 27 de febrero de 2014, una vez llegados ambos híbridos al estado fenológico Vt (floración masculina) (Ritchie y Benson, 1993). Los muestreos se llevaron a cabo a los 70, 77, 84, 91, 98, 105, 112, 119 y 126 días desde emergencia.

En cada corte se determinó el número de plantas por metro lineal de surco y la altura de plantas (cm) (mediante el uso de cinta métrica); la producción de materia verde (kg de materia verde sobre 5 metros lineales por tratamiento y repetición), porcentaje de materia seca (mediante el secado de las muestras en estufa con circulación forzada de aire a 60°C hasta peso constante, de dos plantas por tratamiento y repetición), producción de materia seca (MS) kg ha⁻¹, composición de la planta sobre base seca (porcentaje de tallo, hoja y espiga), donde se utilizó para estas últimas mediciones una balanza de precisión. Las muestras secas de cada uno de los híbridos y de los diferentes cortes de la planta entera y de los componentes (tallo, hoja y espiga) fueron molidas con molino Willey, con malla de 2 mm, y llevadas al laboratorio donde, mediante análisis químico, se obtuvieron los datos de: Proteína bruta (PB), por el método Kjeldahl (AOAC 2001.11), Carbohidratos solubles (CS), mediante el método Antrona (Bailey, 1958), Fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina detergente ácido (LDA), por el método de Goering y Van Soest (1970), mediante la tecnología Filter Bag Technique (Ankom 200), y extracto etéreo utilizando el método Soxhlet desarrollado en 1879.

Una vez que ambos tratamientos llegaron a su estado ideal para realizar el picado, el cual se determinó en base al porcentaje de MS, tanto de planta entera (33%) como del componente espiga (50%) (Di Marco y Aello, 2008), los mismos fueron picados y ensilados, sin el uso de aditivos, en bolsas plásticas de 60 m de largo por 9 pies de diámetro. El total de los análisis se realizaron en el laboratorio de forrajes de la EEA Rafaela.

La fecha de panojamiento o floración masculina se consideró cuando la panoja, de más del 50% de la población, comenzó a ser visible. Según Ritchie y Benson (1993), ésta comienza 2-3 días antes de la emergencia de estigmas, y en este estadio la planta alcanza la altura máxima (todos los entrenudos elongados) y el área foliar máximo (todas las hojas completamente desplegadas).

Por su parte, el momento ideal para el picado es cuando el cultivo alcanza un contenido total de MS entre el 30 y 35%, coincidiendo esto, en la mayoría de los casos, con un grano pastoso a semiduro (1/2 a 1/4 línea de leche) (Di Marco y Aello, 2008; Bragachini *et al.*, 1997; Bates, 2002).

El análisis de los datos se enfocó en dos aspectos. El primero, consistió en observar si existían diferencias significativas entre los híbridos en el período analizado, para lo cual se realizó un análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo.

En segundo lugar, se modeló el comportamiento de la producción y la composición a través de modelos de regresiones polinómicas, y dado que la acumulación de la materia seca constituye una función de crecimiento se partió de modelos no lineales para ajustar una función de tipo logístico. La

función logística tiene como fundamento para su definición, que el crecimiento se dará hasta un determinado momento a partir del cual el mismo permanecerá estable, ya que algún factor de crecimiento controlará su desarrollo.

Los datos obtenidos en los experimentos se analizaron mediante el programa InfoStat versión 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014) y el programa R (R Core Team, 2014) ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el ciclo del cultivo (diciembre de 2013 a mayo de 2014), las precipitaciones totalizaron 807,3 mm (Tabla 1), siendo 24,5% superiores a la suma de los valores históricos para estos meses en la localidad de Rafaela. Además, el 75,8% de estas se concentró en el trimestre feb-mar-abr, coincidiendo con las etapas reproductivas del cultivo.

Por otra parte, se puede apreciar que durante el ciclo del cultivo, el promedio de la temperatura media ($T^{\circ}m$) mensual fue ligeramente mayor a la media histórica de 83 años (1930-2013).

Tabla 1. Precipitación (Pp) y promedio de la temperatura media diaria mensual ($T^{\circ}m$) desde diciembre de 2013 hasta mayo de 2014 y la media histórica desde 1930 a 2013 para los mismos meses (Estación meteorológica INTA EEA Rafaela).

Año	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Media	Suma
	Precipitaciones (mm)							
2013-2014	68,3	64,0	312,8	205,4	94,5	62,3		807,3
Pp. históricas (1930-2013)	124,9	118,6	111,8	153,7	92,3	47,2		648,5
	Temperatura media ($^{\circ}C$)							
2013-2014	28,6	28,1	24,6	20,6	19,6	16,8	23,1	
$T^{\circ}m$ histórica (1930-2013)	25,1	26,2	25,2	22,7	18,9	15,9	22,3	

La variable altura se determinó solo en los cuatro primeros cortes debido a que, desde los 85-95 DDE en adelante, los híbridos alcanzaron su máxima altura permaneciendo constante posteriormente. A partir de los datos relevados se determinó que el comportamiento de los mismos difería según la fecha analizada ($p=0,0191$). Las diferencias en altura entre los dos híbridos se dan a partir de los 77 días desde la emergencia, donde el híbrido LT tomó mayor altura que BMR ($p<0,01$). En la Figura 1 se muestra el efecto del tiempo en el desarrollo de los híbridos.

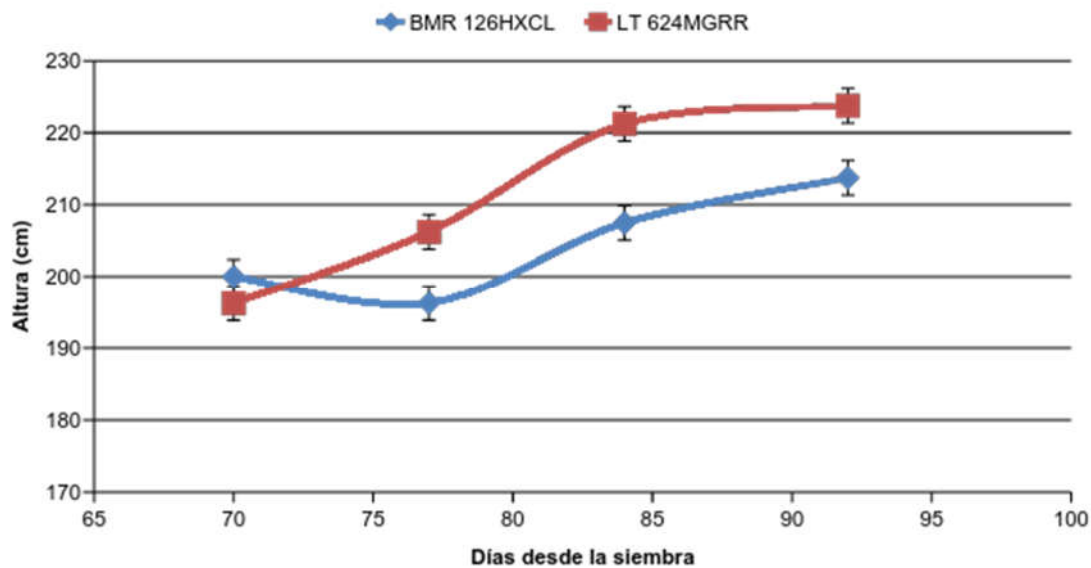


Figura 1. Altura de planta (cm) de los dos híbridos durante el período evaluado.

El híbrido granífero mostró mayor altura de planta alcanzando un máximo de 224 cm mientras que por su parte el material BMR alcanzó un máximo de 214 cm en el período evaluado.

Al igual que para altura de planta, en el total de los muestreos, se midió en una distancia de 5 metros lineales. Los resultados obtenidos mostraron una densidad promedio superior en el número de plantas del híbrido BMR 126HXCL, siendo esta de 3,916 pl/m lineal de surco ó 75187 plantas ha⁻¹, mientras que LT 624MGRR mostró 3,678 pl/m lineal de surco ó 70613 plantas ha⁻¹. El comportamiento presentado por esta variable indicó un descenso del número de plantas a medida que transcurría el período evaluado.

La producción de forrajes expresado como kg de materia seca por hectárea a través del análisis de la varianza no mostró diferencias estadísticamente significativas entre híbridos ($p=0,07$), como así tampoco interacción ($p=0,10$) entre el comportamiento de los híbridos con el momento de la medición. El efecto del momento del corte si dio diferencias significativas. Esto podría explicarse por la rápida acumulación de materia seca que presenta la planta de maíz después del desarrollo inicial de las hojas, alcanzando un máximo cuando la planta llega a su madurez fisiológica (Romero, 2012). El modelo logístico utilizado para describir el comportamiento de la producción a través del tiempo tuvo todos sus parámetros altamente significativos ($p<0,001$), indicando que la producción potencial de los híbridos alcanzaría el valor de 21160 kg MS aproximadamente, siendo el punto de inflexión de la curva en los 81 días transcurridos desde la siembra (Figura 2).

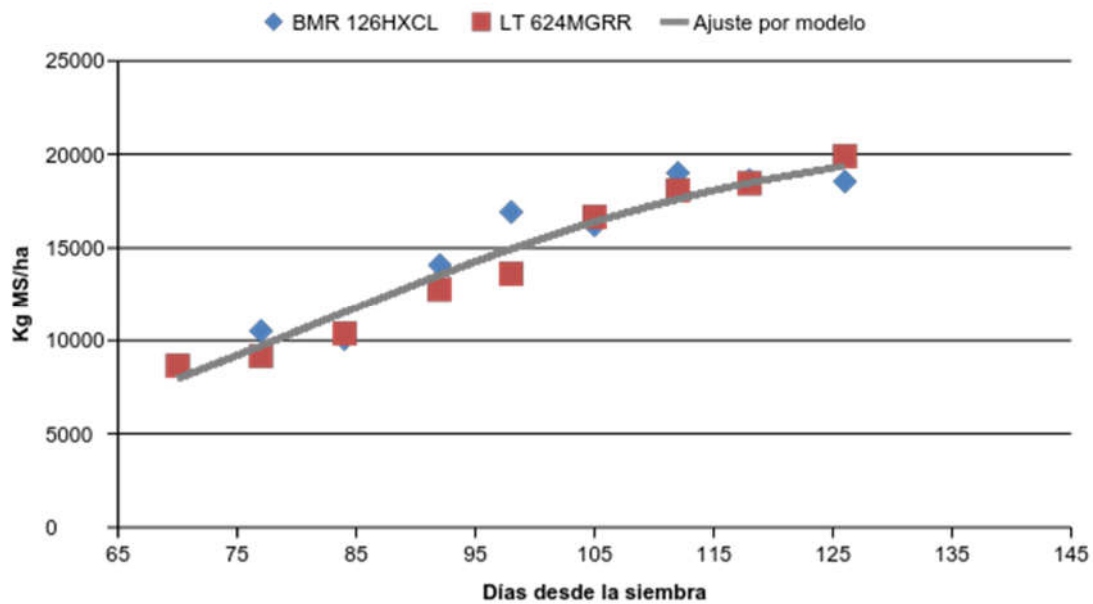


Figura 2. Evolución del contenido de MS/ha de los híbridos evaluados.

El %MS mostraba un comportamiento diferente en función del híbrido evaluado. Al momento de mayor producción (120-125 DDE), la planta tiene un contenido de MS superior en el híbrido LT 624MGRR respecto al híbrido BMR 126HXCL (38,2% y 32,6% respectivamente). El híbrido BMR tiene una tasa de aumento de la materia seca que es más lenta respecto a la del LT (Figura 3). Estos valores del híbrido granífero están dentro del rango observado por Bruno *et al* (1997) para conseguir un adecuado ensilaje.

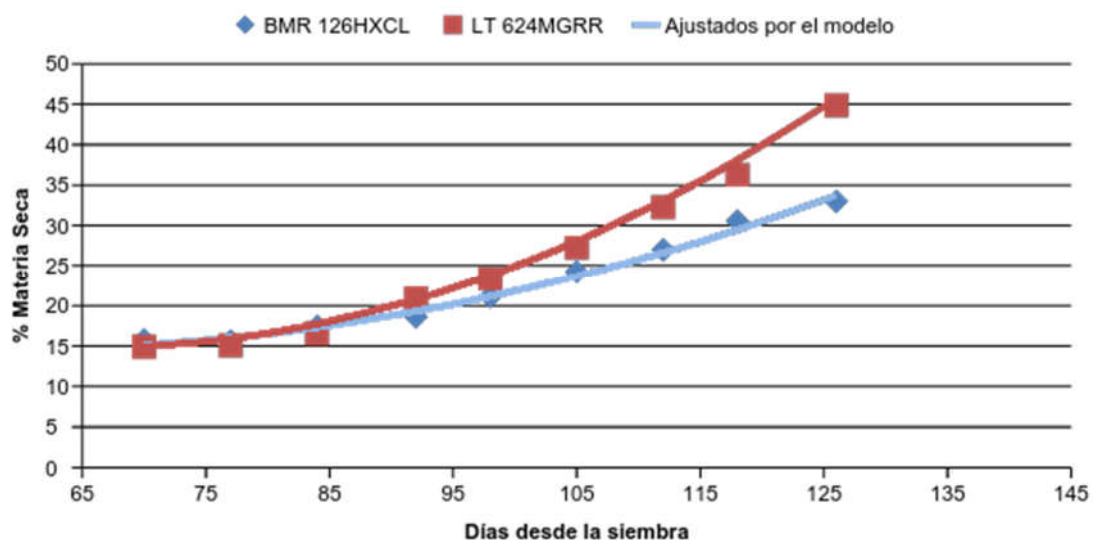


Figura 3. Evolución del % MS para los dos híbridos evaluados durante el periodo de evaluación.

Se puede apreciar que el material LT 624MGRR a los 110 DDE ya presentaba las condiciones de MS para realizar el picado y ensilado permaneciendo esta condición aproximadamente hasta los

115-120 días, mientras que el híbrido BMR 126HXCL recién alcanzó el %MS ideal para el picado a los 120-125 DDE permaneciendo esta posibilidad por un mayor tiempo, considerándose esta característica una mayor ventana de picado coincidiendo con lo indicado por Almeida (2014).

El %MS de la planta se analizó por cada uno de sus componentes: tallo, hoja y espiga. La concentración fue mayor en las hojas que en los tallos en el total de los muestreos y en ambos híbridos, por su parte las mazorcas aparecieron entre los 70-75 DDE, con un incremento sostenido en el contenido de materia seca a partir de los 95 días. Debido a que todos los componentes presentan interacción entre el híbrido y el momento evaluado, se realizó una apertura para detectar en qué momento de la evaluación se presentaron las principales diferencias entre híbridos.

Para el caso del % MS del tallo existían diferencias estadísticamente significativas entre los híbridos, donde BMR 126HXCL mostró una media final 11,44% inferior al material LT 624MGRR (18,95% y 21,40% respectivamente), la cual se mantuvo en todo el período analizado.

Con respecto al % MS de la hoja no presentó el mismo comportamiento que el tallo. En este caso cada híbrido tuvo un comportamiento diferente según el momento de la evaluación, detectándose diferencias estadísticas sólo en los cortes a los 84, 112 y 126 días después de la emergencia. Ambos híbridos tuvieron un comportamiento ascendente en los porcentajes, pero manteniéndose en rangos entre los 22-28% similares a los valores mostrados por Bertoia (2007).

Por último, el % de MS de la espiga, al igual que la hoja, también presentó interacción significativa entre el híbrido evaluado y el momento de la evaluación. Las diferencias estadísticamente significativas se dan a partir de los 105 días. Igualmente existe una tendencia ya desde los 84 días a diferenciarse ($p < 0,05$). Para ambos híbridos los valores de materia seca se incrementaron con el paso de los días, finalizando con una leve inferioridad (-5,28%) el material BMR 126HXCL (50,2%) sobre LT 624MGRR (53,0%). El valor encontrado para el material nervadura marrón es muy superior (+20-25%) en comparación a los expuestos por Genero y Cangiano (2013) en híbridos BMR. Por su parte, el porcentaje obtenido del material granífero concuerdan con los de Bertoia (2007) y Bragachini *et al.* (2008).

En cuanto al porcentaje de participación de cada componente sobre el peso seco total de la planta entera, donde ambos materiales evaluados llegaron al momento de picado con un rango entre 55-60% de participación del componente espiga (58,2% para BMR 126HXCL versus 60,8% para LT 624MGRR). Esta diferencia de 4,27% encontrada a favor del híbrido granífero difiere con la presentada por Genero y Cangiano (2013) quien mostró una diferencia mayor al 18% a favor de los híbridos graníferos (Figuras 4 y 5).

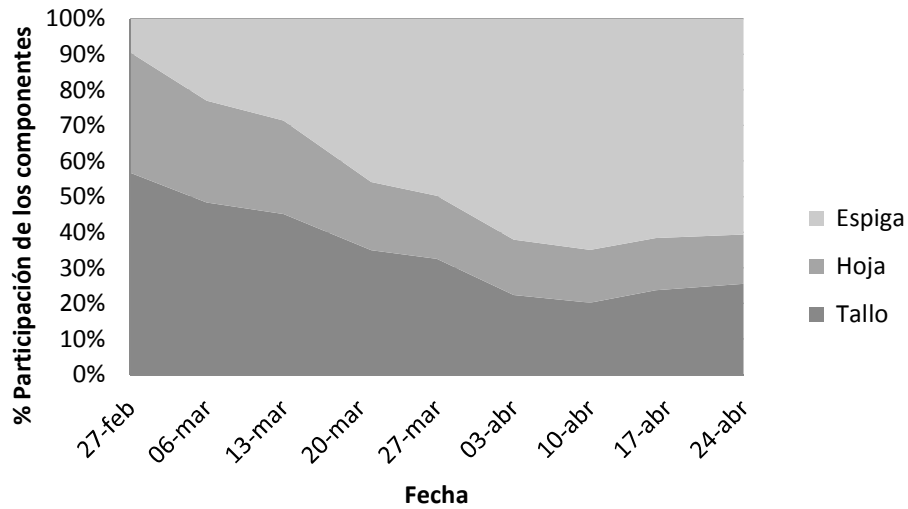


Figura 4. Evolución del porcentaje de participación de los componentes sobre el peso seco total en el híbrido LT 624MGRR.

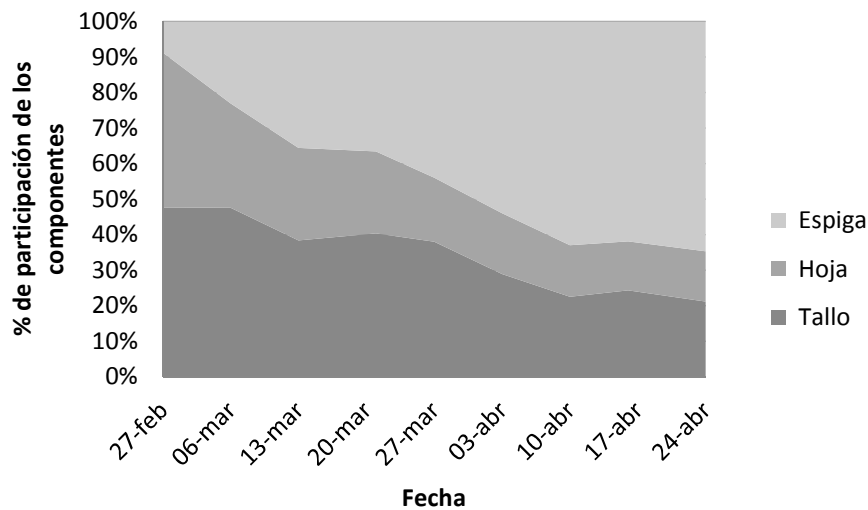


Figura 5. Evolución del porcentaje de participación de los componentes sobre el peso seco total en el híbrido BMR 126HXCL.

Respecto del contenido de proteína en la planta entera presentó un comportamiento diferente entre híbridos según el momento de evaluación realizado. La presentación de la interacción ($p < 0,0001$) se dio dado que BMR 126HXCL presentó valores mayores al inicio de la evaluación y al final de la misma, si bien en esos dos puntos las diferencias entre híbridos no fueron estadísticamente significativa. En ambos híbridos los contenidos de proteína fueron altos (+15%) a los 70 DDE para ir disminuyendo conforme aumentó la edad de la planta alcanzando mínimos entre 8-9% a partir de los 85 a 90 días desde la siembra (Figura 6). Este valor coincide con los encontrados por Bates (2002), Bruno *et al* (1997), Bertoia (2004), Betran *et al* (2003), Bragachini *et al* (1997) para el LT y

superando al promedio encontrado por Lus (2014) en diferentes híbridos BMR, y considerando que los maíces BMR son deficientes en proteína (PB \pm 8%) según Romero (2008).

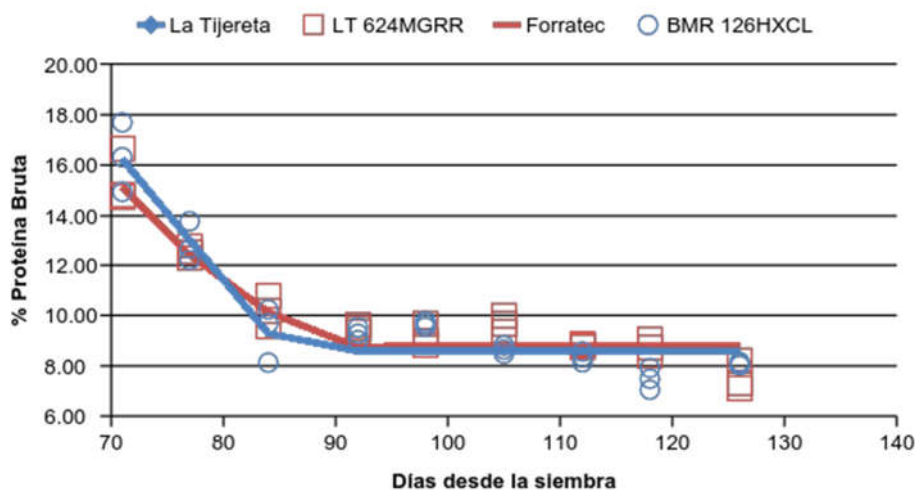


Figura 6. Evolución del % de Proteína Bruta para cada híbrido evaluado.

Desde el punto de vista de los hidratos de carbonos, el comportamiento para ambos híbridos presentó diferencia significativa ($p < 0,01$). Ambos materiales tuvieron comportamientos totalmente diferentes en cuanto a su evolución a través del tiempo, mostrando valores superiores, en el total de los muestreos, el híbrido BMR 126HXCL significando una mayor concentración y/o contenido total de azúcares solubles en los componentes del material BMR, coincidiendo esto con lo publicado por Lus (2014). Tanto el material nervadura marrón como el material granífero presentaron los valores máximos (10,6% y 8,7% respectivamente) al comienzo del análisis disminuyendo con el transcurso de los muestreos.

Si bien el material BMR presentó una diferencia de 2-3 puntos porcentuales mayor durante todos los muestreos, ambos híbridos finalizaron el análisis con 8-9% de carbohidratos solubles, valores similares a los publicados por Bates (2002) y Bragachini *et al* (1997) para el material bajo estudio.

En relación con la FDN ambos híbridos se comportaron diferente según el momento de evaluación contemplado ($p < 0,0001$) (Figura 7).

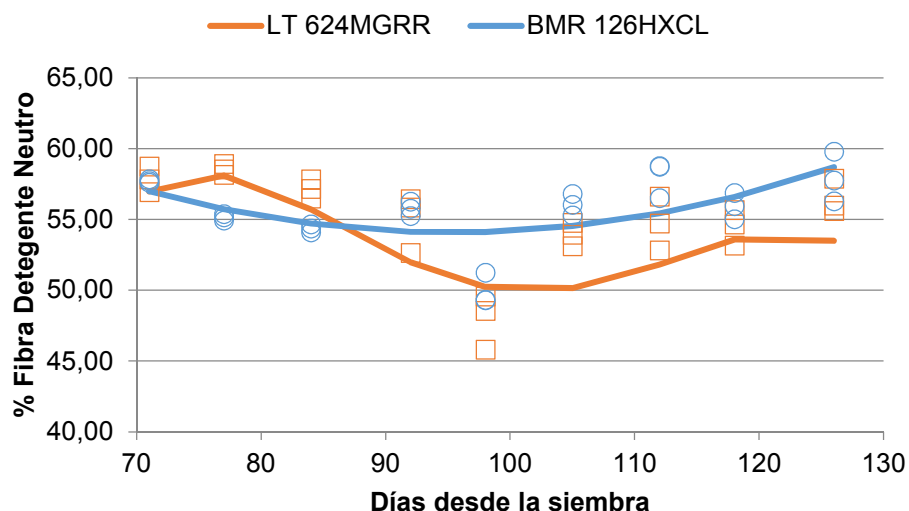


Figura 7. Evolución del % de Fibra Detergente Neutro para cada híbrido evaluado.

Para el parámetro %FDN de los materiales analizados se observó un cambio de tendencia a partir de los 90 días a favor del híbrido BMR 126HXCL, el cual es un 9,7% superior al híbrido granífero (58,7% versus 53,5% respectivamente). Similar resultado obtuvo Lus (2014), mientras que Genero y Cangiano (2013) a pesar de encontrar diferencia entre híbridos (a favor de materiales nervadura marrón) obtuvieron máximos de FDN por debajo de 50%.

La FDA tuvo un comportamiento similar a la fibra detergente neutro (Figura 8). La concentración de fibra detergente ácido concuerda con el rango presentado por The Pioneer Forraje Manual, 1990. citado por Romero (2012) para el alimento en estudio. El híbrido BMR 126HXCL finalizó la evaluación con una media 15,35% superior a la del material LT 624MGRR, donde se obtuvieron máximos de 31,26% y 27,10% respectivamente, a los 125DDE.

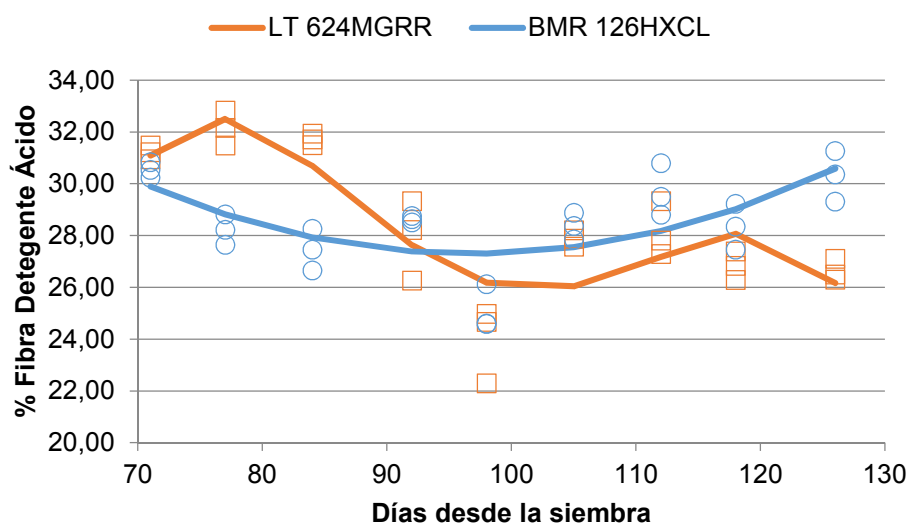


Figura 8. Evolución del % de Fibra Detergente Acido para cada híbrido evaluado.

Varios autores citados mencionan la gran reducción de este componente en los materiales BMR con respecto a híbridos de diferente composición genética (desde 15% hasta mayores al 45%) (Lus, 2014; Kung, 2011; Darby *et al.*, 2012; Torrecillas, 2004).

El material BMR 126HXCL presentó los menores valores de lignina durante todo el período analizado, pero estas diferencias no se mantuvieron constante a través del periodo de evaluación (interacción, $p < 0,001$). Queda evidenciado en la figura 9 la marcada diferencia en los niveles de lignina entre ambos materiales analizados, donde BMR 126HXCL no supera nunca el 1,5% de LDA mientras que LT 624MGRR alcanza valores máximos de 2,84%. A los 125DDE, momento del picado y ensilado, el material BMR presentó una media de 1,08% mientras que el material granífero poseía 2,13%, existiendo una diferencia final de 49,3% superando valores encontrados por autores como Lus (2014) y Kung (2011) e igualando al rango mostrado por Torrecillas (2004) quien marcó diferencias entre 40-50% pero con valores de lignina de 1,6% en materiales BMR.

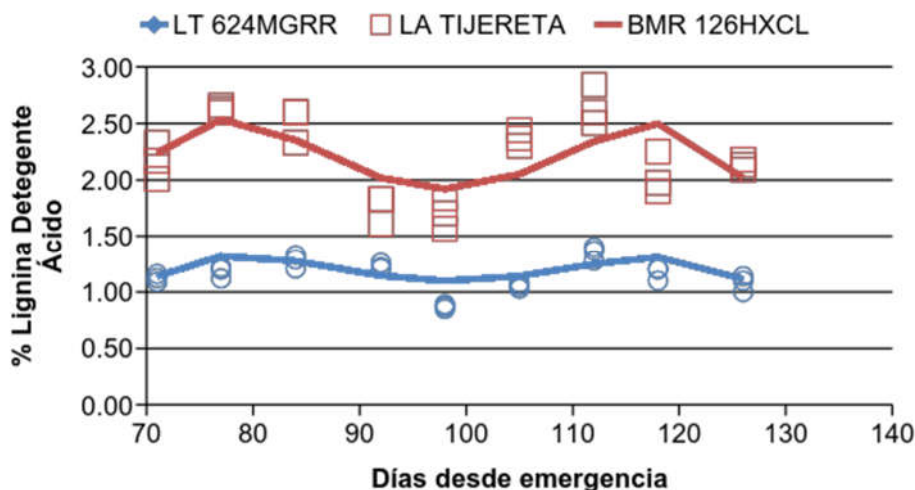


Figura 9. Evolución del contenido de LDA de los dos híbridos evaluados.

Para el extracto etéreo se detectó interacción en el comportamiento del híbrido a través del período de evaluación ($p < 0,001$). Solo se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre híbridos al inicio, 105 y después de los 115 DDE, siendo variable cual fue el material con mayor concentración de este parámetro a través de los muestreos.

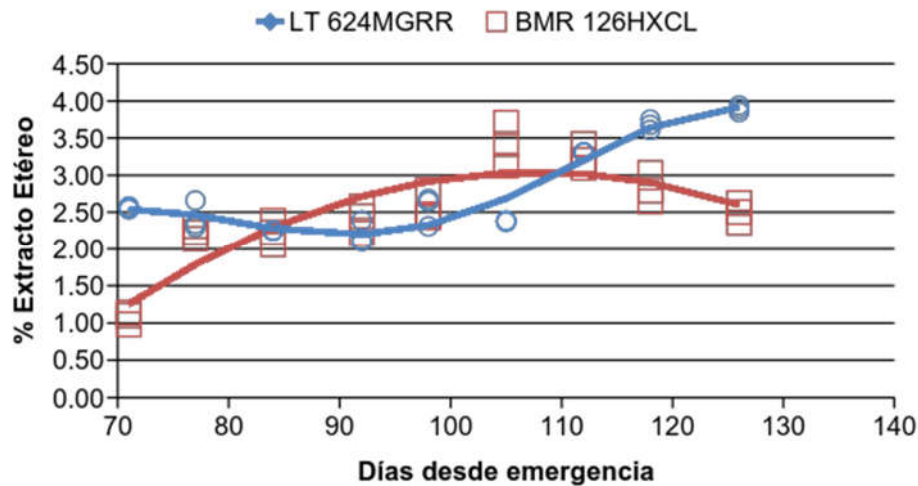


Figura 10. Ajuste de regresión polinómica para la EE de los dos híbridos evaluados.

El comportamiento mostrado por ambos materiales en el parámetro EE fue totalmente opuesto (Figura 10). LT 624MGRR evidenció los picos de acumulación en el período medio del análisis (105-110 DDE) con valores de 3,72% para finalizar con 2,60% al momento del ensilado. Por su parte, BMR 126HXCL mostró los niveles máximos de EE al final del período (120-125 DDE) con una media de 3,91%, existiendo una diferencia (+50,3%) en el componente extracto etéreo a favor de BMR, representando esta otra fuente de energía para el animal pero de menor magnitud e importancia. El valor encontrado en el material granífero coincide con los rangos presentados por Bates (2002) y Romero (2008), mientras que la diferencia expresada a favor de BMR no concuerda con lo presentado por Lus (2014) y Kung (2011) por lo cual se seguirá investigando.

CONCLUSIONES

Si bien el material BMR presentó los mayores valores de rendimiento en materia verde, no se encontraron diferencias en la producción de materia seca, donde ambos híbridos mostraron valores por encima de los 17000 kgMS ha⁻¹ con potencial alcanzable de 21500 kgMS ha⁻¹. Sin embargo, el híbrido LT 624MGRR presentó la mayor altura de plantas superando por 10 cm al material BMR 126HXCL, no influenciando esto de manera relevante en los rendimientos.

El híbrido BMR 126HXCL alcanzó con más lentitud el contenido óptimo de materia seca (30-35%) dándole una mayor ventana de picado, lo cual le posibilitaría ante eventualidades que se puedan producir (climáticas, problemas con la maquinaria, etc), picarlo y ensilarlo en buenas condiciones de la planta, al bajar más lentamente la humedad.

En el transcurso de los muestreos, la composición morfológica representada por los % de participación de tallo, hojas y espiga sobre el peso seco de planta entera mostraron similar tendencia en ambos híbridos, con una leve superioridad del componente espiga a favor del híbrido LT 624MGRR sobre BMR 126HXCL.

Desde el punto de vista de la composición nutritiva, ambos materiales mostraron una similar curva en la evolución de proteína bruta (misma caída en los valores a través del tiempo). En cuanto a la calidad representada por la FDN, FDA y LDA el material BMR siempre obtuvo valores inferiores

al granífero en el contenido de lignina, a pesar que los valores de FDN y FDA fueron superiores a los de LT 624MGRR. En función de esto, se esperaría que el material BMR presentara un mayor consumo de MS por parte de los animales debido a una mayor digestibilidad de la fracción fibrosa (celulosa y hemicelulosa).

BIBLIOGRAFÍA

- Alesandro, M.S. 2002. Variabilidad y parámetros genéticos en caracteres morfofisiológicos de maíz (*Zea mays* L.) para silaje. Universidad Nacional de Rosario.
- Almeida, R.M. 2014. Elección de maíz para silo. INTA Pergamino.
- Bailey, R. W. 1958. Reactions of pentoses with anthrone. *Bioch. J.* 68:669
- Barriere, Y. and Argillier, O. 1993. Brown mid-rib genes of maize: a review. *Agronomie* 13, 865-876.
- Bates, G. 2002. Corn silage. Agricultural extension service. The University of Tennessee. SP434-D.
- Bertoia, L.M. 2004. Análisis de la interacción genotipo-ambiental de la aptitud forrajera en maíz (*Zea mays* L.). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata.
- Bertoia, M. L. 2007. Algunos conceptos sobre el cultivo de maíz para ensilaje. Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Bertoia, L.M. 2013. El rendimiento de forraje y la capacidad de combinar la calidad de los materiales compuestos de maíz con diferentes niveles de mejora. pág, 87-92.
- Betrán, J. F.; Bockhilt, A. J. and Rooney, L. W. 2003. Blue corn. En: speciality corns. 2nd. Edition. 293-337 pp.
- Bragachini, M.; Cattani, P.; Ramirez, E.; Ruiz, S. 1997. Silaje de maíz y sorgo granífero, ISSN 0329-1650. Cuad. Act. Tec.N°2. pp. 122.
- Bragachini, M.; Cattani, P.; Gallardo, M.; Peiretti, J. 2008. Forrajes conservados de alta calidad y aspectos relacionados al manejo nutricional. INTA – PRECOP II. Manual técnico N°6. ISSN 1667-9199. Pág. 135 – 138.
- Bruno, O.A.; Romero, L.A.; Ustarroz, E. 1997. Forrajes conservados. En: Invernada bovina en zonas mixtas. (Eds Latimori y Kloster) ISSN: 0329-0077 pág. 57-93.
- Bruno, O.A; Romero, L.A.; Quaino, O.; Gagiotti, M. 2001. Rendimiento de MS, silaje y valor nutritivo de cultivares de maíz. *Revista argentina de producción animal*, vol. 12, N°2. Pág. 139-145.
- Carrete, J. 1997. Maiz para silaje. Sitio argentino de producción animal. 4p.
- Cherney, D.J.R. and Cherney, J.H. 1991. Low-lignin, brown-midrib genotypes and their potential for improving animal performance. *Proceedings Cornell Nutrition Conference*, Ithaca, NY. Pág. 13-19.
- Darby, H.; Harwood, H.; Cummings, E.; Madden, R.; Monahan, S. 2012. 2012 Brown Mid-Rib corn variety trial. University of Vermont. (Disponible en: <http://www.uvm.edu/extension/cropsoil/wp-content/uploads/BMR-Corn-VT-report-2012.pdf>). Consultado 02/04/2014.
- Daynard, T.B. and Hunter, R.B. 1975. Relationships among whole-plant moisture, grain moisture, dry matter yield, and quality of whole-plant corn silage. *Canadian J. Planta Sci.* 55: 77-84

- Di Marco, O.N. y Aello M.S. 2008. Calidad nutritiva de la planta de maíz para silaje. Conservación de forrajes: las claves para hacer un buen silo. (Disponible en: <http://www.ensiladores.com.ar/tecnica/nota7/nota7.htm>). Consultado 25/03/2014.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. (Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>)
- Eastridge, M.L.; Bucholtz, H.; Johnson, T.; Beyler, D.; Elliot, T.; Winkler, J.; Booker, R.; Massie, S.; Wilks D.; Zanzalari, K. 1999. Tri-state dairy nutrition conference. Pág. 179-181.
- Fernandez Mayer, A. 2008. Impacto de los silaje de planta entera (maíz o sorgo) en los sistemas de engorde intensivos (pastoril y a corral). INTA EEA Bordenave. Material didático N° 5 ISSN 0326-2626. 50 pp.
- García Espil, A. 1991. Evaluación de recursos forrajeros. 1° edición. CREA.
- García, F. 2014. Cámara argentina de contratistas forrajeros (Disponible en: <mailto:info@ensiladores.com.ar?subject=Contacto%20desde%20la%20p%C3%A1gina%20web>). Consultado 15/02/2015.
- Genero, G. y Cangiano, C. 2013. Ensilaje de maíz BMR, una muy buena opción. INTA EEA Balcarce. (Disponible en: <http://www.produccionanimal.com.ar/produccion/y/manejo/reservas/reservas/silos/218-maiz/BMR>). Consultado 08/03/2014.
- Genter, C. E.; Jones, G. D.; and Carter, M. T. 1970. Dry matter accumulation and depletion in leaves, stems, and ears of maturing maize. *Agronomy J.*62:535-537.
- Goering, H. K., and Van Soest P. J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications), *Agric. Handbook No. 379*. ArsUSDA. Washington, DC.
- Kung, L. 2011. BMR silage facts, fiction, and real world experience. Virginia State Feed Association and Nutritional Management Conference. University of Delaware.
- La Ragione Senin, L. 2008. ¿Maíz o sorgo para ensilar? ¿Qué opciones tiene el productor? PANNAR. Pág. 4.
- Lauer, J. y Coors, J. 1994. *Corn Agronomist and Corn Breeder*. University of Wisconsin.
- Lus, J. 2014. Maíz BMR, silaje de alta calidad que no depende solo del grano. Año 10, N°24.
- Maizar. 2006. Protección contra insectos en maíz. Ventajas del evento HX (Herculex I). (Disponible en: <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=134>). Consultado 10/06/2014.
- MAIZAR. 2013. Empleo de silaje para alimentación de ganado. Asociación maíz argentino.
- Monsanto. 2002. Biotecnología comercial. (Disponible en: <http://www.monsanto.com/global/ar/productos/pages/biotecnologia-comercial.aspx>). Consultado 10/06/2014.
- Nidera. 2014. Tecnologías introgresadas en nuestros híbridos de maíz. (Disponible en: <http://www.niderasemillas.com.ar/NideraSemillas/maiz.aspx?vin=3>). Consultado 10/06/2014.
- Panigatti, J.L. y Mosconi, F.P. 1979. Arcillas de suelos del centro de Santa Fe y centro-este de Córdoba. RIA. Seria3, Vol. XIV, N°3. INTA Bs. As.
- Panigatti, J.L., Hein, N.E., Mosconi, F.P. 1982. Mapa detallado de suelos de la Estación Experimental Regional Agropecuaria Rafaela (Santa Fe). ISSN 0325-9137. Pág. 5-15.

- Pena Ramos A.F.; Gonzalez Castaneda, G.; Nunez Hernandez, M.R.; Tovar Gomez, R.; Preciado Ortiz, A.; Terroin Ibarra, N.; Gomez Montiel. 2006. Estabilidad del rendimiento y calidad forrajera en híbridos de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 29 (Numero especial 2): pág. 109.
- Ritchie, S.W. and Benson, G.O. 1993. How a Corn Plant develops *Spec. Rep.* 48. Iowa State University, Ames, IA.
- R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. (Disponible en : <http://www.R-project.org/>). Consultado 15/01/2015.
- Romero, L.A. 2008. MAIZ: Ensayo comparativo de rendimiento para silaje de planta entera. Campaña 2007/2008. INTA EEA Rafaela.
- Romero, L.A. 2012. Ensilaje de maíz en Forrajes conservados. Cámara Argentina de contratistas forrajeros. Manual de actualizaciones técnicas 3ra edición. Pág 65-69.
- Soxhlet, F. 1879. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. *Polytechnisches J.* (Dingler's) 232-461.
- Stone, W.C., Chase, L.E., Overton, T.R., Nestor, K.E. 2012. "Brown mid rib corn silage fed during the peripartal period increased intake and resulted in a persistent increase in milk solids yield of Holstein cows."
- Torrecillas, M. 2004. Sorgos BMR, un paso firme hacia la excelencia en calidad forrajera. Facultad de ciencias agrarias. Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Van Soest, A., Bobber, F. M., Van Ingen Schenau, G. 1994. A control strategy for the execution of explosive movements from varying starting positions. Universiteit, NL 1081 BT Amsterdam, The Netherlands.

SANIDAD

CONTROL DE MASTITIS BOVINA CAUSADAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y ORGANISMOS COLIFORMES MEDIANTE VACUNACIÓN:

¿CUÁLES SON LAS VACUNAS DISPONIBLES Y CUÁL ES SU EFICACIA?

CALVINHO L.^{1*} Y CAMUSSONE C.^{2,1}

¹E.E.A. Rafaela, INTA. ²CONICET

*Autor de contacto: calvinho.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Se define como mastitis a la inflamación de la glándula mamaria (GM). Si bien la inflamación no indica necesariamente la presencia de una infección intramamaria (IIM), en la mayoría de los casos es causada por agentes bacterianos, por lo cual es considerada una enfermedad infecciosa. La mastitis es el resultado de la interacción entre varios factores de manejo y el medio, que determinan que aumente la exposición a los microorganismos causales, disminuya la resistencia natural de la vaca hacia la enfermedad y/o se favorezca el paso de los microorganismos a través del canal del pezón para acceder al epitelio secretor de la glándula mamaria (Schalm et al., 1971).

Los organismos causantes de IIM han sido clasificados en patógenos contagiosos y ambientales de acuerdo con sus características de distribución e interacción con el pezón y su canal. Los patógenos contagiosos viven y se multiplican en la glándula mamaria y la piel del pezón, se transmiten de animal a animal principalmente durante el ordeño e incluyen a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* y a especies de *Mycoplasma* (Fox y Gay, 1993). Los patógenos ambientales son aquellos cuyo reservorio primario es el lugar donde viven las vacas. Estos organismos constituyen un grupo heterogéneo, siendo los más frecuentemente aislados *Streptococcus uberis* y las bacterias coliformes; mientras que *Streptococcus dysgalactiae* comparte características de los patógenos ambientales y los contagiosos (Todhunter et al., 1995; Hogan y Smith, 2003). Los programas actuales de control de mastitis bovina fueron desarrollados en la década del 60 y están basados en higiene durante el ordeño, incluyendo desinfección de pezones post ordeño, uso de terapia antibiótica durante la lactancia y al inicio del período seco, descarte de vacas con IIM crónica y mantenimiento adecuado del equipo de ordeño (Neave et al., 1969). A este esquema básico de control se han agregado más recientemente el cuidado del ambiente, la bioseguridad para patógenos contagiosos, así como el registro y monitoreo del estado de salud mamaria (National Mastitis Council, 2016). La aplicación de estas medidas ha conducido a un progreso considerable en el control de la mayoría de los patógenos contagiosos, aunque menos marcado en el caso de *S. aureus* (Zecconi et al., 2006). Respecto de los organismos ambientales, se ha observado que la desinfección de pezones post ordeño y la terapia antibiótica para vaca seca muestran menor efectividad que contra los patógenos contagiosos. Además, se ha demostrado que en la medida en que se logró reducir la prevalencia de patógenos contagiosos dentro de un rodeo lechero, la proporción de IIM por patógenos ambientales se incrementó (Todhunter et al., 1995; Hogan y Smith, 2003).

Staphylococcus aureus es el patógeno contagioso aislado con mayor frecuencia en nuestro país (Calvinho y Tirante, 2005; Dieser et al., 2014). Dentro de los patógenos ambientales, si bien no se cuenta con datos actualizados, a partir de la década de 2000 se advierte una intensificación de la

producción lechera en Argentina con aumentos de la carga animal (Chimicz y Gambuzzi, 2007), lo que ha implicado en muchos casos la concentración de animales en áreas reducidas, llevando a un mayor contacto entre animales, mayor contaminación del medio con deyecciones y por consiguiente un cambio drástico en la exposición a los organismos patógenos ambientales.

Dentro de este contexto, la tendencia a la cronicidad de las IIM por *S. aureus* y su pobre respuesta a la terapia antibiótica, han llevado a proponer alternativas no antibióticas para complementar las medidas de control existentes; siendo la vacunación una de éstas. En el caso de IIM por organismos coliformes, cuando estas se presentan al periparto pueden originar casos agudos y sobreagudos que llegan a comprometer la vida del animal. En consecuencia, además de resaltar la importancia de mantener un ambiente higiénico al periparto para disminuir la exposición de los pezones, es deseable aumentar la resistencia de las vacas a este tipo de infecciones, fundamentalmente durante la etapa de transición. De esta forma, la vacunación ha surgido como una medida complementaria a los programas de control de mastitis por organismos coliformes. A continuación, se describen aspectos básicos de la respuesta inmune de la glándula mamaria para facilitar la interpretación de los mecanismos de acción de las vacunas, así como las vacunas disponibles comercialmente para el control de infecciones por *S. aureus* y organismos coliformes en nuestro país, su mecanismo de acción y eficacia.

Reseña de la inmunidad de la glándula mamaria bovina

Los componentes de la respuesta inmune en la GM bovina involucran diversos factores físicos, celulares y moleculares que se engloban dentro de la inmunidad innata y adaptativa. La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa del hospedador durante las etapas tempranas de la interacción con el organismo infectante. Es el factor clave determinante del establecimiento, la progresión y la gravedad de la infección, así como del desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Dependiendo de la eficiencia de estos mecanismos, los patógenos pueden ser eliminados en cuestión de minutos u horas después de la invasión. Si esto ocurre, no se producirán cambios notables en la función de la GM o en la composición de la leche (Wellnitz y Bruckmaier, 2012). Los componentes del sistema de defensa innato de la GM incluyen barreras físicas, como el canal del pezón; barreras químicas, como la queratina del canal del pezón, factores solubles como la lactoferrina, lisozima, proteínas del complemento, citoquinas y quimioquinas. Además, existen defensas celulares que incluyen macrófagos, células dendríticas, mastocitos, neutrófilos, eosinófilos y células asesinas naturales. Los neutrófilos son las células más abundantes en el tejido y secreción mamaria durante los estadios tempranos de la inflamación en respuesta a una infección bacteriana, teniendo como función primordial fagocitar microorganismos y eliminarlos mediante mecanismos dependientes e independientes del oxígeno. Los macrófagos, tienen actividad tanto fagocítica, como de estimulación de la respuesta inflamatoria tras el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos, así como de procesamiento y presentación de antígenos en asociación con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II (Rainard y Riollet, 2006).

La inmunidad específica o adaptativa se orchestra en poblaciones celulares que reconocen antígenos específicos de los patógenos y está mediada por linfocitos B, a través de la síntesis de anticuerpos, y por linfocitos T, en forma directa o a través de la síntesis de factores solubles. Esta

respuesta tiene la particularidad de ser más efectiva luego de cada exposición al patógeno y su activación secundaria mediada por linfocitos T y B permitiría en condiciones ideales la eliminación del mismo (Schukken et al., 2011). El rol primario de los linfocitos B es producir anticuerpos contra antígenos de los patógenos invasores. Estas células, al igual que los macrófagos y células dendríticas, internalizan, procesan y presentan antígenos a los linfocitos T colaboradores en el contexto de las moléculas de MHC clase II. Los anticuerpos producidos por los linfocitos B son de tres clases, IgG (IgG₁ e IgG₂), IgM e IgA. La IgG₁ es el principal isotipo presente en las secreciones mamarias, mientras que la IgG₂ se incrementa durante la inflamación mamaria. Ambos isotipos de IgG y la IgM son opsónicas, favoreciendo la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos; mientras que la IgA puede aglutinar bacterias y neutralizar toxinas bacterianas (Sordillo y Streicher, 2002).

Vacunas disponibles contra *Staphylococcus aureus*.

Las vacunas comercialmente disponibles en Argentina para el control de mastitis causadas por *S. aureus*, Lysigin[®] (Boehringer Ingelheim Vetmedica, EE.UU.) y Startvac[®] (Hipra, España), son a base de bacterias inactivadas (bacterinas) formuladas con adyuvantes clásicos. La vacuna Lysigin[®] ha sido comercializada en EE.UU. desde la década del 70. Contiene un lisado de 5 cepas de *S. aureus* productoras de polisacáridos capsulares (CP5, CP8 y polisacárido de superficie 336) formuladas con un adyuvante a base de hidróxido de aluminio. Al ser una bacterina, Lysigin[®] estimula una respuesta inmune de tipo humoral contra *S. aureus*. Luego de la administración de dos dosis de Lysigin[®] al parto a vaquillonas preñadas se detectó respuesta humoral en sangre y leche, la que varió según la cepa incluida en la vacuna y el isotipo de inmunoglobulina evaluados. Los animales inmunizados desarrollaron niveles de IgG1 e IgG2 anti-*S. aureus* CP5, CP8 y 336 en sangre significativamente mayores a los de los animales control. En leche, en cambio, sólo se observó una respuesta significativa de IgG anti-*S. aureus* CP8 y 336, mientras que no se registraron niveles detectables de IgG1, IgG2 e IgM (Luby et al., 2007). La duración de la inmunidad inducida por esta vacuna no ha sido definida claramente; sin embargo, los resultados obtenidos por Nickerson et al. (1999) sugieren que la misma sería sostenida por al menos 6 meses. Sobre esta base, el esquema de vacunación propuesto por el fabricante consiste en 2 dosis aplicadas de forma intramuscular, con un intervalo entre ellas de 14 días, y una dosis refuerzo cada 6 meses; comenzando el esquema en terneras de aproximadamente 6 meses de edad.

Startvac[®] es una vacuna polivalente que contiene un lisado de una cepa de *S. aureus* que expresa el complejo antigénico asociado a “slime” (SAAC) combinado con *Escherichia coli* J5 inactivada, formulada con un adyuvante de base oleosa. Se ha demostrado que el uso de esta vacuna en vaquillonas preñadas estimula la producción de fuertes respuestas de anticuerpos anti-SAAC en sangre (IgG e IgG₂) y leche (IgG), cuyo nivel se correlaciona en forma negativa con la severidad de los signos clínicos inducidos por la infección experimental (Prenafeta et al., 2010). Consecuentemente, se ha propuesto que los anticuerpos generados por la aplicación de esta vacuna serían capaces de opsonizar a las bacterias a través del reconocimiento específico de determinados componentes de las mismas, favoreciendo la fagocitosis y la eliminación del microorganismo de la glándula mamaria. Las indicaciones de uso de Startvac[®] son para inmunización de vacas y vaquillonas sanas, en establecimientos lecheros con problemas de mastitis recurrentes, para reducir la incidencia

de mastitis subclínica y clínica y la gravedad de los signos de mastitis clínicas causadas por *S. aureus*, coliformes y *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN). A tal efecto, el laboratorio productor aconseja vacunar a todo el rodeo siguiendo un esquema de aplicación de 2 dosis a los 45 y 10 días antes de la fecha probable de parto, respectivamente y una tercera dos meses más tarde; repitiendo este programa completo en cada gestación.

Evaluación de la eficacia de las vacunas disponibles contra *S. aureus*

A continuación, se resume la eficacia de ambas vacunas a partir de trabajos de investigación controlados, publicados en revistas con sistema de revisión por pares. Respecto de la eficacia de Lysigin[®], en un estudio inicial se inmunizaron terneras de 6 meses con esta vacuna, seguida de una dosis de refuerzo a las 2 semanas y luego cada 6 meses, hasta el momento del parto. Los animales vacunados tuvieron un 45% de reducción de nuevas IIM por *S. aureus* durante la preñez y el parto, relativo a controles sin inmunizar. Además, el porcentaje de cuartos con infección IIM crónica o persistente por *S. aureus* durante el período en estudio resultó un 43% menor en vaquillonas vacunadas respecto de controles (Nickerson et al., 1999). De acuerdo con estos resultados, se ha sugerido que la aplicación de múltiples inmunizaciones previas al parto podría ser útil para prevenir la aparición de nuevas IIM por *S. aureus* en vaquillonas, así como para reducir la cronicidad de la infección, cuando se comienza el plan de vacunación a edad temprana. En ensayos de eficacia más recientes, se inmunizaron vaquillonas preñadas con 2 dosis de Lysigin[®] aplicadas a los 42 y 14 días previos al parto, respectivamente; desafiando posteriormente a los 6, 7 y 8 días de lactancia con una infusión intramamaria de una cepa de *S. aureus* heteróloga (Middleton et al., 2006). Si bien no hubo evidencia de que la vacunación previniera el establecimiento de nuevas IIM por *S. aureus*, se observó una reducción de la severidad clínica y duración de los signos clínicos luego del desafío. Tampoco se apreciaron menores recuentos de células somáticas (RCS) o una mayor producción láctea en animales vacunados respecto de controles. Posteriormente, se realizó una prueba de eficacia a campo en la cual se inmunizaron con Lysigin[®] vacas en lactancia, evaluándose la aparición de IIM espontáneas por *S. aureus* en el grupo vacunado y un grupo control sin vacunar. Se observó una baja incidencia de IIM por *S. aureus* durante la experiencia en el rodeo lechero en estudio, por lo que el número de cuartos infectados por *S. aureus*, así como el RCS y el nivel de inmunoglobulinas en leche no variaron de forma significativa entre animales vacunados y controles sin inmunizar (Middleton et al., 2009).

Respecto de la eficacia de Startvac[®], en un primer ensayo a campo se estudió la influencia de la vacunación en la dinámica de infección por *S. aureus* y SCN en vacas y vaquillonas de dos establecimientos lecheros (Schukken et al., 2014). Luego de la aplicación del esquema de vacunación indicado por el fabricante no se observó un impacto significativo de la misma en el riesgo de adquirir nuevas IIM por estos microorganismos. Sin embargo, se observó un incremento significativo, aunque moderado, de la tasa de curación de infecciones, y una menor duración de las IIM, en animales vacunados respecto de controles, tanto para *S. aureus* como para SCN; siendo la eficacia global de la vacuna superior en vaquillonas primíparas respecto de vacas con más de una parición. La reducción en la duración de la infección beneficiaría no solo a las vacas afectadas, sino que también ayudaría a reducir la exposición al microorganismo del resto de los animales del establecimiento por transmisión durante el ordeño, mejorando de forma indirecta la eficacia global de la vacuna. Sin embargo, la

erradicación de las IIM por *S. aureus* de un rodeo por este medio sería difícil de lograr ya que existen fuentes de infección extramamarias que posibilitan que las vacas adquieran nuevas infecciones.

Recientemente, un estudio de eficacia fue realizado en dos establecimientos suecos, que poseían la característica de haber presentado problemas de mastitis por *S. aureus* durante varios años, los cuales no pudieron ser efectivamente controlados con medidas tradicionales. La aplicación de las 3 dosis recomendadas de Startvac[®] no mostró diferencias significativas en parámetros relacionados con la salud de la GM, como el riesgo relativo de adquirir IIM por *S. aureus* o SCN, la prevalencia de mastitis subclínica o el descarte de animales infectados, en comparación con animales sin vacunar. Los RCS y la producción de leche no variaron de forma significativa entre grupos durante los primeros 4 meses de lactancia registrados en el estudio (Landin et al., 2015).

Vacunas para organismos coliformes (*Escherichia coli*).

Las medidas de control de mastitis por organismos coliformes se deben dirigir a disminuir la exposición de los pezones a las fuentes de estos organismos y/o a aumentar la resistencia de la vaca a estas infecciones (Hogan y Smith, 2003). La variedad de géneros y especies de organismos coliformes, así como la diversidad de los antígenos de superficie de los distintos serotipos involucrados en IIM, plantearon dudas acerca de la factibilidad de desarrollar una vacuna efectiva contra estos organismos. Sin embargo, a fines de la década del 80, basándose en experiencias previas realizadas en animales de experimentación y seres humanos se llevaron a cabo estudios pioneros de vacunación en bovinos utilizando una cepa mutante rugosa de *Escherichia coli* O111:B4 (cepa J5) inactivada (González et al., 1989). Esta mutante no posee los polisacáridos más superficiales de la pared celular, que son aquellos que le confieren la especificidad a los distintos tipos antigénicos dentro de cada género y especie de enterobacterias, pero posee antígenos del core del lipopolisacárido relativamente expuestos que generan protección cruzada contra infecciones causadas por muchos géneros de organismos Gram negativos que comparten estos antígenos (Tyler et al., 1992). Esta característica explicaría en parte el mecanismo de protección contra distintos géneros y especies de bacterias Gram negativas conferido por esta vacuna (Wilson y González, 2003). La *E. coli* J5 fue sometida a una intensa evaluación como inmunógeno para determinar su eficacia y estrategias de dosificación (Wilson y González, 2003) y es la cepa que actualmente conforma las vacunas para organismos coliformes disponibles comercialmente. En Argentina, las vacunas comercialmente disponibles que incluyen *E. coli* J5 son polivalentes. Estas son: Rotatec[®]J5 (Biogénesis Bagó), compuesta por rotavirus bovino (serotipos 6 y 10) y *E. coli* J5 formulada en vehículo oleoso y la vacuna Startvac[®], que fuera descripta en la sección anterior.

Está ampliamente establecido que la vacunación con *E. coli* J5 reduce la incidencia y la severidad de las mastitis clínicas causadas por bacterias coliformes (Wilson y González, 2003; Hogan y Smith, 2003). Sin embargo, el mecanismo por el cual esta vacuna confiere protección no está totalmente elucidado (Dosogne et al., 2002; Wilson et al., 2007). Las mastitis por coliformes más severas son las que se presentan durante el parto, generando desde signos inflamatorios locales con una marcada caída en la producción de leche, hasta signos sistémicos incluyendo temperatura elevada, colapso cardiovascular, shock y muerte del animal. El principal factor de riesgo asociado a la severidad de las mastitis clínicas por coliformes al parto es la migración demorada de los

polimorfonucleares neutrófilos (PMN) hacia la glándula mamaria y la disminución de su capacidad fagocítica (Dosogne et al., 2002), componente esencial de la respuesta inflamatoria. Se ha determinado que utilizando la vacuna *E. coli* J5 bajo los protocolos usuales, se logra una más rápida eliminación de las bacterias de la leche, un aumento más moderado del RCS (compuesto básicamente por PMN) en leche y menor pérdida de producción de leche tras el desafío experimental (Wilson et al., 2007). Estas respuestas favorables se asociaron a una mayor concentración de IgG1 e IgG2 específica pre-desafío en los animales vacunados, comparado con una mayor concentración de IgM en los controles no vacunados (Wilson et al., 2007). Por lo tanto, se ha propuesto que la vacuna *E. coli* J5 favorece el cambio de clase de IgM a IgG1 e IgG2; y cuando este tiene lugar con anterioridad a la etapa de mayor riesgo de mastitis severas, conferiría una mayor protección contra la enfermedad y disminuiría la caída en la producción de leche (Wilson et al., 2009).

El esquema de aplicación de *E. coli* J5 con el cual se logró una mayor eficacia de reducción de mastitis clínicas por coliformes consiste en tres dosis: al secado de la vaca, un refuerzo 4 semanas después y una tercera dosis dentro de los 7 días posteriores al parto (Wilson y González, 2003). Sin embargo, en muchos estudios se utiliza un esquema que comprende las dos primeras dosis, considerando que en muchos establecimientos lecheros se aplica solamente la segunda dosis cuando las vacas ingresan a los corrales de parto, unos 20 días antes de la fecha probable de parto (Wilson y González, 2003; Wilson et al., 2007). La inmunidad lograda con las vacunas disponibles comercialmente se considera de corta duración, aunque es posible incrementar los niveles de IgG2, que están asociados a una mayor protección, aumentando la frecuencia de vacunaciones de refuerzo (Chaiyotwittayakun et al., 2004). Sin embargo, en caso que se deseara modificar el régimen de aplicación, deberá ponerse en consideración la magnitud del problema por mastitis a coliformes, identificar factores asociados a su incidencia y efectuar análisis de costo-beneficio a fin de seleccionar la estrategia más adecuada para cada establecimiento.

Evaluación de la eficacia de vacunas contra organismos coliformes

La eficacia de la vacuna *E. coli* J5 fue evaluada en numerosos estudios de campo (Wilson y González, 2003), tanto con un esquema de aplicación de dos, como de tres dosis. Ambos esquemas se mostraron eficaces para reducir en forma significativa el porcentaje de mastitis clínicas por coliformes en los grupos vacunados, aunque los mayores porcentajes de reducción se observaron tras la aplicación del esquema de tres dosis (Wilson y González, 2003). Se ha estimado que cuando más del 1% de las vacas en lactación son afectadas por mastitis clínica por coliformes, el uso de la vacunación con *E. coli* J5 arroja un costo-beneficio positivo (DeGraves y Fetrow, 1991). Además, animales vacunados con un régimen de dos aplicaciones de *E. coli* J5 tuvieron un 75% menos de disminución de la producción de leche al presentar mastitis por *E. coli* que animales controles sin vacunar (Wilson et al., 2009). Recientemente, se evaluó en 7 rodeos comerciales del Reino Unido, en los cuales era prevalente la mastitis por coliformes, la eficacia de la administración de una vacuna polivalente para mastitis bovina incluyendo *E. coli* J5 (Startvac®) descrita en la sección anterior utilizando dos regímenes distintos de aplicación; uno de acuerdo con las indicaciones del fabricante y otro con vacunaciones ulteriores cada 90 días. Se confirmó el efecto positivo de la vacunación sobre la producción de leche en los primeros 120 días de lactancia, así como un menor riesgo de

presentación de mastitis clínicas en la medida que se administraban más dosis de refuerzo (Bradley et al., 2015).

En nuestro país se evaluó la eficacia de una vacuna polivalente conteniendo *E. coli* J5 para reducir la incidencia de mastitis clínicas por coliformes utilizando un esquema de tres aplicaciones en un rodeo con alta incidencia de mastitis por estos organismos. El porcentaje de animales que presentaron casos clínicos severos o muerte por mastitis por coliformes fue significativamente menor en el grupo de animales vacunados, confirmando la efectividad de la vacuna en condiciones de producción locales (Pol et al., 2008).

CONCLUSIONES

El uso de vacunas contra organismos causantes de mastitis es una medida complementaria a las existentes dentro de un programa de control de la enfermedad. Por lo tanto, dentro de este contexto, el conocimiento de la eficacia y las limitantes de las vacunas disponibles es un insumo de importancia para decidir la implementación de un esquema de vacunación dentro del marco de un programa de control.

BIBLIOGRAFIA

- Bradley, A.J., Breen, J.E., Payne, B., White, V., Green, M.J. 2015. An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. *J. Dairy Sci.* 98:1706–1720
- Calvinho, L.F., Tirante, L. 2005. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. *Rev. FAVE Sección Cs. Vet. Vet.* 4:29-40.
- Chaiyotwittayakun, A., Burton, J.L., Weber, P.S.D., Kizilkaya, K., Cardoso, F.F., Erskine, R.J. 2004. Hyperimmunization of steers with J5 *Escherichia coli* bacterin: effects on isotype-specific serum antibody responses and cross reactivity with heterogeneous Gram-negative bacteria. *J. Dairy Sci.* 87:3375-3385.
- Chimicz, J., Gambuzzi, E.L. 2007. Cambios detectados en los sistemas de producción de leche de Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 27 (Supl.):322-323.
- DeGraves, F., Fetrow, J. 1991. Partial budget analysis of vaccinating dairy cattle against coliform mastitis with an *Escherichia coli* J5 vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199:451-455.
- Dieser, S.A., Vissio, C., Lasagno, M.C., Bogni, C.I., Larriestra, A.J., Odierno, L.M. 2014. Prevalence of pathogens causing subclinical mastitis in Argentinean dairy herds. *Pak. Vet. J.* 34 124–126
- Dosogne, H., Vangroenweghe, F., Burvenich, C. 2002. Potential mechanism of action of J5 vaccine in protection against severe bovine coliform mastitis. *Vet. Res.* 33:1-12.
- Fox, L.K., Gay, J.M. 1993. Contagious mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 9:475-487
- González, R.N., Cullor, J.S., Jasper, D.E., Farver, T.B., Bushnell, R.B., Oliver, M.N. 1989. Prevention of clinical coliform mastitis in dairy cows by a mutant *Escherichia coli* vaccine. *Can. J. Vet. Res.* 53:301-305.
- Hogan, J., Smith, K.L. 2003. Coliform mastitis. *Vet. Res.* 34:507-519.

- Landin H., Mörk, M.J., Larsson, M., Persson Waller, K. 2015. Vaccination against *Staphylococcus aureus* mastitis in two Swedish dairy herds. *Acta Vet Scand.* 25:57:81.
- Luby, C.D.; Middleton, J.R.; Ma, J.; Rinehart, C.L.; Bucklin, S.; Kohler, C., Tyler, J.W. 2007. Characterization of the antibody isotype response in serum and milk of heifers vaccinated with a *Staphylococcus aureus* bacterin (Lysigin™). *J. Dairy Res.* 74:239-246.
- Middleton, J.R.; Luby, C.D., Scott Adams, D. 2009. Efficacy of vaccination against staphylococcal mastitis: a review and new data. *Vet. Microbiol.* 1:2192-2198.
- Middleton, J.R.; Ma, J.; Rinehart, C.L.; Taylor, V.N.; Luby, C.D., Steevens, B.J. 2006. Efficacy of different Lysigin™ formulations in the prevention of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in dairy heifers. *J. Dairy Res.* 73:10-19.
- National Mastitis Council. 2016. Recommended mastitis control program. www.nmconline.org. Pgs. 2.
- Neave, F.K., Dodd, F.H., Kingwill, R.G., Westgarth, D.R. 1969. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J. Dairy Sci.* 52:696–707
- Nickerson, S. C.; Owens, W.E.; Tomita, G.M. y Widel, P.W. 1999. Vaccinating dairy heifers with a *Staphylococcus aureus* bacterin reduces mastitis at calving. *Large Anim. Pract.* 20:16-28.
- Pol, M., Chaves, C.J., Maito, J., Tirante, L.I., Vena, M.M., Lagioia, G., Viano, D., Fandino, F., Barra, F., Tarabla, H.D., Calvino, L.F. 2008. Eficacia de una vacuna polivalente conteniendo *Escherichia coli* J5. *Vet. Arg.* 245:331-342.
- Prenafeta, A.; March, R.; Foix, A.; Casals, I., Costa, L. 2010. Study of the humoral immunological response after vaccination with a *Staphylococcus aureus* biofilm-embedded bacterin in dairy cows: possible role of the exopolysaccharide specific antibody production in the protection from *Staphylococcus aureus* induced mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 134:208-217.
- Rainard P., Riollet, C. 2006. Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res.* 37:369-400.
- Schalm, O.W., Carroll, E.J., Jain, N.C. 1971. Bovine Mastitis. p. 360. Lea y Febiger. Philadelphia.
- Schukken Y.H., Günther, J., Fitzpatrick, J., Fontaine, M.C., Goetze, L., Holst, O., Leigh, J., Petzl, W., Schuberth, H.J., Sipka, A., Smith, D.G., Quesnell, R., Watts, J., Yancey, R., Zerbe, H., Gurjar, A., Zadoks, R.N., Seyfert, H.M. 2011. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Vet Immunol. Immunopathol.* 144:270-289.
- Schukken, Y.H., Bronzo, V., Locatelli, C., Pollera, C., Rota, N., Casula, A., Testa, F., Scaccabarozzi, L., March, R., Zalduendo, D., Guix, R., Moroni, P. 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J Dairy Sci.* 97:5250-64.
- Sordillo, L.M., Streicher, K.L. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 7: 135-146
- Todhunter, D.A., Smith, K.L., Hogan, J.S. 1995. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 78:2366-2374.
- Tyler, J., Spears, H., Nelson, R. 1992. Antigenic homology of endotoxin with a coliform mastitis vaccine strain, *Escherichia coli* O111:B4 (J5). *J. Dairy Sci.* 75:1821-1825.
- Wellnitz, O., Bruckmaier, R.M. 2012. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet J.* 192:148-52.

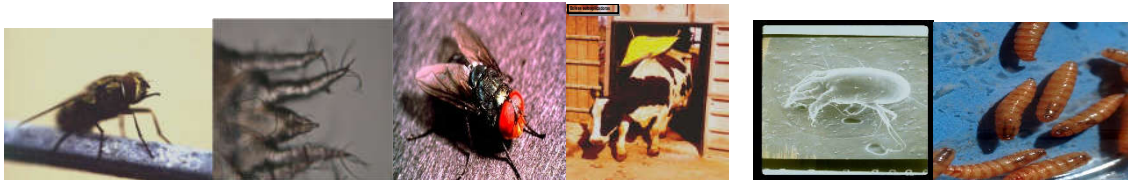
- Wilson, D.J., González, R.N. 2003. Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis. *Vet. Clin. Food Anim.* 19:187-197.
- Wilson, D.J., Mallard, B.A., Burton, J.L., Schukken, Y.H., Gröhn, Y.T. 2007. Milk and serum J5-specific antibody responses, milk production change, and clinical effects following intramammary *Escherichia coli* challenge for J5 vaccinates and control cows. *Clin. Vaccine Immunol.* 14:693-699.
- Wilson, D.J., Mallard, B.A., Burton, J.L., Schukken, Y.H., Gröhn, Y.T. 2009. Association of *Escherichia coli* J5-specific serum antibody responses with clinical mastitis outcome for J5 vaccinate and control dairy cattle. *Clin. Vaccine Immunol.* 16:209-217.
- Zecconi, A., Calvino, L., Fox, L. 2006. *Staphylococcus aureus* intramammary infections. *Bulletin of the International Dairy Federation.* 408/2006. Pp 39. FIL-IDF.

GUÍA PARA EL CONTROL DE LOS PARÁSITOS EXTERNOS EN BOVINOS DE LECHE DEL ÁREA CENTRAL DE LA ARGENTINA

ANZIANI, O. S.^{1*}; SUAREZ ARCHILLA. G.¹

INTA EEA Rafaela. Área de Investigaciones en Producción Animal

**Autor de contacto:anziani.oscar@inta.gob.ar*



Prólogo

En esta guía se sintetiza la información actualmente disponible sobre el control de los parásitos externos de mayor importancia económica para los bovinos de leche del área central de Argentina. Se basa fundamentalmente en observaciones, investigaciones y experiencias desarrolladas durante treinta años en INTA Rafaela e intenta servir de referencia a veterinarios y otros profesionales asesores. El carácter genérico de la información brindada hace necesaria su adaptación a características regionales específicas y aún a las necesidades individuales de cada establecimiento. Se incluyen los ciclos de vida, los aspectos biológicos generales, su diagnóstico e identificación y se enfatiza en los aspectos relativos al control de los ectoparásitos bovinos de la región centro.

Debería ser considerado como un trabajo en desarrollo e indudablemente se harán necesarias versiones y actualizaciones futuras para la correcta utilización de la información por los servicios de extensión.

La información técnica específica de cada parásito se presenta en forma de fichas, que se irán incorporando periódicamente. Debido a que la resistencia de los artrópodos a los insecticidas y acaricidas constituye una de las principales limitantes a la sustentabilidad de este tipo de control, se

incluye la información documentada sobre el desarrollo actual de resistencia a los diferentes grupos químicos por cada parásito en particular. Las primeras tres fichas de la presente guía hacen referencia a los dípteros productores de miasis (*Cochliomyia hominivorax*) y hematófagos (*Haematobia irritans*, *Stomoxys calcitrans*) considerados de mayor importancia económica para los bovinos de la región centro, mientras que la cuarta comprende a los ácaros productores de la sarna bovina.

1.-MOSCA DE LAS BICHERAS (*Cochliomyis hominivorax*) (biología básica, importancia económica, aspectos epidemiológicos y control en bovinos de leche del área central de la Argentina)

Biología básica:

Cochliomyia hominivorax es un díptero que pertenece a la familia Calliphoridae que se caracteriza por la coloración verde-azulado metálica en el tórax de los ejemplares adultos. **En nuestro país, existen aproximadamente una veintena de especies de dípteros de esta familia con su coloración metálica, pero *C. hominivorax* es el único que actúa como un parásito obligatorio y productor de miasis.** El término miasis ha sido definido como la infestación de animales vertebrados vivos con larvas de dípteros, las cuales durante un cierto período se alimentan de los tejidos del hospedador. El género *Cochliomyia* incluye dos especies cuya distribución natural se encuentra restringida al continente americano, *C. macellaria* y *C. hominivorax*. La primera de estas especies desarrolla habitualmente sus fases larvarias en cadáveres o restos de carcasas y sólo participa como un eventual invasor secundario o agente facultativo de miasis alimentándose en los tejidos necrotizados de los bordes de las heridas. Por el contrario, *C. hominivorax* es un parásito obligado y si bien los adultos (Figura 1) son inofensivos y se alimentan de carbohidratos que aportan los jugos y néctar de los vegetales, las hembras oviponen sobre las heridas u orificios naturales y las larvas resultantes invaden los tejidos vivos alimentándose de ellos.

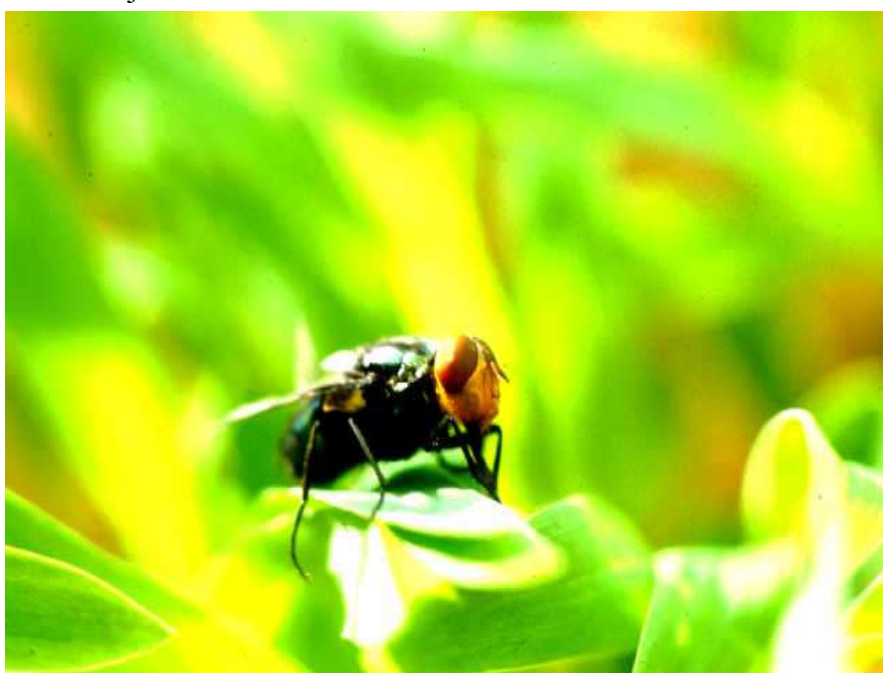


Figura 1. Hembra adulta de *Cochliomyia hominivorax* sobre vegetación

Aunque muchas de las heridas sobre las cuales ovipone *C. hominivorax* son el resultado de prácticas ganaderas como por ejemplo las provocadas durante la castración, descorne o la colocación de caravanas, otras infestaciones comúnmente comienzan en heridas naturales como los tejidos lacerados en la zona perianal durante el parto de las madres o en el ombligo no cicatrizado de los terneros recién nacidos. La oviposición se realiza en el borde seco de las heridas en masas planas y conocidas en el campo argentino como “queresas” (Figura 2)



Figura 2. Herida accidental en un ternero con masas de huevos (queresas) en sus bordes

La hembra realiza una media de cuatro oviposiciones siendo los sitios preferidos las heridas ya infestadas en las cuales la contaminación bacteriana (comúnmente *Escherichia coli* y *Proteus spp*) y los metabolitos resultantes producen estímulos olfatorios que aumentan la atracción para otras hembras grávidas. Estas infestaciones múltiples crean un círculo vicioso que puede terminar con la muerte de los animales si el hombre no interviene.

La eclosión de los huevos se produce entre las 11 y las 24 horas posteriores a la oviposición y las larvas comienzan a alimentarse inmediatamente de nacidas. La tasa de desarrollo de las mismas depende mayormente del tamaño de la herida y del número de larvas presentes. Luego de un período de alimentación que dura en promedio 6 días (rango = 4-8 días), las larvas abandonan el animal y se dejan caer al suelo (Figura 3) para enterrarse y comenzar al período de pupa. La longitud del período de pupa es extremadamente variable con rangos que oscilan entre los 7 días en verano y los 54 días en invierno, pero no existe una diapausa verdadera. Con temperaturas ambientales medias inferiores a los 10 °C, el ciclo de vida se interrumpe por alta mortalidad larvaria y pupal y las actividades normales como el vuelo o la alimentación comienzan a los 15 °C.

Una vez producida la emergencia de los adultos, a los pocos días se inicia la cópula y la hembra inseminada está lista para depositar su primera masa de huevos y comienza la búsqueda de un hospedador para oviponer. En la naturaleza el tiempo de vida de los adultos es de 14 a 21 días y

la dispersión de los mismos en busca de hospedadores puede superar ampliamente los 100 km dentro de una generación.



Figura 3. Larvas maduras de *Cochliomyia hominivorax* de siete días de edad y próximas a pupar.

Importancia económica:

Las infestaciones múltiples pueden llegar a ocasionar mutilaciones severas e incluso la muerte de animales masivamente parasitados como resultado

de infecciones secundarias y fenómenos de auto-toxicidad. Asimismo, a pesar del tratamiento específico temprano que evita la mortalidad, las miasis también pueden tener un impacto negativo productivo directo. Un estudio desarrollado en la EEA INTA Leales (Tucumán) en bovinos de carne indicó que, en terneros, las miasis predestete (como las producidas por la aplicación de caravanas) afectaron significativamente la tasa de crecimiento y la ganancia de peso al destete (Holgado & Cruz, 2004).

En toda la cuenca lechera del área central de Argentina, los partos que se presentan entre los meses de noviembre a mayo crean condiciones muy susceptibles para la oviposición de *C. hominivorax* en la vulva traumatizada de las madres, así como en los ombligos de los terneros. Estudios de INTA Rafaela indican que en ausencia de tratamientos insecticidas profilácticos hasta el 50 % de los terneros nacidos en estos meses pueden desarrollar miasis umbilicales y un número importante de éstos terminan desarrollando onfaloflebitis y artritis sépticas (Anziani, 2000).

Aspectos epidemiológicos y distribución en el área central de la argentina:

En gran parte de las áreas de nuestro país ubicadas al norte del paralelo 29° S, las miasis por *C. hominivorax* constituyen un problema sanitario durante todo el año. En áreas subtropicales, la tasa de crecimiento poblacional de este insecto se encuentra más relacionada a la densidad de hospedadores, a la disponibilidad de heridas para la oviposición y a la tasa de cicatrización de las

mismas que a parámetros climáticos como la temperatura. La tendencia a producir un constante número de casos en las regiones subtropicales se presenta en un estudio desarrollado durante tres años en la región noreste de Chaco (Cardona Lopez et al, 1994) en el cual los porcentajes de miasis fueron muy similares entre los meses de verano e invierno (23% y 21% respectivamente).

Por el contrario, en el área central de Argentina, las epizootias de miasis por *C. hominivorax* muestran un modelo marcadamente estacional con la mayor incidencia de casos en los meses más cálidos del año y con ausencia de los mismos durante el invierno (Anziani & Volpogni, 1996). Debido a que este insecto no desarrolla fenómenos de diapausa, la ausencia de casos durante la época invernal y la reaparición de los mismos en cada primavera, podría ser explicado por a) un enlentecimiento del ciclo de las poblaciones nativas que les permita sobrellevar el invierno o b) la migración anual del insecto desde el norte del país. Estudios realizados en INTA Rafaela bajo condiciones de campo y de laboratorio para establecer los efectos de factores climáticos sobre el ciclo biológico y distribución estacional del insecto en la cuenca lechera de la provincia de Santa Fe, indican que la segunda de estas opciones (migraciones) explicaría los nuevos casos observados en cada primavera (Anziani, 2000). Los resultados de estos estudios muestran que existe una alta mortalidad larvaria y de pupas en julio y agosto, así como ausencia de actividad reproductiva de los pocos adultos que podrían sobrevivir bajo condiciones excepcionales. La temperatura es la variable causal y en este contexto las bajas temperaturas invernales explican los severos cambios poblacionales. **Así, los casos de miasis por *C. hominivorax* que se presentan en forma de enzootias estacionales en el área central de Santa Fe, como en las otras áreas del centro de Argentina, son mayormente el resultado de migraciones expansivas desde las regiones subtropicales del país en las que este insecto permanece durante todo el año.** Estos fenómenos migratorios constituyen un componente importante en la estrategia de supervivencia de este díptero. La invasión de nuevos territorios en cada sucesiva generación explicaría el aumento rápido de las zonas ocupadas por *C. hominivorax* en el área central de Argentina a partir de cada primavera, en un modo similar a lo ocurrido en los E.E.U.U. antes de su erradicación. Se desconocen los efectos del cambio climático sobre la dinámica poblacional de *C. hominivorax*, pero es altamente probable que aumentos de la temperatura media favorezcan la sobrevida de este parásito en toda el área central de la Argentina durante los meses que actualmente resultan críticos para su sobrevida.

Control:

En Argentina, como en los demás países de la región Mercosur, el control de este díptero se realiza exclusivamente sobre las fases larvales a través de la aplicación de insecticidas sobre los hospedadores. Si bien la prevención y el tratamiento de las miasis es una de las prácticas más comunes en la producción bovina de la Argentina, es notoriamente escasa la documentación sobre la susceptibilidad de *C. hominivorax* a los diferentes grupos y formulaciones insecticidas. Paradójicamente, en la literatura veterinaria nacional existe más información publicada sobre el control químico de la mosca de los cuernos, *Haematobia irritans*, introducida en la Argentina en 1991, que sobre la prevención y tratamiento de heridas infestadas por *C. hominivorax* cuya presencia es tan antigua como la ganadería misma (Anziani y Suarez, 2013).

En los sistemas de producción de leche, la prevención de las miasis y/o su tratamiento se ve facilitado por el manejo frecuente de los animales lo cual permite una inspección constante y rápida intervención. Sin embargo, en las vacas en lactancia, la temática de los residuos adquiere cuidados muy especiales que deben considerarse al momento de utilizar los insecticidas. En este contexto, los insecticidas sistémicos como las avermectinas, de manifiesta practicidad y extendido poder residual, que son de uso común en rodeos de cría, resultan totalmente incompatibles en las categorías de vacas lecheras en lactancia o incluso en hembras con preñez avanzada. El uso de estas drogas en producción lechera está restringido estrictamente a la profilaxis de las heridas susceptibles en los terneros o en vacas secas que no superen el último tercio de gestación. En estos bovinos, si bien la ivermectina y abamectina muestran eficacia, la doramectina ha demostrado consistentemente ser la droga con mayor actividad y persistencia en experiencias llevadas a cabo con infestaciones inducidas y con desafíos experimentales homogéneos (Anziani et al 1996 y 2000). La administración profiláctica de esta droga a los terneros recién nacidos, es una práctica común en la cría bovina pero de relativa adopción en los tambos a pesar de la eficacia, seguridad y practicidad también para estos sistemas productivos (Figura 4).



Figura 4. Por su actividad contra las larvas de primer estadio la administración subcutánea de doramectina protege las heridas susceptibles (por ejemplo, umbilicales) por 10 a 12 días. La aplicación de doramectina a terneros en las primeras 24 horas de nacidos es una opción muy práctica, segura y efectiva para prevenir estas miasis.

En un estudio reciente en INTA Rafaela, se observó que 19 de 97 terneros nacidos entre diciembre 2014 y febrero 2015 desarrollaron miasis (mayormente en ombligos y orejas) a pesar de haber sido tratados con insecticidas locales (piretroides y fosforados) en pasta o aerosoles durante el primer día de nacidos. Esta situación derivó en el cambio de tratamientos preventivos por la administración inyectable de doramectina durante las primeras 48 horas de vida. La aplicación inyectable de esta droga redujo la incidencia de estas miasis al 0,6 % (1 ternero parasitado /161 nacidos) durante el período febrero-abril 2015 y diciembre 2015 - abril 2016. Una síntesis de estos resultados es presentada en el Gráfico 1. La acción sistémica de estos insecticidas muestra ventajas

importantes bajo condiciones de frecuentes lluvias (como las que caracterizaron este período de estudio) por lo cual los insecticidas locales suelen ser “lavados” o arrastrados con las precipitaciones. El contacto con el barro y el lamido de los terneros también disminuyen la permanencia y actividad de los insecticidas sobre las heridas y por lo tanto la vía de aplicación es probablemente el motivo de estas fallas más que las diferencias intrínsecas de eficacia insecticida entre las drogas (Figura 5).



Figura 5. En los sistemas de crianza grupal o bajo condiciones de precipitaciones altas se puede ver limitada seriamente la actividad de insecticidas aplicados en forma local.

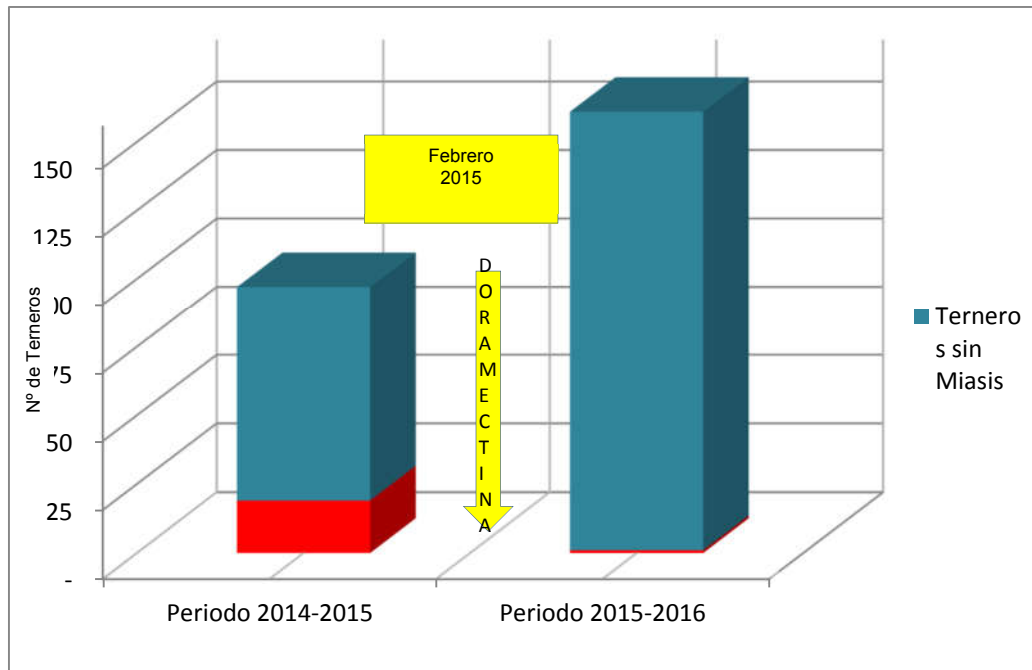


Grafico 1 Número de terneros afectados por miasis durante los primeros 12 días de vida. Evaluaciones efectuadas antes (diciembre 2014-febrero 2015) y después de la aplicación de doramectina (1ml/animal; subcutánea) dentro de las 24-48 horas de nacidos (febrero 2014- abril 2015 y diciembre 2015-abril 2016).

A pesar de su eficacia, las avermectinas sistémicas actualmente disponibles pueden prevenir el desarrollo de las miasis pero son poco activas en heridas ya infectadas y con presencia de larvas de segundo y tercer estadio. En estos casos los tratamientos curativos se basan en la aplicación local de pastas, líquidos, polvos o aerosoles de insecticidas fosforados, mayormente clorpirifos, coumaphos, diclorvos, fenitrothion, solos o en conjunto con piretroides, mayormente cipermetrina. Estos insecticidas aplicados localmente producen la expulsión de las larvas que mueren generalmente en el suelo, aunque algunas de las mismas pueden permanecer en este estado en el interior de las heridas. La eficacia de estas formas de aplicación local es muy variable y depende de la localización, profundidad y anfractuosidades de las heridas y de factores que pueden facilitar la remoción de los insecticidas como el sangrado, las lluvias, el lamido de los animales etc. Entre los fosforados, el coumaphos en polvo es el insecticida utilizado en las campañas de erradicación de este insecto y con el cual existe mayor información documentada sobre su eficacia (FAO 1992; Alexander 2006). En la Tabla 1 se presentan las características generales de los insecticidas registrados actualmente en nuestro país para la prevención y el tratamiento de las miasis causadas por *C. hominivorax* en bovinos.

Los tratamientos locales también presentan cierta acción profiláctica sobre las heridas susceptibles, pero en general su poder residual no supera los dos o tres días.

Tabla 1. Antiparasitarios registrados en Argentina para la prevención y el tratamiento de miasis bovinas causadas por *C. hominivorax* (ver nota para el lector en página 2 de la presente guía)

Grupo Químico	Aplicación	Ventajas	Desventajas	Poder Residual	Restricciones de Uso
Fosforados (clorpirifos, coumaphos, diclorvos, fenitrothion etc)	Local (pastas , polvos, spray, líquidos) *	El mismo producto puede ser utilizado en miasis activas (larvas de II y III estadio) ***	Requiere total inmovilización de los bovinos Persistencia sobre heridas muy variable	Menor a 3 días	Vacas en lactancia requieren período de retiro (variable para cada formulación comercial)
Piretroides (mayormente cipermetrina)	Local (pastas , polvos, spray, líquidos)*	El mismo producto puede ser utilizado en miasis activas (larvas de II y III estadio) ***	Requiere total inmovilización de los bovinos Persistencia sobre heridas muy variable	Menor a 3 días	Vacas en lactancia requieren período de retiro (variable para cada formulación comercial)
Avermectinas (doramectina con mayor actividad)	Inyectable (subcutánea)	Activas contra larvas I . Acción reducida en miasis activas (larvas de II y III estadio)	Facilidad de aplicación Persistencia constante (independiente de acciones externas)	De 10 a 12 días	No debe ser utilizada en vacas en lactancia o con preñez muy adelantada
Fenilpirazoles (Fipronil)	Spray	El mismo producto puede ser utilizado en miasis activas (larvas de II y III estadio) ***	Requiere total inmovilización de los bovinos Persistencia sobre heridas muy variable	No determinado ****	No debe ser utilizado en vacas en lactancia
Neonicotinoides (imidacloprid)	<i>Pour on</i> **	El mismo producto puede ser utilizado en miasis activas (larvas de II y III estadio)	No requiere total inmovilización de los bovinos Actividad contra otros dípteros (<i>Haematobia irritans</i>)	Menor a 4 días	No debe ser utilizado en terneros menores de 3 meses Período de retiro de 12 hs

* algunas formulaciones comerciales combinan fosforados + piretroides

** la formulación comercial contiene también cipermetrina

*** algunas formulaciones contienen antimicrobianos y cicatrizantes

**** existe una formulación *pour on* garrapaticida con actividad preventiva (aproximadamente 15 días) y curativa contra *C. hominivorax* pero con igual restricción de uso.

El tratamiento sugerido para heridas con larvas de segundo y tercer estadio es a) la aplicación de un insecticida local para provocar la expulsión inmediata de estas larvas y b) administración inyectable de doramectina (0,200 mgr/kgr) para proteger a la herida por 10 a 12 días y permitir la cicatrización de la misma.

Una nueva lactona macrocíclica, el spinosad, estuvo disponible en el mercado veterinario argentino como insecticida en aerosol pero actualmente su uso ha sido discontinuado. En experiencias llevadas a cabo en terneros, la droga mostró actividad en la prevención de heridas susceptibles, así como para el tratamiento de miasis ya instauradas (Anziani, 2006). Esta molécula presenta un mejor perfil de seguridad por su baja toxicidad para los mamíferos y por ende tiene ventajas importantes para su potencial uso en los sistemas de producción de leche convencionales u orgánicos (Snyder et al, 2005).

Debido a la facilidad con la cual los dípteros desarrollan resistencia a los insecticidas, existe preocupación sobre estos fenómenos en *C. hominivorax* ya que el control químico es la única alternativa actualmente disponible en toda América del Sur. Hasta el presente, estos fenómenos de resistencia a los insecticidas por este díptero prácticamente no se han documentado o su dispersión ha sido muy limitada. Sin embargo, durante el año 2.007, trabajos desarrollados por el laboratorio de Parasitología del INTA Rafaela en un establecimiento de cría de la provincia de Entre Ríos, demostraron una eficacia menor al 60 % de la doramectina (dosis convencional de 0,200 mgr/kgr) en la prevención de heridas post castración (Anziani 2007). En esta experiencia, larvas de tercer estadio obtenidas en los 10 días posteriores al tratamiento fueron capaces de pupar y emerger como adultos. Estas observaciones parecen indicar, al menos en esta región, la presencia de poblaciones de *C. hominivorax* que pueden estar desarrollando una menor susceptibilidad o mayor tolerancia a esta droga.

2- MOSCA DE LOS CUERNOS (*Haematobia irritans*) (biología básica, importancia económica, aspectos epidemiológicos y control en bovinos de leche del área central de la Argentina)

Biología básica:

La mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) es un díptero que parasita a los bovinos en pastoreo, alimentándose de la sangre y desarrollando las fases larvales y pupas en la materia fecal de éstos. Esta mosca, originaria de Europa, se distribuyó ampliamente en América y en Argentina. Los primeros ejemplares fueron detectados en la provincia de Misiones en 1991 (Luzuriaga *et al*, 1991) y rápidamente se dispersó en todas las áreas del centro norte del país, en las cuales la producción bovina es de importancia económica (Anziani *et al*, 1993). El tamaño de los adultos es de aproximadamente la mitad de la mosca doméstica común, ambos sexos son hematófagos y permanecen constantemente sobre los bovinos (Figura 1) al cual abandonan solamente para colocar los huevos en la materia fecal fresca.



Figura 1. Adultos de *Haematobia irritans* sobre un bovino Holando

Los huevos eclosionan dentro de las 24 horas dando lugar a las larvas que se alimentan en la materia fecal y en menos de una semana dan lugar a las pupas. Éstas permanecen en la materia fecal o a pocos centímetros bajo la superficie del suelo y luego de un período variable de 8 a 40 días, dependiendo más de la temperatura ambiente que del foto-período, las pupas se transforman en insectos adultos, los que inmediatamente buscan un nuevo bovino para comenzar a alimentarse y reiniciar el ciclo (Figura 2). **Para el área central de la Argentina, todo el ciclo puede llegar a completarse en aproximadamente 10 a 14 días en el verano, mientras que en el otoño comienza a enlentecerse y en el invierno, parte de la población de *H. irritans* puede entrar en diapausa bajo la forma de pupa y el resto continuar en desarrollo (Guglielmo *et al*, 2002).**

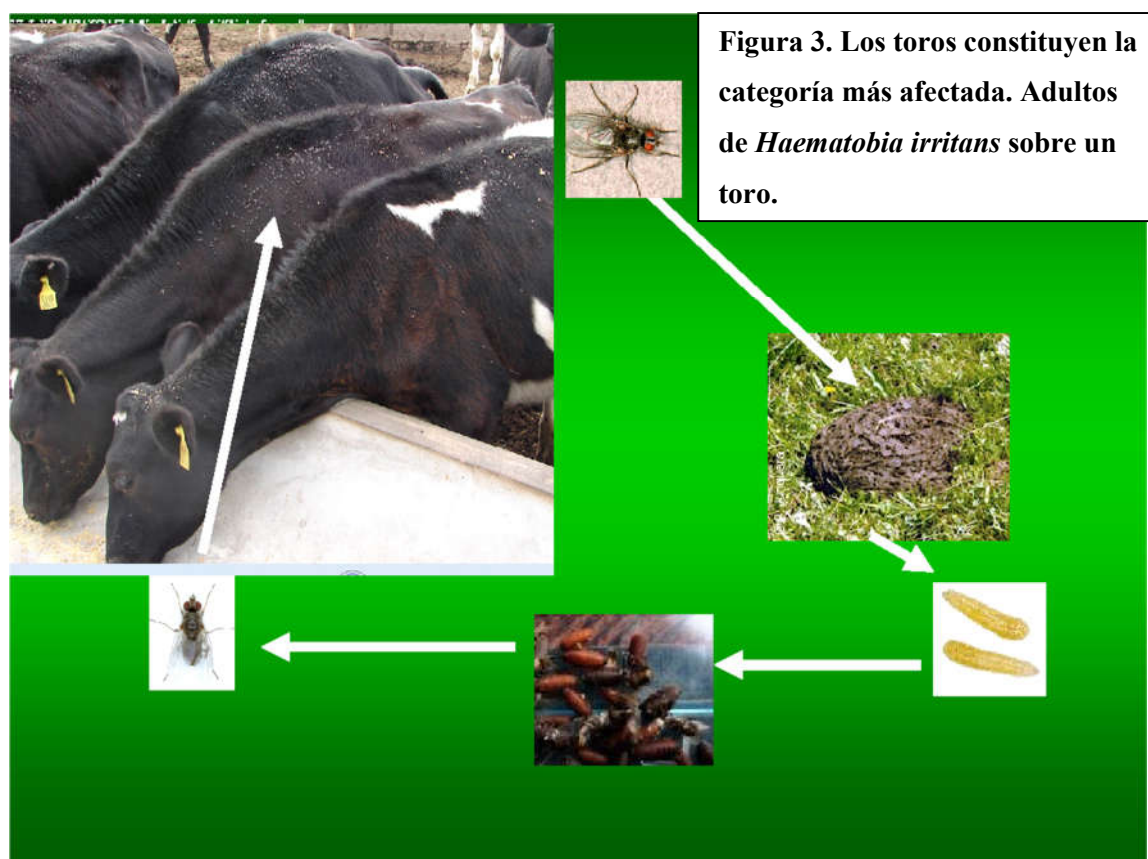


Figura 3. Los toros constituyen la categoría más afectada. Adultos de *Haematobia irritans* sobre un toro.

Figura 2. Ciclo de vida de la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*)

La disrupción de la materia fecal por el pisoteo de los animales o por medios mecánicos interfiere con el ciclo por lo cual es un parásito que se observa en condiciones extensivas y semi-extensivas. Sobre los bovinos, los insectos adultos adoptan una característica posición con la cabeza hacia abajo plegando sus alas cuando se alimentan (Figura 1). **La mosca de los cuernos prefiere alimentarse de animales adultos (en especial los de pelaje oscuro) y dentro de esta categoría las mayores cargas parasitarias se observan en los toros, siendo común en estos hospedadores poblaciones que superan las 2.000 moscas por animal (Anziani, 2010).**

En ausencia de bovinos o cuando existen poblaciones numerosas, *H. irritans* puede parasitar a los equinos y en estos casos se la puede observar en forma agregada o de racimos compactos, que generalmente no superan una carga de 300 insectos por animal, pero que pueden ocasionar dermatitis y úlceras superficiales y pruriginosas (Anziani, 2010).

Importancia económica:

Los hábitos de alimentación de la mosca de los cuernos producen manifestaciones defensivas de los bovinos (movimientos bruscos y constantes de la cabeza y la cola, patadas), **ocasionando estrés, irritación severa, pérdidas de energía y la disrupción del pastoreo que pueden causar disminución en la ganancia de peso o en la eficiencia en la conversión del alimento.** Algunos bovinos presentan fenómenos alérgicos frente a la saliva de la mosca de los cuernos y en ocasiones, el prurito y el rascado excesivo resultan en úlceras. Las dermatitis producidas también afectan la calidad de los cueros ocasionando pérdidas para la industria curtidora nacional.

El nivel o umbral de daño con el cual comienzan estas pérdidas económicas no está determinada con precisión y es motivo de controversias. No obstante, existe consenso para considerar que la disminución de la eficiencia productiva es de mayor importancia en animales altamente sensibles a cualquier tipo de estrés como por ejemplo, las vacas en lactancia.

En bovinos de leche se considera que poblaciones mayores a 100 insectos por animal pueden afectar la producción de leche en vacas lactando mientras que poblaciones de 200 moscas por animal pueden disminuir la eficiencia en la conversión del alimento en otras categorías como por ejemplo vacas secas, vaquillonas o novillos (Anziani & Guglielmone, 2007). Así mismo, *H. irritans* puede jugar un rol muy importante en la transmisión de mastitis por *Staphylococcus aureus* (Owens *et al*, 1998 y 2002). **En las horas de mayor temperatura, *H. irritans* tiende a localizarse en la línea media ventral (Figura 3) y al alimentarse puede producir atresia y laceraciones (Figura 4) sobre los pezones (Edwards *et al*, 2000)**



Figura 3. *Haematobia irritans* sobre glándula mamaria y pezones



Figura 4. Pezones con lesiones producidas por *Haematobia irritans* (gentileza Dr. Stephen Nickerson).

Estas lesiones son colonizadas por bacterias que eventualmente pueden entrar al tejido mamario en desarrollo. Así la presencia de estas moscas y las lesiones resultantes han sido asociadas a porcentajes elevados de mastitis por *S. aureus* en vaquillonas de leche (Gillespie *et al*, 1998; Nickerson 2011a; Ryman *et al*, 2013). Estudios de campo han demostrado, al menos en EE.UU., que el control químico de este insecto en vaquillonas resulta en una rápida cicatrización de las lesiones

de pezón y en una menor prevalencia de infecciones intra-mamarias causadas por esta bacteria. En este contexto se han informado disminuciones del 83 % en la incidencia de nuevas infecciones por *S. aureus* en vaquillonas tratadas intensivamente con insecticidas durante los meses cálidos del año (Nickerson, 2011a). **Se ha sugerido que las poblaciones de este insecto podrían explicar, al menos parcialmente, el incremento en los casos de mastitis así como en el aumento de los conteos de células somáticas en el período estival** (Nickerson, 2011b). En nuestro país no existen estudios específicos al respecto.

Aspectos epidemiológicos y distribución en la Argentina

Desde su introducción en la Argentina a través de Brasil o Paraguay, este insecto colonizó rápidamente el área de producción bovina del NEA y el NOA, dispersándose luego sobre todo el país y alcanzando en 1993 la Patagonia norte. Los registros más australes corresponden a la latitud 49 ° 14'S, Puerto San Julián provincia de Santa Cruz, (AER INTA San Julián, datos no publicados). Una muestra del importante potencial biótico de *H. irritans* se observó en la provincia de Santa Fe cuyo territorio de 133.007 km², con aproximadamente 6.000.000 de cabezas, fue colonizado en un período de seis meses. **En la cuenca lechera del área central de la Argentina, la mosca de los cuernos comienza a constituir poblaciones de importancia hacia octubre-noviembre disminuyendo drásticamente las mismas con las primeras heladas. Estudios llevados a cabo en la EEA INTA Rafaela, demuestran que en esta etapa se producen dos picos poblacionales (uno entre mediados y fin de la primavera y el otro entre el final del verano y el comienzo del otoño).** La temperatura parece ser la variable determinante de los movimientos poblacionales en el comienzo (fin del invierno) y el final de la estación (mediados de otoño) de *H. irritans* (Guglielmone *et al*, 2001). Se desconoce para el área central de la Argentina, qué proporción de la población entra en diapausa. Sin embargo, nunca se producen largos períodos con ausencia de este insecto, e incluso en el invierno se pueden observar porcentajes de infestación cercanos al 50 % de los bovinos. Es probable que exista una baja proporción de la población en una verdadera diapausa, pero que el ciclo biológico resulte más lento en los meses más fríos y se acorte con el aumento de las temperaturas medias en cada nueva primavera.

Control

La permanencia constante de la mosca de los cuernos sobre los bovinos ha permitido el desarrollo de diversas alternativas químicas y métodos de aplicación (baños de inmersión y aspersion, inyectables, pour on, caravanas insecticidas, auto-aplicadotes etc.) que controlan en forma eficiente a este insecto. **Sin embargo, la simple presencia de la mosca de los cuernos no implica la necesidad de realizar tratamientos insecticidas y los bovinos pueden tolerar cierto número de insectos sin que se produzcan pérdidas productivas. Así, la primera de las alternativas que debería considerarse es la posibilidad de no tratar.**

En el caso de utilizar insecticidas, en el pasado reciente se recomendó adoptar una actitud expectante y demorar la aplicación de los mismos hasta que se observen promedios de aproximadamente unas 100 y 200 moscas en bovinos en lactancia o en las categorías secas respectivamente o cuando los animales muestren signos de marcada irritabilidad, independientemente

de la carga parasitaria (Anziani *et al*, 1996). No obstante y como se indicara previamente, además de las pérdidas productivas económicas directas, existe creciente información documentada sobre la importancia de este insecto como potencial vector de *S. aureus* en vaquillonas de biotipos lecheros (y probablemente también en vacas en lactancia). En este contexto, el nivel poblacional que podría permitir la transmisión de esta bacteria entre vaquillonas se ubicaría en aproximadamente 50 moscas por animal (Owens *et al*, 2011). Por otra parte, e independientemente de razones económico-productivas, los tratamientos específicos podrían estar indicados en situaciones en las cuales el bienestar animal se encuentre comprometido.

Los principales grupos químicos actualmente disponibles en Argentina para el control de la mosca de los cuernos y las formas de administración de estos insecticidas, son presentados en la Tabla 1. Algunas de estas alternativas (por ejemplo fenilpirazoles y lactonas macrocíclicas) no son utilizadas únicamente para el control de la mosca de los cuernos sino que tienen como objetivos a otros parásitos, pero presentan también actividad adicional contra este insecto.

Tabla 1. Grupos químicos disponibles en Argentina con actividad sobre la mosca de los cuernos y sus formas de aplicación.

Grupo Químico	Forma de aplicación	Comentarios
Piretroides	<i>Pour on</i> , baños (aspersión e inmersión)	Resistencia generalizada en área central de la Argentina. Uso actualmente no recomendado para el control de este insecto
Fosforados	<i>Pour on</i> , caravanas, bolsas auto-aplicadoras, baños (inmersión y aspersión)	Grupo químico más utilizado actualmente en nuestro país. Los baños resultan en un corto período de protección
Carbamatos (carbaril)	Bolsas auto-aplicadoras	Uso esporádico en nuestro país
Neonicotinoides (imidacloprid)	<i>Pour on</i>	Formulación comercial disponible combinada con cipermetrina y el sinergista butóxido de piperonilo
Fenilpirazoles (fipronil)	<i>Pour on</i>	Uso primario: control de garrapatas pero con actividad contra <i>H. irritans</i> (fipronil)
Reguladores del crecimiento de insectos (metoprene o diflubenzuron)	Adicionados al agua de bebida	Exclusivamente larvicida (metoprene)
Lactonas macrocíclicas	Inyectables y <i>pour on</i>	Uso primario: control de nematodos y garrapatas pero con actividad contra <i>H. irritans</i>

Control químico y consideraciones sobre la resistencia

La aplicación *pour on* de insecticidas piretroides, mayormente cipermetrina, fue durante la década posterior a su ingreso a la Argentina el método para el control de este insecto más utilizado debido a su practicidad y eficacia. Desde 1991 hasta inicios del año 2000, el período de protección de esta alternativa resultaba en un control eficiente por aproximadamente 60 días. Sin embargo, el desarrollo generalizado de los fenómenos de resistencia a los piretroides obligó en la mayor parte del área central de nuestro país al reemplazo de estos insecticidas por otros grupos químicos como por ejemplo, los fosforados. Actualmente, este último grupo químico es sin dudas el más empleado para el control de las poblaciones de *H. irritans* resistentes a los insecticidas piretroides.

Entre las alternativas evaluadas en la EEA INTA Rafaela utilizando productos fosforados, las más adaptadas (pero no necesariamente más adoptadas) a la producción lechera de la región centro de nuestro país son: a) la auto-aplicación de fosforados y carbamatos a través de bolsas auto-aplicadoras (Figura 5); b) la aplicación de caravanas insecticidas conteniendo fosforados (Figura 6) y c) la aplicación *pour on* de fosforados o imidacloprid (Figura 7). En la Tabla 2 se sintetizan las principales ventajas y desventajas de estas opciones.

A diferencia de lo ocurrido en EE.UU. donde se ha reportado marcada resistencia hacia algunos insecticidas organofosforados como por ejemplo caravanas conteniendo diazinon (Barros et al, 2001; Oyarzun et al, 2008), hasta el presente (mayo 2017) no ha sido documentada aún la presencia de poblaciones de *H. irritans* con resistencia a este grupo químico en la Argentina. En observaciones llevadas a cabo en la EEA INTA Rafaela durante el período diciembre 2016 a marzo 2017 y utilizando caravanas conteniendo diazinón en vacas lecheras, se observó un período de protección de al menos 16 semanas, el cual es prácticamente el mismo al observado quince años atrás con este mismo método y principio activo de control.



Figura 5: Bolsas auto-aplicadoras conteniendo insecticidas (fosforados o carbamatos)



Figura 6: Aplicación de caravanas insecticidas (fosforados)



Figura 7: Aplicación *pouron* de insecticidas (piretroides, fosforados o imidacloprid)

a) La aplicación de fosforados o carbamatos a través de bolsas auto-aplicadoras: si bien es una alternativa práctica y económica, esta forma de tratamiento ha sido pobremente adoptada para el control de este insecto en bovinos de leche de nuestro país. Una de sus limitantes es el uso restringido a las categorías en lactancia ya que estas bolsas con orificios en su parte inferior, se colocan suspendidas inmediatamente a la salida de la sala de ordeño para aprovechar el paso forzado de las vacas, las que al contactar con las mismas se auto-aplican el insecticida en polvo sobre la cabeza, columna vertebral y flancos. Para garantizar la eficacia de estas bolsas auto-aplicadoras se ha recomendado que los animales tomen contacto con las mismas en forma diaria. No obstante, experiencias llevadas a cabo en la EEA INTA Rafaela indican que el control que se logra con el uso intermitente cada 5 ó 7 días es generalmente suficiente para mantener el número de moscas por debajo del nivel probable de daño económico. Cuando las vacas tomaron contacto durante dos ordeños consecutivos con una bolsa conteniendo coumaphos al 1 % con una frecuencia de 5 días entre los tratamientos se observó que el número de insectos sobre estos bovinos era de 0 a 16 moscas por animal. Por el contrario, durante este período el número promedio de moscas sobre las vacas secas del mismo rodeo que permanecieron como animales controles sin tratamiento osciló entre 103 a 200 moscas por animal (Anziani *et al*, 1996).

b) Caravanas insecticidas: las caravanas insecticidas con fosforados, consisten básicamente en una matriz de un polímero, generalmente P.V.C., conteniendo diazinon, ethion o clorpirifos (o combinaciones) en concentraciones que varían generalmente entre 20 al 40 %. Las caravanas son diseñadas para que con el acicalado y el frotado de los bovinos, el insecticida se distribuya sobre el pelaje de los animales en cantidades pequeñas y por un tiempo prolongado, facilitado por la liposolubilidad de estas drogas y por la habilidad de migrar a través de la lanolina de los pelos. Algunas de estas caravanas pueden utilizarse sin restricciones en vacas lecheras (dependiendo del

insecticida fosforado y su concentración) mientras que otras son restringidas a las categorías secas o a bovinos de carne.

De acuerdo a evaluaciones efectuadas en la EEA INTA Rafaela y en bovinos expuestos a poblaciones de campo con antecedentes de resistencia a insecticidas piretroides, la actividad de las caravanas comienza a manifestarse al día siguiente a su aplicación para hacerse máxima en los 7 a 10 días posteriores. A partir de aquí y por un período mínimo de 15 a 16 semanas y de 18-19 semanas de máximo se observan con estos insecticidas fosforados reducciones del número de insectos que oscilan entre el 99 % y el 80 % cuando se comparan con animales no tratados (Anziani *et al*, 2000). Debido a su practicidad y prolongada persistencia, esta tecnología de polímeros con insecticidas fosforados constituye una interesante alternativa para el control de poblaciones de este insecto. Presentan también una mayor seguridad relativa cuando se considera la posibilidad de accidentes por derrame o ingestión con respecto a otras alternativas como pueden ser la aplicación de insecticidas líquidos. No obstante, **se hace necesario que estos programas de control con caravanas insecticidas enfatizen en la extracción de las mismas luego de que expire el período de acción para disminuir los riesgos en el desarrollo de los fenómenos de resistencia.** Este es un punto extremadamente importante como lo demuestran las siguientes observaciones realizadas en uno de estos estudios con caravanas conteniendo ethion 36 % (Anziani *et al*, 2000). Cuando se registró el peso de cada caravana al inicio del estudio el mismo fue de aproximadamente 15g mientras que luego de cuatro meses de colocadas sobre los bovinos éste descendió a unos 11g. De modo tal que después de los cuatro meses las caravanas ya no son efectivas para controlar la mosca de los cuernos pero aún retienen más del 50 % del insecticida. Este insecticida remanente que permanece atrapado en el polímero se va a liberar en cantidades muy pequeñas, a una tasa distinta a la que lo venía haciendo durante el período de actividad de las caravanas. En este contexto, si no se extraen estas caravanas, el insecticida se va a continuar liberando en dosis tan pequeñas que no van a permitir el control de la mosca de los cuernos y por el contrario, favorecerán el desarrollo de resistencia contra este grupo químico.

Finalmente, debería considerarse que las caravanas conteniendo insecticidas fosforados son alternativas fácilmente adaptables para ser utilizadas en todas las categorías, pero de baja eficacia para controlar a la mosca brava (*Stomoxys calcitrans*) otro de los insectos que también parasitan frecuentemente al ganado lechero (Guglielmone *et al*, 2004).

c) Aplicación pour on de insecticidas: en general, las formulaciones para uso *pour on* de fosforados sobre los bovinos (ethion, diazinon, clorpirifos, fenitrothion etc.) otorgan un control químico eficiente (> 80 %) por el término de aproximadamente 18 a 25 días post aplicación. Actualmente, la mayoría de estas formulaciones *pour on* disponibles en nuestro país se presentan como mezclas que incluyen también junto a los fosforados, insecticidas piretroides, mayormente cipermetrina a los cuales se les adiciona el butóxido de piperonilo como sinergista. El uso combinado de dos grupos químicos con diferente modo de acción, como fosforados y piretroides podría ser de utilidad para demorar el desarrollo de resistencia en áreas o establecimientos en donde aún no se presentan estos problemas o en casos donde se desconoce el *status* de susceptibilidad o resistencia de las poblaciones del insecto. Sin embargo y dada la resistencia generalizada de la mosca de los cuernos a los piretroides en el área

central de la Argentina (Guglielmone, 1999 b; Anziani, 2010) es dudoso que la incorporación de cipermetrina pueda mejorar la eficacia de estas mezclas y por el contrario, continuar con su uso, implica aumentar la resistencia a este grupo químico. En el 2009 se incorporó al mercado veterinario argentino una formulación de uso *pour on* que incluye el imidacloprid, con un período de eficacia en el control de aproximadamente 30-35 días (EEA INTA Rafaela, datos no publicados). Este producto, en su formulación *pour on*, se presenta como una mezcla que incluye también a la cipermetrina y las objeciones sobre el uso de este tipo de combinación expresada en el párrafo anterior, son extensivas a este caso.

d) otras alternativas de control: el uso de formulaciones larvicidas neurotóxicos como las lactonas macrocíclicas o los fosforados (Anziani *et al*, 2001; Anziani & Martinez, 2011) o reguladores del crecimiento de insectos como el diflubenzuron o el metoprene (Flores *et al*, 1998) han sido ensayadas o están disponibles comercialmente en el mercado veterinario argentino. La administración de estos productos puede hacerse en forma inyectable (doramectina), a través de la auto-incorporación de los mismos como aditivos en la ración (fosforados), en el agua o incluso en forma forzada con bolos intra-ruminales (diflubenzuron). Su eficacia es muy alta pero restringida exclusivamente a los estadios inmaduros que se desarrollan en la materia fecal de los animales tratados y por lo tanto no son adulticidas.

Tabla 2. Ventajas y desventajas comparativas de las opciones más adoptadas en Argentina para el control químico de la mosca de los cuernos

Método de aplicación	Ventajas	Desventajas
Bolsas auto-aplicadoras: - fosforados = coumaphos - carbamatos	menor costo práctica administración sobre los animales (< estrés)	* uso restringido a categorías en lactancia
Caravanas insecticidas - fosforados = ethion, diazinon, clorpirifós	* muy eficaces y con > persistencia (12-16 semanas de actividad) *escasa posibilidad de accidentes *sin período de restricción a faena	* mayor costo relativo *requiere inmovilizar (encepar) para aplicar las caravanas *necesitan ser removidas al finalizar período de eficacia *algunos productores pueden objetar el triple caravaneo (identificadoras propias + trazabilidad + insecticidas)
Formulaciones <i>pour on</i> - Fosforados (+ cipermetrina) - imidacloprid (+ cipermetrina)	* menor costo *no requiere inmovilizar a los bovinos *rápida y fácil administración sobre los animales (< estrés)	*menor persistencia *períodos de restricción a faena * en general los insecticidas líquidos pueden requerir mayores cuidados en su manejo para evitar accidentes

BIBLIOGRAFÍA

- Alexander J.L (2006). Screwworms. *Journal American Veterinary Medical Association*. 228:357-367.
- Anziani O.S., Volpogni M.M. (1996). Incidence of bovine myiasis (*Cochliomyia hominivorax*) in the central area of Argentina. Vector-Borne Pathogens: International Trade and Tropical Animal Diseases. *Annals of the New York Academic of Science*. 791: 432-433
- Anziani O.S., Guglielmone A A., Aguirre D.H. (1996). Larvicidal activity of abamectin against natural *Cochliomyia hominivorax* larvae infestation. *Annals of New York Academic of Science*.791: 443-444.
- Anziani O.S. (2000). Contribución al conocimiento de la epidemiología y el control del dípteroproductor de miasis *Cochliomyia hominivorax*. *Universidad de Buenos Aires, tesis doctoral* 101 pp.
- Anziani O.S., Flores S.G., Moltedo H., Guglielmone A.A., Derozier C., Zimmermann G., Waneko. (2000). Persistent activity of doramectin and ivermectin in the prevention of cutaneous myiasis incattle experimentally infested with *Cochliomyia hominivorax*. *Veterinary Parasitology*. 87: 243-247.
- Anziani O.S.(2006). Consideraciones sobre la epidemiología y el control de *Cochliomyia hominivorax*. 1º Jornada Nacional de Ectoparasitología Veterinaria Universidad Nacional del Nordeste Corrientes. *Compendio de trabajos e investigaciones. EEA INTA Rafaela. rafaela.inta.gov.ar/info/documentos/anuarios/anuario2006/index.htm*
- Anziani O.S.(2007). Avermectinas y miasis por *Cochliomyia hominivorax*. Eficacia disminuida en un establecimiento de la provincia de Entre Ríos. *Compendio de trabajos e investigaciones. EEA INTA Rafaela. Publicación Miscelanea* 111 :18.
- Anziani O.S. & Suarez V. (2013). Capítulo 24. Epidemiología y control de dípteros en estado adulto y larvario en el area central de la Argentina. Capítulo 24. *En : Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes*. Cesar Fiel y Armando Nari (eds). Editorial Hemisferio Sur. 541-569.
- Anziani O.S., Guglielmone A.A., Signorini A.R., Aufranc C. & Mangold A.J. 1993. *Haematobia irritans* in Argentina. *The Veterinary Record*. 132, 23: 588.
- Anziani O.S., Guglielmone A.A., Flores S.G. & Vologni M.M. 1996. El control químico de la mosca de los cuernos en bovinos de carne y leche de la provincia de Santa Fe. INTA Centro Regional Santa Fe. Producción Animal, EEA Rafaela. Información Técnica N° 129, 6pp, Marzo 1996.
- Anziani O.S., Zimmermann G., Guglielmone A.A., Forchieri M., Volpogni M.M. 2000. Evaluation of insecticide ear tags containing ethion for control of pyrethroid resistant *Haematobia irritans* (L.) on dairy cattle. *Veterinary Parasitology* 91: 147-151.
- Anziani O.S., Flores S.G. & Guglielmone A.A. 2001. Activity of injectable doramectin against *Haematobia irritans* in cattle. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 9: 115-118.

- Anziani O.S. & Guglielmone A.A. 2007. El control de Parásitos Bovinos en Producción de Leche. En: Idia XXI Lechería. Ed. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (Argentina) 186 pp
- Anziani O.S. 2010. Guía Técnica Ganadera. Control de los Parásitos externos en Bovinos de Carne del Área Central de la Argentina. Edición 2010. Proyecto Regional Ganadero. Centro Regional Santa Fe INTA FichaN° 2. Mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*). Biología. Importancia económica. Aspectos epidemiológicos y tendencias estacionales en el área central de la Argentina. Control. <http://www.inta.gov.ar/rafaela/>
- Anziani O.S. & Martinez I. 2011. Evaluation of tetraclorvinphos as a feed –through insecticida for the control of horn fly (Diptera : Muscidae) developing in cattle manure. Proceedings 23rd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. pp 151.
- Barros, A.T.M. ; Ottea, J. ; Sanson, D. & Foil, L.D. 2001. Horn fly (Diptera: Muscidae) resistance to organophosphate insecticides. *Veterinary Parasitology* 96: 243-256.
- Cardona Lopez G.A., Balbuena O., Luciani C.A. (1994). Miasis del ganado en la región noreste de la Provincia del Chaco. *Veterinaria Argentina* 11: 305-313.
- Edwards JF, Wikse SE, Field RW, Hoelscher CC&Herd DB. 2000. Bovine teat atresia associated with horn fly (*Haematobia irritans irritans* (L.))-induced dermatitis. *Veterinary Pathology* 37: 360-364.
- FAO. (1995). Insecticidal Control of the New World SCREWORM. SCNA/INT/001/MUL. 34 pp.
- Flores, S. 1998. Eficacia y persistencia de bolos intra-ruminales de diflubenzuron para el control de la mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*) en vacas lecheras del centro oeste de la provincia de Santa Fe. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Tesis de grado. pp 47.
- Gillespie, B. E., W. E. Owens, S. C. Nickerson, and S. P. Oliver. Deoxyribonucleic acid fingerprinting of *Staphylococcus aureus* from heifer mammary secretions and from horn flies. *Journal of Dairy Science*. 82 :1581-1585. 1999.
- Guglielmone A.A., Gimeno E., Idiart J., Fisher W.F., Volpogni M.M., Quaino O., Anziani O.S., Flores S.G. & Warnke O. (1999 a). Skin lesions and cattle hide damage from *Haematobia irritans* infestations in cattle. *Medical & Veterinary Entomology*. 13: 323-32
- Guglielmone A.A., Castelli M.E., Volpogni M.M., Anziani O.S. & Flores S.G. (1999 b) Cypermethrin pour on synergized with piperonyl butoxide: effects on *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) natural populations resistant to cypermethrin. *Veterinary Parasitology*83: 65-72.
- Guglielmone A.A., Volpogni, M.M., Quaino O.R., Anziani O.S. & Mangold J.A. . (2001). Long term study of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) seasonal distribution in central Argentina with focus on winter fly abundance. *Parasite* 8: 369-373.
- Guglielmone A.A., Castelli M.E. , Volpogni M.M., Anziani O.S. & Mangold J.A. . (2002). Dynamics of cypermethrin resistance in the field in the horn fly, *Haematobia irritans*. *Medical & Veterinary Entomology* 16: 310-315.

- Guglielmone A.A. , Volpogni M.M., Quaino O.R., Anziani O.S. & Mangold A.J. 2004. Abundance of stable flies on heifers treated for control of horn flies with organophosphate impregnated ear tags. *Medical and Veterinary Entomology* 18:10-13
- Holgado F.D. & Cruz L. (2004). Efecto de las miasis en la ganancia pre-destete de terneros. *Resúmenes SA 2. 27° Congreso Argentino de Producción Animal*
- Luzuriaga R. , Eddi C., Caracostantogolo J., Botto E. & Pereira J. 1991. Diagnóstico de parasitación con *Haematobia irritans* en bovinos de Misiones, República Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria (Buenos Aires)* 72: 262-263.
- Nickerson S.C. 2011 a. Managing mastitis in heifers: an initial step in improving dairy herd health. *Animal & Dairy Science Reports*. Department animal and Dairy Science, College of Agricultural and Environmental Science. University of Georgia. 21 pp
- Nickerson S.C. 2011 b. Fly control: an important adjunct to standard mastitis management practices for improving udder health and milk quality. *Animal & Dairy Science Reports*. Department animal and Dairy Science, College of Agricultural and Environmental Science. University of Georgia. 2 pp
- Oyarzun M.P., Quiroz A. & Birkett A. 2008. Insecticide resistance in the horn fly: alternative control strategies. *Medical & Veterinary Entomology* 22: 188-202.
- Owens W.E., Oliver S.P., Gillespie B.E., Ray C.H., Nickerson S.C 1998. Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. *American Journal Veterinary Research* 59):1122-1224.
- Owens W. E., Nickerson S.C. & Ray C. H. 2002. Effects of a pour-on and fly tag insecticide combination in controlling horn flies and *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy heifers. *Journal of Animal & Veterinary Advances*. 1: 200–201.
- Owens W. E., Ray C.H., Nickerson S.C. 2011. Efficacy of a pour on and fly tag insecticide combination for the control of horn flies and *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy heifers. *Animal & Dairy Science Reports*. Department animal and Dairy Science, College of Agricultural and Environmental Science. University of Georgia. 5 pp.
- Ryman V.E., Nickerson S.C., Hurley D.J., Berghaus R.D., Kautz F.M. 2013. Influence of horn flies (*Haematobia irritans*) on teat skin condition, intramammary infection, and serum anti-*S. aureus* antibody titres in holstein heifers. *Research Veterinary Science* 95:343-346.
- Snyder D.E., Lower L.B., Rothwell J.T., Arantes G., Perez Monti H., Mah C.K. (2005). Efficacy of a spinosad aerosol spray formulation against old and new world screwworm infestations in cattle. *Proceeding of the 20th International Conference for the Advancement of Veterinary Parasitology*, Christchurch, New Zealand, E6.2, 122.

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LA GARRAPATA COMÚN DEL BOVINO *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS* EN ARGENTINA

NAVA, S.^{1*}; MANGOLD, A.J.¹; MOREL, N.¹; ROSSNER, M.V.²; GUGLIELMONE, A.A.¹

¹ INTA EEA Rafaela, Santa Fe, Argentina; ² INTA EEA Colonia Benitez, Chaco, Argentina

* Autor de contacto: nava.santiago@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La garrapata común del bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un ectoparásito hematófago asociado principalmente a los bovinos y, desde el punto de vista sanitario y económico, es la especie de garrapata con mayor relevancia para la producción ganadera mundial (Jongejan y Uilenberg, 2004). En Argentina, en las zonas tropicales y subtropicales del noreste y noroeste ubicadas al norte de los paralelos 30°-31° S, *R. (B.) microplus* ocasiona fuertes limitaciones al desarrollo de la ganadería de carne y leche (Guglielmone y Nava, 2013). Esta garrapata produce pérdidas físicas directas en los animales, como disminución en la ganancia de peso, daño de los cueros, mortalidad y menor producción láctea, a lo que se suman los costos relacionados a su control (productos garrapaticidas, mano de obra, infraestructura de bañaderos) y las pérdidas asociadas a la transmisión de enfermedades, debido a que *R. (B.) microplus* es el vector exclusivo de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, agentes causales de la babesiosis bovina (Guglielmone, 1992; Späth et al., 1994). Un factor deletéreo adicional es la relación directa que existe entre altos niveles de parasitismos con garrapatas y la aparición de bicheras (Reck et al., 2014b). Las pérdidas económicas causadas por *R. (B.) microplus* en Argentina se han estimado en cerca 200 millones de dólares anuales (Späth et al., 1994).

En las regiones propicias para el desarrollo de *R. (B.) microplus* es prácticamente inviable el desarrollo de una actividad ganadera rentable sin su control. Esta garrapata prevalece en zonas esencialmente ganaderas que en las últimas décadas han adquirido mayor importancia relativa en Argentina debido al desplazamiento de la ganadería hacia el norte por el incremento del área agrícola en el centro del país y a la implantación de pasturas megatérmicas de alto rendimiento para la alimentación de los bovinos. Esto último incorporó a la actividad ganadera terrenos semiáridos de baja productividad en el pasado e incrementó el número y la densidad de bovinos en estas zonas. La transformación ecológica relacionada a la implantación de pasturas megatérmicas provocó que regiones con déficit hídricos superiores a 500 mm anuales, consideradas previamente como desfavorables para *R. (B.) microplus* (Guglielmone, 1992), hoy presenten condiciones más propicias para su desarrollo (Nava et al., 2013).

Tradicionalmente se consideró que la distribución mundial de *R. (B.) microplus* abarcaba áreas tropicales y subtropicales de América del Sur, América Central, África, sur de Asia y Australia (Jongejan y Uilenberg, 2004; Campos Pereira et al., 2008), pero estudios realizados en los últimos años han determinado que las poblaciones australianas y del sudeste Asiático (ahora designadas como *Rhipicephalus (Boophilus) australis*) representan una especie diferente al *R. (B.) microplus*, cuya distribución comprende América, África y áreas del sudeste asiático (Labruna et al., 2009; Estrada-Peña et al., 2012; Burger et al., 2014). El reordenamiento del estatus taxonómico del subgénero

Boophilus implica que la información generada en Australia no debería extrapolarse al continente americano. Desde una perspectiva epidemiológica esto cobra relevancia porque la información generada en Australia sobre el taxón ahora conocido como *R. (B.) australis*, tuvo una enorme influencia para el diseño de las investigaciones en epidemiología, control y prevención de *R. (B.) microplus* y las enfermedades asociadas en la Argentina y otros países. Pero, considerando la situación taxonómica mencionada, se torna evidente que la extrapolación de los resultados australianos no es totalmente válida.

El conocimiento preciso de diferentes aspectos relacionados a la epidemiología de *R. (B.) microplus* es fundamental para diseñar métodos de control eficaces para reducir o eliminar las poblaciones de garrapatas, y que sean sustentables desde un punto de vista económico y ambiental. El método de control más utilizado en la Argentina es el empleo de garrapaticidas químicos, lo que ha derivado en muchos casos en la aparición de poblaciones de garrapatas resistentes al grupo químico utilizado. La resistencia de *R. (B.) microplus* a los acaricidas empleados para su control es uno de los mayores desafíos a enfrentar en los próximos años. En este sentido, en Sudamérica ya se han detectado casos de resistencia a todos los compuestos químicos garrapaticidas disponibles comercialmente (Guglielmone et al. 2006; Castro-Janer et al. 2010a, b, 2011; Guerrero et al., 2012; Lovis et al., 2013; Reck et al., 2014a; Klafke et al., 2017). En Argentina, hasta el momento se han registrado poblaciones de *R. (B.) microplus* resistentes a las drogas arsenicales, organofosforados, piretroides y formamidinas en las provincias argentinas de Corrientes, Córdoba, Chaco, Santiago del Estero, Salta y Santa Fe (Grillo-Torrado y Pérez-Arrieta, 1970; Mangold et al., 2000, 2004; Guglielmone et al., 2007; Cutullé et al. 2013; Morel et al. 2016). Pero, como ya ha sucedido en países limítrofes como Brasil y Uruguay, es esperable que casos de resistencia a otras drogas como ivermectina, fluzurón o fipronil se diagnostiquen aquí en un futuro cercano. Otro problema relevante asociado al empleo de acaricidas es aquel relacionado a la contaminación ambiental que estos producen y a las restricciones para el consumo de carne o leche que imponen los períodos de carencia de determinados principios activos, que tienen un impacto directo en su comercialización. Por ejemplo, los períodos de carencia de drogas como las ivermectinas o el fipronil pueden ser superiores a los 100 días, con indicación de no utilizarse en vacas lecheras. En este contexto, se presenta a continuación una sinopsis sobre aspectos relacionados a la epidemiología y control de la garrapata común del bovino *R. (B.) microplus* en Argentina, a fin de brindar información que pueda ser utilizada para desarrollar y emplear herramientas que contribuyan a mitigar el impacto negativo de este parásito sobre la producción ganadera.

EPIDEMIOLOGÍA DE *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS* EN ARGENTINA

En Argentina, *R. (B.) microplus* se distribuye principalmente en zonas tropicales y subtropicales del noreste y noroeste del país, con excepción de la región andina. Se la encuentra en las provincias de Salta, Tucumán, Jujuy, Santiago del Estero, Santa Fe, Córdoba, Catamarca, Formosa, Misiones, Entre Ríos, Corrientes y Chaco. De acuerdo a la zona geográfica, el número de generaciones anuales de *R. (B.) microplus* en Argentina puede variar de cinco en zonas tropicales a tres en áreas más meridionales como el norte de Santa Fe. Pero independientemente del número de generaciones anuales, el pico de

abundancia poblacional usualmente se corresponde con la generación que se desarrolla en el otoño (Guglielmone y Nava, 2013). La dinámica estacional del nivel de infestación en bovinos está caracterizada por un incremento en la abundancia de garrapatas desde mediados de la primavera al otoño, donde alcanza el pico máximo, para luego decrecer hacia el invierno e inicio de la primavera (Guglielmone et al., 1981, 1990a; Nava et al., 2015; Canevari et al., 2017) (figura 1). Sin embargo, ocasionalmente se han observado excepciones a este patrón donde los picos máximos de abundancia de garrapatas en bovinos acaecieron en primavera o verano (Guglielmone et al., 1990a; Morel et al., 2017). En establecimientos con ganadería extensiva y escaso desarrollo tecnológico, el pico de abundancia ocurrió a fines de la primavera coincidiendo con el final de la estación seca y la concentración del ganado en cercanías de las aguadas (Guglielmone et al. 1990a).

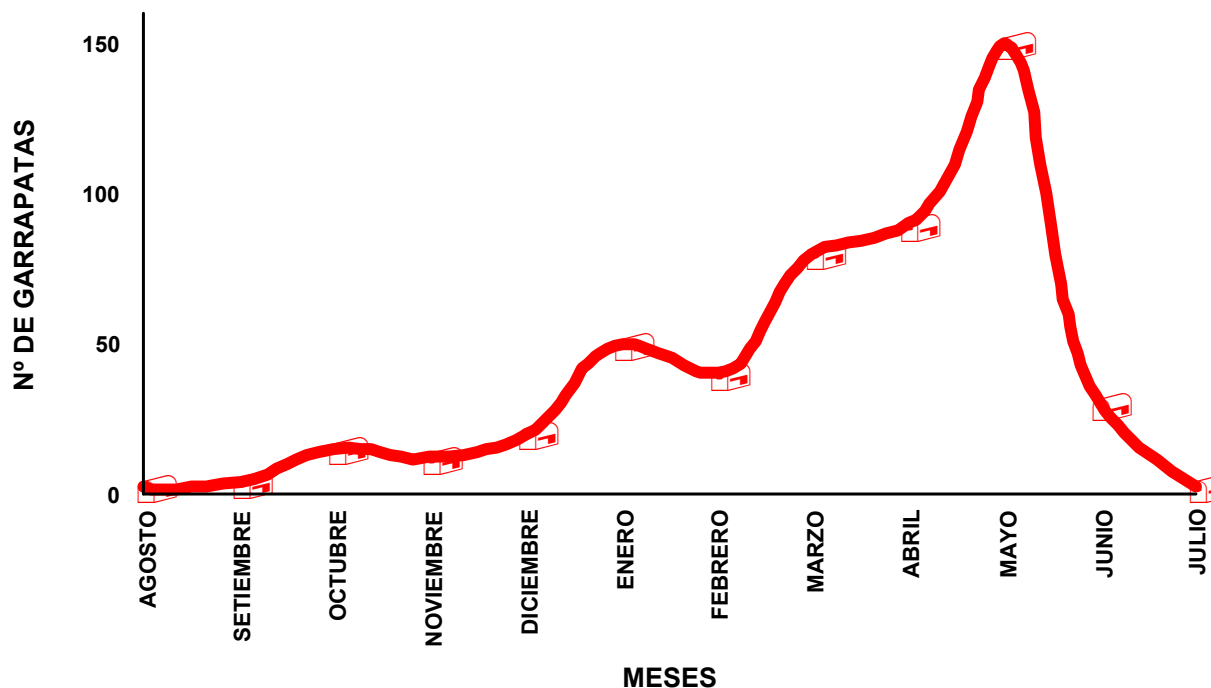


Figura 1. Variación estacional de los niveles de infestación con *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos en Argentina. Esta dinámica corresponde a un patrón general, pero el mismo puede variar ocasionalmente, con los mayores picos de abundancia presentándose en verano o primavera, tal como se explica en la sección “Epidemiología de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Argentina”

La abundancia de garrapatas sobre los bovinos está controlada por factores abióticos (temperatura, déficit de saturación, tipo de suelo) y bióticos (carga animal, razas bovinas, vegetación). Por ejemplo, el déficit de saturación afecta la longevidad de las larvas en las pasturas, que se ve favorecida por déficits hídricos anuales inferiores a 200 mm (Guglielmone y Nava, 2013). Por su parte los suelos inundados la mayor parte del año o con escasa cobertura vegetal conspiran con el desarrollo de huevos y la longevidad de las larvas y lo inverso ocurre en terrenos secos con abundante cobertura vegetal (Guglielmone y Nava, 2013). Asimismo, el incremento de la carga bovina aumenta las chances de las larvas para encontrar un hospedador. Por otra parte, los bovinos *Bos taurus* favorecen el desarrollo del ciclo parasítico en contraste con los *Bos indicus*. Guglielmone (1992)

utilizó una combinación de los factores mencionados en este párrafo para delimitar las áreas favorables, intermedias y desfavorables para el desarrollo de *R. (B.) microplus* en Argentina, las cuáles se definen de la siguiente manera: 1)- área intermedia: Déficit hídrico anual <200 mm; 3-4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$; 2)- área intermedia: Déficit hídrico anual <200-500 mm; 3-4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$; 3)- área favorable: Déficit hídrico anual <200 mm; 1 mes del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$; 4) área erradicada por la campaña de lucha contra la garrapata; 5) área naturalmente libre. Estas cinco áreas delimitadas por Guglielmone (1992) se muestran en la figura 2.

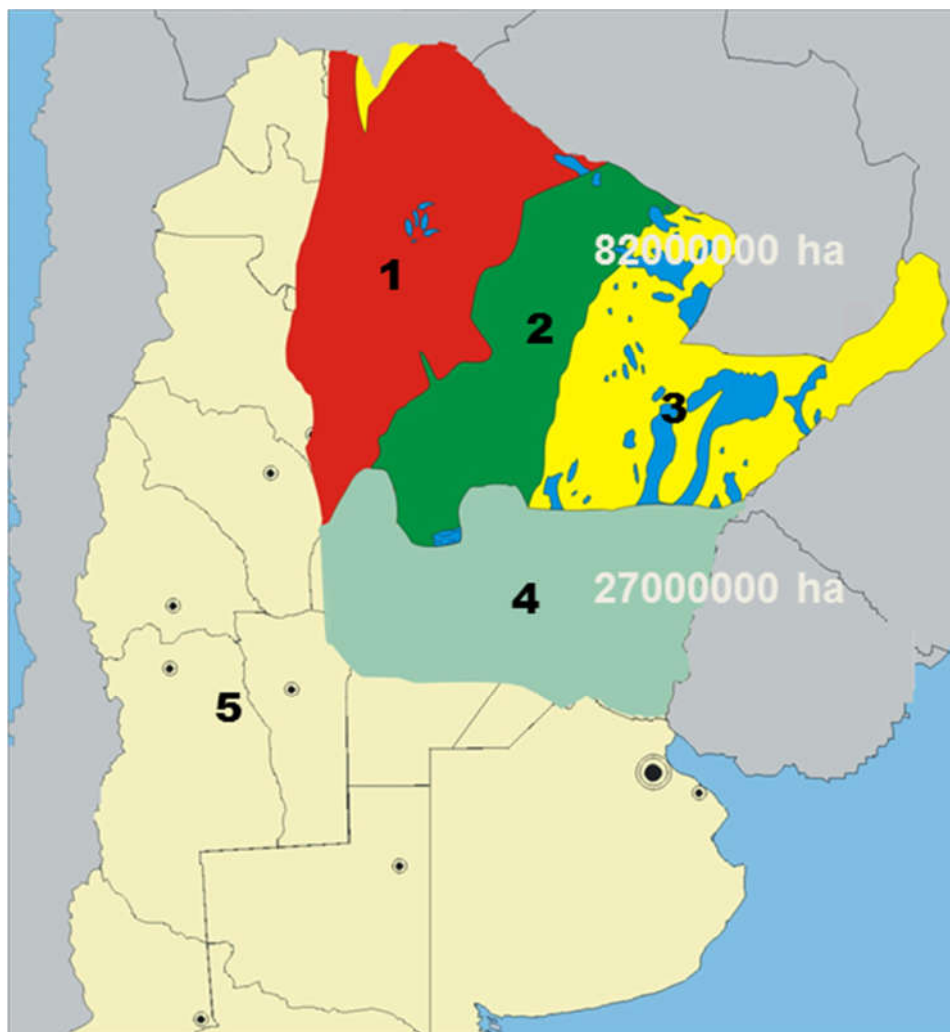


Figura 2. Áreas de aptitud ecológica de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Argentina modificado de Guglielmone (1992) 1)- Área intermedia: Déficit hídrico anual <200 mm; 3-4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$. 2)- Área intermedia: Déficit hídrico anual <200- 500 mm; 3-4 meses del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$. 3)- Área favorable: Déficit hídrico anual <200 mm; 1 mes del año con $T^{\circ} < 15,4^{\circ}\text{C}$. 4)- Área erradicada por la campaña de lucha contra la garrapata. 5)- Área naturalmente libre. En azul se indican las zonas de anegamiento. El presente mapa fue realizado en el año 1992.

El ciclo biológico de *R. (B.) microplus* se divide en dos fases: una parasitaria, en la cual la garrapata se desarrolla sobre el bovino hospedador, y otra no parasitaria, que ocurre en las pasturas (Nuñez et al., 1982). La fase no parasitaria comienza cuando las hembras ingurgitadas (teleoginas) se desprenden del bovino y caen al suelo buscando un sitio adecuado para poner sus huevos. Este espacio de tiempo se define como período de pre-oviposición (PPO). Asimismo, el período abarcado desde que las teleoginas comienzan la oviposición hasta que oviponen su último huevo se conoce como período de oviposición (PO). Las teleoginas habitualmente ponen de 1000 a 3000 huevos en un lugar protegido de las radiaciones solares directas. El período que transcurre desde la oviposición hasta la eclosión de los huevos se denomina período de incubación (PI), y el intervalo temporal entre el nacimiento de la primera larva y la muerte de la última se define como período de longevidad larval (LL). La extensión de todos estos períodos va a determinar la duración máxima potencial de la fase no parasitaria (FNP), que se extiende desde que una teleogina se desprende del bovino hospedador hasta que muere la última larva originada de esa teleogina. Cuando las larvas que se encuentran en las pasturas acceden a un hospedador comienza la fase parasitaria del ciclo biológico. Esta se desarrolla íntegramente sobre el bovino, es escasamente influida por las condiciones ambientales y tiene un lapso modal de aproximadamente 22 días. Las larvas suben al bovino y comienzan a alimentarse para mudar al estadio siguiente de ninfa, que cambia de sitio para seguir alimentándose. Las ninfas mudan sobre el hospedador a adultos (machos y hembras), estos copulan, la hembra se ingurgita con sangre (teleogina) y finalmente cae a las pasturas para oviponer.

La implementación de un método de control de *R. (B.) microplus* en un establecimiento ganadero, indefectiblemente debe basarse en el conocimiento preciso de su dinámica poblacional en una región geográfica particular, fundamentalmente sobre la fase no parasitaria del ciclo, que es la que define el número y duración de las generaciones anuales y el nivel de infestación con larvas en las pasturas. En Argentina, los primeros trabajos realizados de manera sistemática y sostenida en el tiempo sobre la fase no parasitaria del ciclo biológico de *R. (B.) microplus* fueron llevados a cabo por Ivancovich (1975); Ivancovich y Braithwaite (1975) e Ivancovich et al. (1982, 1984). Los trabajos previos a los de Ivancovich y colaboradores corresponden principalmente a estudios que han considerado únicamente aspectos biológicos de la fase parasítica del ciclo (Boero y D'Angelo 1947; Nuñez et al., 1972, 1982; Lombardero et al., 1983). Sin embargo, estas investigaciones fueron realizadas en un escenario que ha variado de manera considerable, debido a la modificación del ambiente por la deforestación, la introducción de nuevas pasturas y el desplazamiento de la ganadería hacia el norte del país, en un contexto en el que la actividad pecuaria puede requerir mayores precisiones con vistas al manejo de la parasitosis por garrapatas. Es así que teniendo en cuenta esta situación, en los últimos años se han llevado a cabo estudios sobre la fase no parasitaria del ciclo de *R. (B.) microplus* en diferentes regiones subtropicales de Argentina donde esta garrapata tiene impacto sobre la ganadería (Nava et al., 2013; Canevari et al., 2017; Mastropaolo et al., 2017; Nava, Rossner y Mangold, en preparación), a fin de obtener información que permita diseñar estrategias de control donde se maximice el empleo eficaz de los acaricidas químicos. De los datos generados en estos trabajos se ha inferido que la fase no parasitaria del ciclo de *R. (B.) microplus* se caracteriza por los siguientes patrones generales:

- I) La FNP de mayor duración se desarrolla cuando las teleoginas caen de los bovinos desde mediados del verano (fines de febrero) a principios del otoño (mediados de abril).
- II) la FNP de menor duración se observa cuando las teleoginas se desprenden de los bovinos entre fines del invierno (septiembre) y fines de la primavera (diciembre).
- III) las larvas que están activas en el verano son las que presentan la menor longevidad.
- IV) el mayor PI corresponde a los aoves originados por las teleoginas que se desprenden de los bovinos entre el final del verano y el comienzo de la primavera, mientras que el menor PI se observa en los aoves generados por las teleoginas que se desprenden de los bovinos hacia el final de la primavera y durante el comienzo del verano.
- V) independientemente de la estación en que las teleoginas se desprenden de un bovino, el fenómeno de oviposición se observa durante todo el año, pero exceptuando las zonas tropicales o ciertas áreas del noreste de la Argentina como el norte de Misiones o el este de Formosa, no existe eclosión en los aoves originados de las hembras que caen de los bovinos a mediados y fines del otoño y a principio y mediados del invierno.

En la figura 3 se grafica la duración de la fase no parasitaria del ciclo biológico de *R. (B.) microplus* en distintas áreas de Argentina, con sus distintos componentes biológicos (PI y LL) desagregados y mostrando su variación en el tiempo dentro de una misma localidad. De lo detallado en los cinco ítems del párrafo anterior y en la figura 3 se desprende que los períodos de incubación de los huevos y la longevidad larval son dos procesos biológicos claves para determinar la duración temporal de la fase no parasitaria del ciclo biológico de *R. (B.) microplus*. El período de incubación de los huevos está directamente relacionado a la temperatura: a mayor temperatura, menor período de incubación. Pero esta relación lineal solo se da por encima de un umbral de alrededor de 18°C (considerando temperaturas medias mensuales), debido a que por debajo de esa temperatura la probabilidad de eclosión es prácticamente nula. La extensión temporal del otro proceso biológico, la longevidad larval, está principalmente determinada por la temperatura y el déficit de saturación; cuanto mayor es el valor de estos dos factores, menor es la longevidad larval. Otra conclusión relevante a la que se llega tras analizar esta información es que, independientemente del número de generaciones anuales, en zonas subtropicales de Argentina (exceptuando áreas como el norte de Misiones o el este de Formosa) las teleoginas que caen de los bovinos entre mediados del otoño y mediados del invierno prácticamente no contribuyen a la infestación de los potreros con larvas, porque la proporción de aoves viables originados por estas hembras es nula o muy baja.

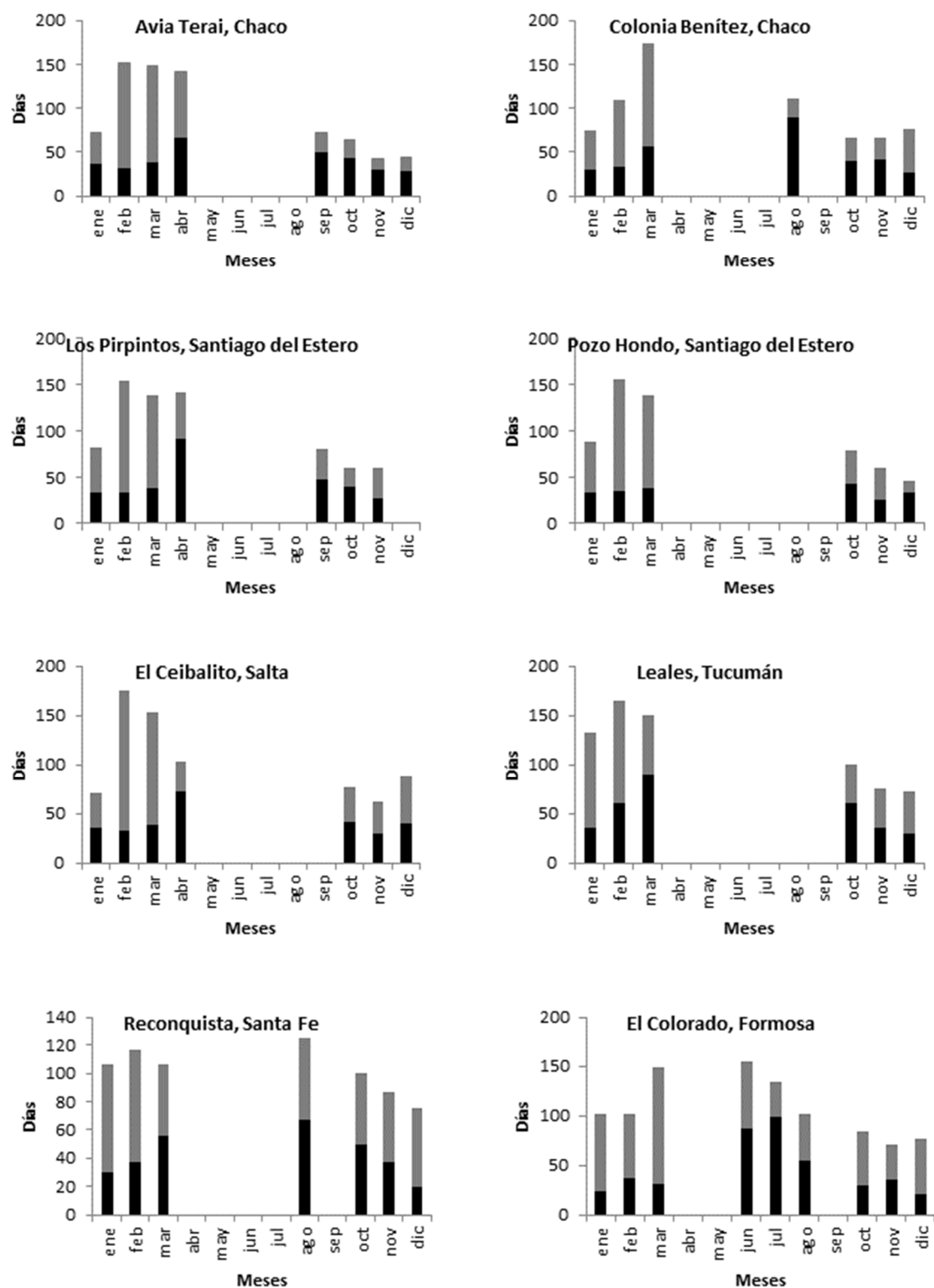


Figura 3. Duración estacional de la fase no parasitaria del ciclo biológico de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en distintas áreas de Argentina, desagregada en períodos de incubación de huevos (■) y longevidad larval (▒). El mes de cada barra corresponde al comienzo de la exposición de las teleoginas en las pasturas. Los datos de Reconquista, Colonia Benítez y El Colorado son preliminares debido a que corresponden a un estudio en curso.

Finalmente, es pertinente señalar que la Argentina llevó a cabo una exitosa campaña de erradicación de *R. (B.) microplus* liberando alrededor de 29 millones de ha infestadas con esta garrapata, pero en el pasado reciente no se realizaron nuevos avances estando siempre latente el riesgo de su reintroducción masiva en las áreas donde se erradicó el parásito. Esto es particularmente relevante porque análisis climáticos retrospectivos y prospectivos muestran situaciones potencialmente peligrosas para la introducción de *R. (B.) microplus* en regiones pampeanas donde esta garrapata ya fue erradicada o nunca pudo establecerse (Guglielmone et al., 2003; Estrada-Peña et al., 2006). Uno de estos análisis muestra que áreas de la cuenca lechera central de la Argentina, que comprenden los departamentos Castellanos y Las Colonias de la provincia de Santa Fe (30°40' - 31°45' S 60°45' - 62°07' W) son aptas para el desarrollo de esta garrapata (Guglielmone et al. 2003). Por otro lado, los resultados arrojados por un modelo ecológico construido por Estrada-Peña et al. (2006), sugieren que existe un riesgo de expansión hacia el sur del área ecológicamente apta para *R. (B.) microplus*, que se extiende por debajo del paralelo 34°S y que se corresponde con un incremento de la temperatura acompañado con un aumento en las precipitaciones. Si bien estos escenarios son hipotéticos, sería conveniente extremar los controles para mantener a las regiones ganaderas hoy libres de *R. (B.) microplus* en esa condición.

CONTROL DE *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS* EN ARGENTINA

Marco legal

En Argentina, el control de *R. (B.) microplus* está reglamentado por el SENASA y este es el organismo rector que a través de la Ley N°12566 de “Lucha Contra la Garrapata” indica los procedimientos que productores y veterinarios deben seguir en las distintas áreas del país. En la actualidad la resolución 382-E/2017 del SENASA establece la normativa del “Plan Nacional de Control y/o Erradicación de la Garrapata del bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en la República Argentina”, reemplazando al “Plan Nacional de Lucha contra la Garrapata en la República Argentina” correspondiente a la resolución del 22 de enero de 1999 de la ex Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, y que estuvo en vigencia hasta el año 2016. El artículo 10 de la resolución 382-E/2017 del SENASA (<http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-382-2017-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>) establece el marco legal para la zonificación del territorio nacional en **zona de erradicación** (el área donde los establecimientos infestados deben adoptar obligatoriamente una estrategia de limpieza y eliminación progresiva del parásito, bajo controles sanitarios fiscalizados por el SENASA), **zona de control** (el área donde no existe obligatoriedad de erradicación), y **zona indemne** (es el territorio del país libre de la presencia del parásito).

En la “zona de control” no existe obligatoriedad de erradicación, pero se promueve la adopción de medidas tendientes a garantizar un nivel mínimo de infestación. El empleo de medidas de control sustentables y eficaces contra *R. (B.) microplus* en esta zona es relevante para evitar la introducción de garrapatas a la “zona indemne” a través del movimiento de hacienda con fines comerciales. En este sentido, en el artículo 17 de la resolución 382-E/2017 del SENASA se indica

que “...en la zona de control, la planificación de los tratamientos, el uso y la rotación de los principios activos y el manejo de los productos veterinarios garrapaticidas, se harán siguiendo esquemas de tratamientos estratégicos, buscando mantener baja carga de garrapatas en el establecimiento compatibles con niveles adecuados de producción”.

Finalmente, es importante mencionar que el artículo 6 de la resolución 382-E/2017 establece que “...los gobiernos provinciales tendrán a su cargo la elaboración de los planes regionales o locales superadores de control y/o erradicación de la garrapata del bovino *R. (B) microplus* en sus territorios, teniendo en consideración las particularidades socio-productivas de su región; los cuales deben ser consensuados y convalidados por el SENASA”.

Herramientas disponibles para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

I) Acaricidas químicos

La utilización de acaricidas químicos es la principal herramienta disponible en la actualidad para el control de la garrapata común del bovino. La técnica de aplicación basada en los baños de inmersión constituye, en ausencia de resistencia a los productos utilizados, un método eficaz y de bajo costo. El manejo incorrecto de los baños (instalaciones deficientes, errores en la preparación y en la reposición y refuerzo del producto, acumulación de costras y sedimentos por mala limpieza, ausencias de controles periódicos del nivel del baño, animales incorrectamente sumergidos) actúa en detrimento de la eficacia de esta herramienta. Otros métodos utilizados son la aplicación de garrapaticidas por vía tópica (*pour on*) o inyectables, y, eventualmente, por baños de aspersión. En el caso particular que los garrapaticidas inyectables y tópicos (*pour on*) sean empleados para tratar bovinos previo al ingreso a las pasturas, es importante considerar el tiempo mínimo que debe transcurrir entre que el producto es aplicado y el momento en que logra su efecto máximo porque, de lo contrario, se corre el riesgo de infestar potreros libres de garrapatas.

En la tabla 1 se muestra el listado de los grupos químicos utilizados como garrapaticidas en Argentina junto con el modo de aplicación. Las principales limitantes del empleo de acaricidas químicos son la aparición de resistencia, la contaminación ambiental y las restricciones para el consumo de la carne o leche que imponen los períodos de carencia de determinados principios activos. En relación al período de carencia, deben considerarse las restricciones para el consumo de carne y leche de cada producto al momento de realizar un tratamiento. Las mismas varían de acuerdo al ingrediente activo y a las concentraciones de cada uno de ellos. En el caso de drogas como algunas ivermectinas o el fipronil, los mismos pueden ser superiores a los 100 días, con indicación de no utilizar en vacas lecheras.

El listado de garrapaticidas químicos aprobados para el control de *R. (B.) microplus* en Argentina, tanto para las zonas de control como de erradicación, es suministrado por el SENASA en los siguientes sitios de internet: a) <http://www.senasa.gob.ar/garrapaticidas-de-inmersion-autorizados-para-todas-las-zonas>, b) <http://www.senasa.gob.ar/garrapaticidas-aprobados-para-su-uso-en-zonas-de-erradicacion-resolucion-ndeg-89699>, y c) <http://www.senasa.gob.ar/garrapaticidas-autorizados-para-uso-en-zonas-de-control-zona-sucia>. En estos listados se indica para cada producto el nombre comercial, laboratorio que lo produce, composición y formulación, vía de administración,

poder residual absoluto, período de retirada, eficacia y las restricciones asociadas de acuerdo a las diferentes categorías de bovinos y al destino productivo de los mismos (ej. vacas productoras de leche o animales destinados a faena). Es pertinente mencionar que la nómina de productos aprobados por el SENASA y la zona para la cual está indicado su uso, el poder residual y eficacia, y los períodos de retirada y restricciones, deben ser rigurosamente considerados por veterinarios y productores ganaderos antes de aplicar un acaricida para el control de *R. (B.) microplus* en los bovinos.

Tabla 1. Grupos químicos y formas de aplicación de los garrapaticidas disponibles en la Argentina a junio de 2017. Las concentraciones de cada droga varían de acuerdo a la formulación comercial de cada producto.

GRUPO QUÍMICO	MODO DE APLICACIÓN
I) PIRETROIDES	
Cipermetrina	Inmersión
Alfametrina	Inmersión
Deltametrina	Inmersión/ <i>Pour-on</i> *
Flumetrina	Inmersión/ <i>Pour-on</i> **
II) FORMAMIDINAS	
Amitraz	Inmersión
III) INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE QUITINA	
Fluazurón	<i>Pour-on</i>
IV) FENIL PIRAZOLES	
Fipronil	<i>Pour-on</i>
V) AVERMECTINAS	
Ivermectina	Inyectable
Abamectina	Inyectable
Doramectina	Inyectable
V) MEZCLAS	
Cipermetrina 20%-Clorpirifos 50%***	Inmersión
Cipermetrina 10%-Etión 40%***	Inmersión
Fluazurón 2,5%-Cipermetrina 5%	<i>Pour-on</i>
Fluazurón 2,5%-Abamectina 1%	<i>Pour-on</i>
Ivermectina 2,25%-Abamectina 1,25%	Inyectable

* El modo de aplicación de la deltametrina al 3% y 2,25% es por inmersión/aspersión, y la deltametrina al 1% se aplica como *pour-on*.

** El modo de aplicación de la flumetrina al 6% es por inmersión/aspersión y la flumetrina al 1% y 0,5 % se aplica como *pour-on*.

*** Organofosforado

II) Rotación y descanso de pasturas

Este método se sustenta en el conocimiento de la ecología de *R. (B.) microplus*, específicamente en la duración de la fase de vida libre de su ciclo biológico. Tiene como objetivo disminuir los niveles de infestación con garrapatas en las pasturas mediante el uso diferido de las mismas. Las larvas de *R. (B.) microplus* necesitan encontrar a un bovino hospedador en un período de tiempo dado, que varía de acuerdo a la época del año, de lo contrario morirán por inanición y/o deshidratación. De acuerdo a la información obtenida durante estudios realizados en los últimos años en las provincias de Chaco, Formosa, Santa Fe, Santiago del Estero, Salta y Tucumán (Nava et al. 2013; Canevari et al. 2017; Mastropaolo et al. 2017; Nava, Rossner y Mangold, en preparación), el período mínimo de descanso de las pasturas necesario para disminuir significativamente la infestación de las mismas con larvas de *R. (B.) microplus* va a depender de la época del año en que se comience con el descanso. De este modo, si el descanso comienza a mediados o fines de la primavera o a principios del verano (fin de octubre, noviembre o diciembre), el período mínimo requerido es de 90 a 100 días, pero si se comienza con el descanso a fines del verano o durante el otoño (entre marzo y junio), el período mínimo necesario para asegurar un control significativo alcanza los 180 días. Bajo estas condiciones, si los vacunos que se incorporan a estas pasturas son tratados con acaricidas antes de su ingreso se podría mantener una condición de infestación mínima o nula por períodos prolongados de tiempo.

La rotación de pasturas como una estrategia para el control de la garrapata común del bovino permite minimizar el uso de acaricidas y los consecuentes riesgos de aparición de resistencia a estos compuestos químicos. Sin embargo, la subutilización de las pasturas que conlleva el empleo de este método acarrea un costo económico y una mayor complejidad en el manejo de los rodeos, los cuales constituyen una importante restricción al empleo eficaz y sustentable de esta herramienta. Una alternativa promisoriosa es aprovechar para el control la descontaminación de pasturas que ocurre en potreros que son clausurados por otras razones, como el diferimiento de forraje en pie y el control de renovales, en tanto se cumplan los períodos indicados en el párrafo anterior.

III) Uso del fuego

Esta es una práctica con muchas desventajas, principalmente en lo referido al manejo. Asimismo, la eficacia de este método para eliminar una proporción significativa de las garrapatas presentes en las pasturas no está comprobada fehacientemente.

IV) Vacunas contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Existen dos vacunas contra la garrapata común del bovino, una producida en Australia (TickGARD®) que no está disponible comercialmente desde el año 2010, y la otra en Cuba (Gavac™). Ninguna de ellas se comercializa en Argentina. Ambas vacunas se formularon con el antígeno Bm86 de células intestinales de *R. (B.) microplus*. A diferencia de la inmunidad natural, que para las garrapatas se da básicamente en forma de hipersensibilidad cuando las larvas se fijan al bovino, la inmunidad artificial provocada por estas vacunas actúa sobre la capacidad reproductiva de las garrapatas hembras. Los resultados dispares arrojados por los test de eficacia de estas vacunas en condiciones de campo han limitado su uso extendido como un método alternativo para el control de

la garrapata común del bovino. En la actualidad se están evaluando otros antígenos derivados de proteínas tales como ferritina, acuaporinas, vitelogenina, inhibidores de tripsina, factores de elongación, proteínas asociadas al cemento de fijación del aparato bucal de la garrapata, proteína ribosomal P0 y mucinas (Lew-Tabor y Rodríguez-Valle, 2016), pero estas potenciales alternativas han mostrado resultados dispares y están lejos de ser una opción viable en el corto plazo.

V) Biotipos bovinos con resistencia a la infestación con garrapatas

Entre los métodos alternativos para el control de *R. (B.) microplus*, uno de los más reconocidos es el empleo de determinados biotipos bovinos. Existen varios estudios argentinos acerca de la capacidad de los animales *Bos indicus* y, en menor medida de algunas razas de *Bos taurus* como la Criolla, para controlar las infestaciones de *R. (B.) microplus* (Guglielmone y Nava, 2013). Una mayor proporción de genes *Bos indicus* en los biotipos vacunos favorece un control biológico de *R. (B.) microplus* que puede ser utilizado para disminuir el número de tratamientos garrapaticidas. En estudios llevados a cabo en Argentina se determinó que la infestación con *R. (B.) microplus* en bovinos Hereford fue hasta 32 veces superior a la de un Nelore (Guglielmone et al. 1990b; 1992a,b) (figura 4). Esta situación tiene una relación directa con la proporción de genes *B. indicus*. De esta manera, en establecimientos que utilicen biotipos con un 25 % o más de genes *B. indicus* se puede aprovechar esta característica para el ahorro de tratamientos con acaricidas. Pero en la práctica, esta herramienta está subutilizada y tiene bajo impacto en la toma de decisiones para el control de la garrapata.

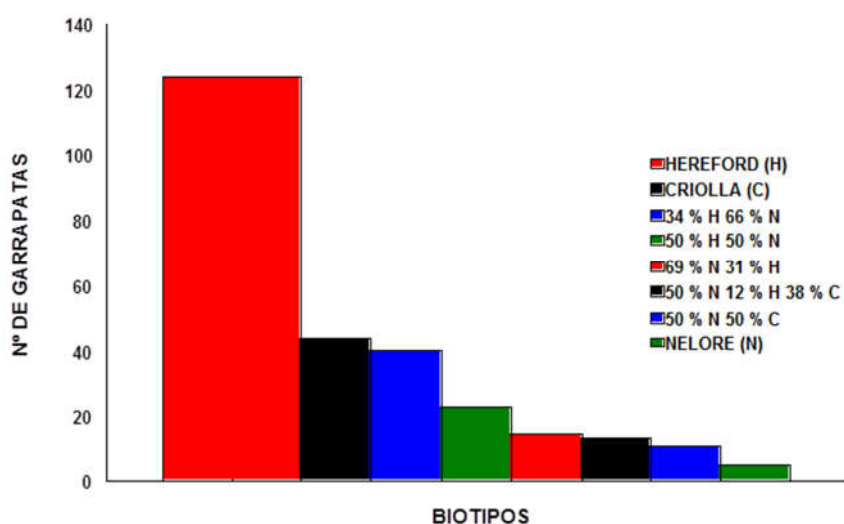


Figura 4. Niveles de infestación por hembras de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en diferentes biotipos bovinos. Estos datos corresponden a un estudio llevado a cabo en Leales, provincia de Tucumán. La información fue compilada de Guglielmone et al. (1990b; 1992a,b).

Esquemas de tratamientos

Independientemente de las herramientas que se utilicen, los esquemas de tratamientos se pueden dividir en dos grandes grupos de acuerdo al objetivo final: I) control y II) erradicación (=control absoluto). El objetivo de los esquemas de control es aplicar tratamientos cuya eficacia terapéutica contribuya a mantener bajos niveles de infestación, de manera que la merma productiva

por esta parasitosis sea muy baja. En cambio, en los esquemas destinados al control absoluto o erradicación, se busca como objetivo final suprimir totalmente las poblaciones de garrapatas donde dichos esquemas se aplican.

I) En líneas generales, los esquemas de control se pueden desagregar de la siguiente manera:

a) esquemas con tratamiento umbral; b) esquemas con tratamiento oportunista; c) esquema con tratamientos estratégicos. Los mismos están descriptos a continuación:

-a) Tratamiento Umbral: se aplican tratamientos cuando la infestación con garrapatas supera un umbral de pérdida económica, generalmente impreciso. Si bien estos tratamientos pueden tener un efecto terapéutico inmediato al disminuir el número de garrapatas sobre los bovinos tratados, generalmente no tienen una incidencia significativa sobre el nivel de infestación con garrapatas en las pasturas en el mediano plazo, por lo que el problema asociado al parasitismo con garrapatas suele persistir en el tiempo en los establecimientos donde se utiliza este criterio. Asimismo, este método es muy difícil de implementar eficientemente debido a las dificultades para establecer con rigor cuál es el umbral de pérdida económica, teniendo en cuenta la heterogeneidad de los establecimientos ganaderos en cuanto al manejo de los rodeos, biotipos y capacitación del personal destinado a tomar las decisiones sobre la aplicación de tratamientos garrapaticidas.

-b) Tratamiento Oportunista: se aprovecha un encierro con otros objetivos para aplicar garrapaticidas. Similarmente a lo que sucede con el tratamiento umbral, el tratamiento oportunista puede tener en ocasiones un efecto terapéutico aceptable en el corto plazo, pero es ineficiente para lograr una reducción significativa de las poblaciones de garrapatas en el tiempo.

-c) Tratamientos Estratégicos: se basan en la aplicación de acaricidas siguiendo un esquema basado en los conocimientos de la biología del parásito. Estos esquemas forman parte de un programa de mediano y largo plazo, y consisten en concentrar un número mínimo de tratamientos en una determinada época del año afectando la evolución de la población de garrapatas en la pastura con un efecto duradero. Su implementación, generalmente al inicio de la primavera cuando se está desarrollando la primera generación de garrapatas (que en términos de abundancia es usualmente la menor), disminuiría la abundancia de garrapatas de esa generación, lo cual tendría un impacto negativo relevante en la abundancia de las generaciones posteriores. Distintos esquemas de control estratégico aplicando un máximo de tres tratamientos con acaricidas sistémicos entre el fin del invierno (agosto-septiembre) y el fin de la primavera (noviembre-diciembre) han sido evaluados en distintas áreas del noroeste de la Argentina (Nava et al. 2014, 2015; Morel et al. 2017). El intervalo entre estos tres tratamientos se calcula sumando el poder residual absoluto del acaricida utilizado más un período que puede oscilar entre 7 y 12 días. Los resultados demostraron que este tipo de esquemas son eficaces para disminuir significativamente el número de garrapatas, aunque no son adecuados cuando el objetivo es la erradicación. La principal desventaja del método de control estratégico no está asociada a su eficacia sino a que requiere una planificación a largo plazo en el manejo de los rodeos bovinos, lo cual no siempre es atractivo para el esquema general de toma de decisiones de muchas empresas ganaderas.

II) Como se mencionó anteriormente, la erradicación (=control absoluto) busca suprimir completamente las poblaciones de garrapatas en un establecimiento particular o en un área geográfica

dada. Este control se basa en la acción organizada y progresiva a largo plazo a nivel nacional, con participación activa de los distintos sectores de la producción. Combina la delimitación de zonas de erradicación, áreas de cuarentena, fuerte vigilancia epidemiológica y tratamientos acaricidas periódicos estrictos (ej: planes nacionales o provinciales de erradicación de garrapatas). En Argentina este tipo de esquemas es diseñado y auditado por organismos nacionales (SENASA) o provinciales autorizados para tales fines.

En último lugar, un concepto ampliamente difundido es el de Control Integrado. Aquí se toma en cuenta la biología del parásito, el clima, la resistencia del hospedador, las drogas disponibles, vacunas, manejo de pasturas y otros parásitos (control biológico). Es un sistema de control que utiliza todas las técnicas y métodos apropiados para combatir una o más enfermedades, interfiriendo lo menos posible con el medio ambiente y mitigando el nivel de daño. Aunque el control integrado es un concepto muy extendido, su definición es usualmente vaga y la factibilidad de su implementación es muy baja en las condiciones actuales. Sin embargo, en su acepción tradicional involucra la combinación de dos o más técnicas, y de ellas, una no debe ser contaminante. Quizás siguiendo este concepto, sea conveniente explorar la utilización de ganado resistente a garrapatas sujetos a tratamientos estratégicos.

CONSIDERACIONES FINALES

Son numerosos los artículos científicos y de divulgación con información acerca de técnicas alternativas a los acaricidas químicos para el control de *R. (B.) microplus*, pero en la actualidad estos constituyen casi el único recurso disponible de los productores para el control de esta garrapata. Aunque también existen métodos validados científicamente que no son utilizados en todo su potencial como una alternativa o complemento al control químico, como son la rotación de pasturas o el uso de biotipos bovinos con alta resistencia a las garrapatas, es evidente que, al menos en el corto plazo, las alternativas para el control químico de *R. (B.) microplus* están acotadas.

El control de la garrapata común del bovino se asoció históricamente a los baños de inmersión en soluciones acaricidas. Este cuadro costumbrista está cambiando radicalmente, debido al notable incremento del uso de biocidas sistémicos, que se relaciona fundamentalmente a la aparición de poblaciones de garrapatas resistentes a las drogas empleadas en los baños como los piretroides y las amidinas, y a la ausencia de bañaderos en una gran proporción de establecimientos infestados con garrapatas. Esto cobra relevancia si se tiene en cuenta que ya existen reportes en Sudamérica de poblaciones de garrapatas resistentes a todos los principios activos disponibles comercialmente. La resistencia parasitaria está asociada a la frecuencia de los tratamientos garrapaticidas empleados. Estos son más numerosos en aquellas zonas con mayor aptitud ecológica para *R. (B.) microplus*, que en el caso particular de la Argentina corresponden a áreas del litoral en la región noreste del país (figura 2). En el contexto actual, donde el control de la garrapata común del bovino se basa casi exclusivamente en el uso de acaricidas químicos, no existe un método único para prevenir la aparición de resistencia. Es más, para algunas de las drogas ni siquiera se conocen los mecanismos genéticos y bioquímicos que actúan durante su desarrollo. De aquí deviene la necesidad de propiciar la implementación de estrategias que disminuyan la frecuencia de aplicación de los acaricidas químicos,

a fin de prolongar en el tiempo la presencia de poblaciones susceptibles a los mismos y para evitar los efectos ambientales colaterales que conlleva este tipo de práctica.

Por último, se considera pertinente señalar la necesidad imperiosa de que veterinarios y ganaderos actualicen sus conocimientos sobre el uso y restricciones de los acaricidas aprobados por el SENASA, sobre la bioecología de la garrapata común del bovino, sobre el funcionamiento de las distintas herramientas y estrategias de control validadas científicamente, y sobre los métodos disponibles para el diagnóstico y control de las enfermedades transmitidas por *R. (B.) microplus*. Todos los actores involucrados en el diseño y aplicación de métodos de control de la garrapata común del bovino (veterinarios, investigadores, técnicos de laboratorios privados, funcionarios de organismos sanitarios estatales y productores), deben asumir que la inacción tendrá un costo social de importancia con disminución de la rentabilidad ganadera, y que acarreará limitaciones a la aplicación de las estrategias sanitarias dispuestas por los organismos nacionales y provinciales involucrados en los planes de lucha contra la garrapata *R. (B.) microplus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Boero JJ, D'Angelo E. 1947. Biología del *Boophilus microplus*, garrapata común de los bovinos. Minist. Agric. Nac. Dir. Gen. San. Anim. Publ. Misc. 236, 21-30.
- Burger TD, Shao R, Barker SC. 2014. Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species. Mol. Phylog. Evol. 76, 241-253
- Campos Pereira M, Labruna MB, Szabó MPJ, Klafke GM. 2008. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Biología, controle e resistencia. MedVet, Sao Paulo. 169 pp.
- Canevari JT, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in a subtropical subhumid region of Argentina for use in the design of control strategies. Med. Vet. Entomol. 31, 6-14.
- Castro-Janer E, Martins JR, Mendes M, Namindome A, Klafke GM, Schumaker TTS. 2010a. Diagnoses of fipronil resistant in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using in vitro larval bioassays. Vet. Parasitol. 173, 300-306
- Castro-Janer E, Rifran L, González P, Piaggio J, Gil A, Schumaker TTS. 2010b. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by in vitro bioassays. Vet. Parasitol. 169, 172-177.
- Castro-Janer E, Rifran L, González P, Niell C, Piaggio J, Gil A, Schumaker T.T.S. 2011. Determination of the susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) to ivermectin and fipronil by larval immersion test (LIT) in Uruguay. Vet. Parasitol. 178, 148-155.
- Cutullé C, Lovis L, D'Agostino BI, Balbiani GG, Morici G, Citroni D, Reggi J, Caracostantogolo JL. 2013. In vitro diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. Vet. Parasitol. 192, 296-300.
- Estrada-Peña A, Corson M, Venzal JM, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2006. Changes in climate and habitat suitability for the cattle tick *Boophilus microplus* in its southern Neotropical distribution range. J. Vector Ecol. 31, 158-167.

- Estrada-Peña A, Venzal JM, Nava S, Mangold AJ, Guglielmone AA, Labruna MB, de la Fuente J. 2012. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. *J. Med. Entomol.* 49, 1-9
- Grillo Torrado JM, Pérez Arrieta A. 1977. Nuevo tipo de fósforo-resistencia en la garrapata común del ganado bovino (*Boophilus microplus*) en la República Argentina. *Rev. Med. Vet.* 58, 101-105
- Guerrero FD, Lovis L, Martins JR. 2012. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 21, 1-6.
- Guglielmone AA. 1992. The level of infestation with the vector of cattle babesiosis in Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 87, Suppl. III, 133-137
- Guglielmone AA, Nava S. 2013. Epidemiología y control de las garrapatas de los bovinos en la Argentina. *Enfermedades Parasitarias con Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes: Fundamentos Epidemiológicos para su Diagnóstico y Control* (ed. A. Nari y C.Fiel), pp. 441–456. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Guglielmone AA, Hadani A, Mangolg AJ, De Haan L, Bermudez A. 1981. Garrapatas (Ixodoidea-Ixodidae) del Ganado bovino en la provincia de Salta: especies y carga en 5 zonas ecológicas. *Rev. Med. Vet.* 62, 194-205
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Aguirre DH, Gaido AB. 1990a. Ecological aspects of four species of ticks found on cattle, in Salta, Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 35, 93 101.
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Gaido AB, Aguirre DH. 1990b. Parasitismo natural por *Boophilus microplus* en bovinos Hereford, Criolla, Nelore y cruza Hereford x Nelore. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 71, 108 117
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Aguirre DH, Gaido AB. 1992a. Estabilidad del parasitismo relativo en dos biotipos bovinos resistentes al *Boophilus microplus*, bajo condiciones naturales. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 73, 129-134.
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Gaido AB, Aguirre DH. 1992b. Natural parasitism with *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in cattle biotypes with different proportions of *Bos taurus* (Spanish and British) and *Bos indicus* genes. *Res. Rev. Parasitol.* 52, 77-82.
- Guglielmone AA, Giorgi R, Sodiro A, Gay R, Canal A, Mangold AJ, Estrada-Peña. 2003. Aptitud ecológica de los departamentos de Castellanos y Las Colonias, Santa Fe, para sustentar hipotéticas poblaciones de la garrapata común del vacuno, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Rev. Inv. Agrop.* 32, 75-92.
- Guglielmone AA, Mangold AJ, Castelli M, Suárez VH, Aguirre DH, Alcaraz E, Cafrune MM, Cetrá B, Fader OW, Luciani CA, Medus PD, Nava S. 2006. Toxicidad in vitro de la cipermetrina para *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Can.) y del diazinón para *Haematobia irritans* (L.) en la Argentina. *Rev. Inv. Agropec.* 35, 31-41.
- Guglielmone AA, Castelli ME, Mangold AJ, Aguirre DH, Alcaraz E, Cafrune MM, Cetrá B, Luciani CA, Suárez VH. 2007. El uso de acaricidas para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) en la Argentina. *Rev. Inv. Agropec.* 36, 155-167.
- Ivancovich JC. 1975. Bioecología de la garrapata del ganado *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888). *Rev. Inv. Agrop.* 12, 1-54.

- Ivancovich JC, Braithwaite GV. 1975. Bioecología de la garrapata común del ganado vacuno (*Boophilus microplus*, Can. 1888)- (Acarina: Ixodidae). Informe de los 18 meses de trabajos realizados bajo el convenio INTA-Gobierno Británico (Junio 1974-Diciembre 1975).
- Ivancovich JC, Braithwaite GB, Barnett S. 1982. Comportamiento de los estados no parasitarios de la garrapata del Ganado –*Boophilus microplus* (Canestrini).- I. El Colorado (provincia de Formosa Secretaría de Agricultura y Ganadería Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EREA P.R. Saenz Peña (boletín 82). 49 pp.
- Ivancovich JC, Braithwaite GB, Barnett SF. 1984. Comportamiento de los estados no-parasitarios de la garrapata del Ganado- *Boophilus microplus* (Canestrini). II-El Sombrerito (provincial de Corrientes). III-Bartolomé de las Casas (provincial de Formosa). IV. Siete diferentes localidades. Boletín de la Estación Experimental Regional Agropecuaria Presidente Roque Sáenz Peña, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria 88, 4-109.
- Jongejan F, Uilenberg G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology*. 129, 1-12.
- Klafke GM, Webster A, Dall'Agno B, Pradel E, Silva J, de La Canal LH, Becker M, Osório MF, Mansson M, Barreto R, Scheffer R, Souza UA, Corassini VB, dos Santos J, Reck J, Martins JR. 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Ticks Tick-borne Dis*. 8, 73-80.
- Labruna MB, Naranjo V, Mangold AJ, Thompson C, Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Jongejan F, de la Fuente J. 2009. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BMC Evol. Biol*. 9, 1-12.
- Lew-Tabor AE, Rodríguez Valle M. 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. *Ticks Tick-borne Dis*. 7, 573-585.
- Lombardero OJ. 1983. Evolución de los estudios sobre la garrapata del vacuno (*Boophilus microplus*) en la República Argentina en los últimos 100 años. *Therios*. 2, 32-52.
- Lovis L, Mendes MC, Perret JL, Martins JR, Bouvier J, Betschart B, Sager H. 2013. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. *Vet. Parasitol*. 191, 323-331.
- Mangold A J, Muñoz Cobeñas ME, Castelli MC, Scherling NJ, Delfino M, Guglielmone AA. 2000. Resistencia a la cipermetrina en una población de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) del norte de Santa Fe, Argentina. *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)*, 81: 259-261
- Mangold AJ, Castelli ME, Nava S, Aguirre DH, Guglielmone AA. 2004. Poblaciones de la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistentes a los piretroides en Córdoba y Salta, Argentina. *Revista FAVE*. 3, 55-59.
- Mastropaolo M, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Non-parasitic life cycle of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in *Panicum maximum* pastures in northern Argentina. *Res. Vet. Sci*. 115, 138-145.
- Morel N, Saracho-Bottero MN, Webster A, Klafke GM, Martins JR, Mangold AJ, Nava S, Guglielmone AA. 2016. Situación de la resistencia de *Rhipicephalus microplus* a acaricidas

piretroides en el noreste de Santiago del Estero. XXXIX Congreso Argentino de Producción Animal. Tandil, Argentina, noviembre 2016.

- Morel N, Signorini ML, Mangold AJ, Guglielmone AA, Nava S. 2017. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. *Prev. Med. Vet.* 144, 179-183.
- Nava S, Mastropaolo M, Guglielmone AA, Mangold AJ. 2013. Effect of deforestation and introduction of exotic grasses as livestock forage on the population dynamics of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) in northern Argentina. *Res. Vet. Sci.* 95, 1046-1054.
- Nava S, Mangold AJ, Canevari J, Morel N, Guglielmone AA. 2014. Strategic treatments with systemic biocides to control *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in northwestern Argentina. *InVet.* 16, 23-30.
- Nava S, Mangold AJ, Canevari JT, Guglielmone AA. 2015. Strategic applications of long-acting acaricides against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in northwestern Argentina, with an analysis of tick distribution among cattle. *Vet. Parasitol.* 208, 225-230.
- Nuñez JL, Pugliese ME, Hayes RP. 1972. *Boophilus microplus* Can. Estudios sobre los estadios parasitarios del ciclo biológico. *Rev. Med.Vet.* 53, 19-35.
- Nuñez JL, Muñoz Cobeñas M, Moltedo H. 1982. *Boophilus microplus*: la garrapata común del ganado vacuno. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 184 pp.
- Reck J, Klafke GM, Webster A Dall' Agnol B, Scheffer R, Souza UA, Corassini VB, Vargas R, Santos JS, Martins JR. 2014 a. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet. Parasitol.* 201, 128-136
- Reck J, Marks FS, Rodrigues RO, Souza UA, Webster A, Leite RC, Gonzalez JC, Klafke GM, Martins JR. 2014b. Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Conchliomyia hominivorax* in cattle?. *Prev. Vet. Med.* 113, 59-62
- Späth EJA, Guglielmone AA, Signorini AR, Mangold AJ. 1994. Estimación de las pérdidas económicas directas producidas por la garrapata *Boophilus microplus* y las enfermedades asociadas en la Argentina. 1ra parte. *Therios.* 23, 341-360.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN LA PROVINCIA DE SANTA FE (ACTUALIZACIÓN)

VANZINI, V.¹, BERGAMASCO M.², CERVERA M.², AGUIRRE N.¹, TORIONI DE ECHAIDE S.¹ Y MUÑOZ P.²

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, E. E. A. - Rafaela.

CC 22, CP 2300, Rafaela (Sta. Fe), Argentina.

² Ministerio de la Producción, Bvrd. Pellegrini 3100, CP 3000 - Santa Fe, Argentina.

Autor de contacto: 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 importante zoonosis.

Esta enfermedad 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.

El programa de control de la brucelosis bovina se basa en la vacunación sistemática de las hembras jóvenes con *Brucella abortus* cepa 19 y en el diagnóstico serológico y la segregación de animales positivos.

En la provincia de Santa Fe se vienen aplicando distintas estrategias destinadas al control de la enfermedad desde hace unos 50 años. En el año 2002 se comenzó a implementar el plan superador de control y erradicación de la brucelosis bovina (SENASA, Resol. 497/02) el cual está vigente en la actualidad.

En el año 2015 se publicó una reseña epidemiológica de la brucelosis bovina en la provincia de Santa Fe (Vanzini et al., 2015), recopilando información disponible hasta el año 2013. El objetivo de este trabajo es actualizar la información sobre vigilancia epidemiológica en ganado lechero incorporando resultados hasta el año 2016.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Origen y conservación de las muestras

Las MLTO (Muestras de Leche del Total de un Ordeño) se obtuvieron a partir 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. Se obtuvieron 1-3 ml de leche por tambo y se conservaron congeladas 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% + cloranfenicol 0,15%) a una concentración final del 0,02%, que no interfiere con la prueba (Vanzini et al., 2012)

2.- Frecuencia de muestreo

Las empresas lácteas realizan tres muestreos cuatrimestrales al año según lo establece la normativa vigente.

3.- Prueba serológica

Se utilizó la prueba ELISA-i para detectar anticuerpos específicos anti B. abortus en MLTO utilizando el protocolo desarrollado por Vanzini y col. (1998, 2001).

Los resultados se expresaron en porcentaje de positividad (PP) y el cálculo se realizó con la siguiente fórmula:

$$PP = DO \text{ de la muestra} \times 100 \div \text{Promedio de la DO del C++}$$

Donde:

DO: Densidad óptica. C++: Suero control positivo fuerte.

En cada placa se incluyeron por duplicado:

C++, suero control positivo fuerte, proveniente de un animal infectado.

C+, suero control positivo débil, derivado de hembras bovinas vacunadas con B. abortus cepa 19.

C-, suero control negativo

Cc, control de conjugado, solución salina tamponada.

Se consideró positivo a las muestras con un $PP \geq 23$ (Vanzini et al, 2001, Nicola y Elena, 2009). Las muestras que resultaron positivas fueron reevaluadas.

Los reactivos para ELISA fueron provistos por la Canadian Food Inspection Agency (CFIA), Nepean, Ontario, Canadá.

3.- Estatus del establecimiento

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 consideró infectado 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).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron distribuidos por año y agrupados inicialmente por zonas y departamentos, de acuerdo a lo establecido en el plan superador de control y erradicación de la brucelosis bovina en la provincia de Santa Fe (SENASA, Resol. 497/02).

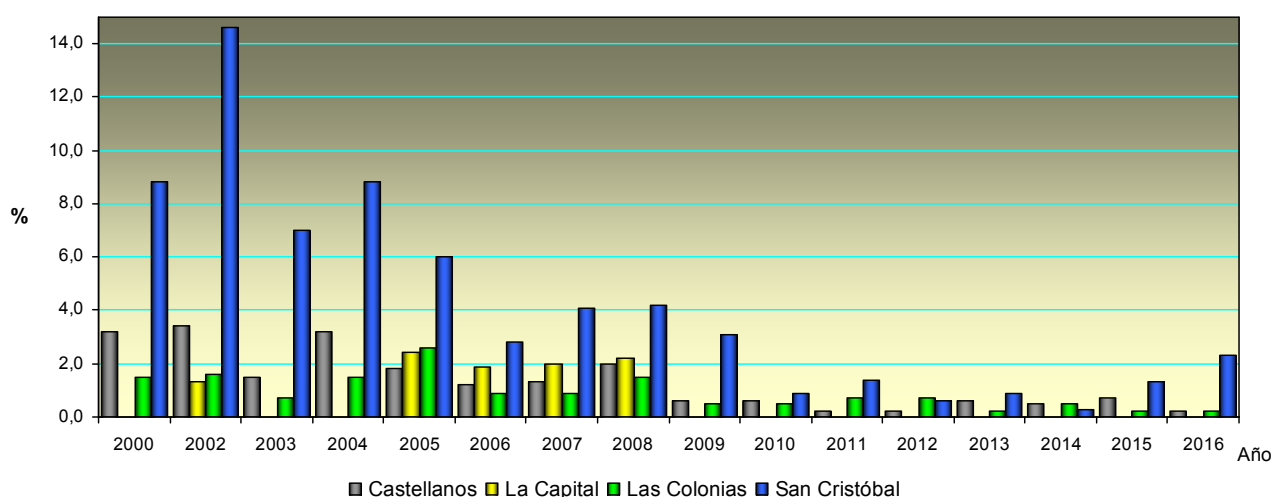
En la zona 2, (Castellanos y Las Colonias) en los últimos ocho años, la proporción de tambos positivos no supera el 0,7 % (tabla 1). Estos resultados, aún cuando no se realizó un censo, indican que se está en condiciones para iniciar la etapa de erradicación de la enfermedad.

En los departamentos Las Colonias y La Capital, la situación es estable con índices inferiores al 5% en los últimos 20 años (Vanzini et al., 2015) y desde 2009 junto a Castellanos es inferior al 1% (figura 1).

En el departamento San Martín se había detectado un incremento de la proporción de muestras positivas (Vanzini et al., 2015), pero luego de la intensificación de las tareas de saneamiento nuevamente disminuyó (tabla 1).

En la figura 1 puede apreciarse la evolución de la proporción de MLTO positivas a las pruebas de vigilancia epidemiológica en cuatro departamentos donde se concentra aproximadamente el 75% de la producción provincial, durante los últimos 16 años.

Figura 1: Evolución de la proporción de MLTO positivas a ELISA 2000 – 2016, en cuatro departamentos de la provincia de Santa Fe.



En el departamento San Cristóbal se observó una declinación sostenida de la proporción de muestras positivas hasta el año 2014, pero en los dos últimos años nuevamente se nota un leve incremento.

La situación epidemiológica en los cinco departamentos centrales de la provincia, adquiere especial relevancia desde el punto de vista económico, ya que los departamentos Castellanos, Las Colonias, San Cristóbal, La Capital y San Martín, concentran el 90% de la producción láctea provincial.

Tabla 1: Distribución anual de los resultados a la prueba ELISA-i por departamentos y zonas durante el período 2008 - 2016

Departamentos	2008					2009					2010					2011					2012				
	N	n	%	Pos	%	N	n	%	Pos	%	N	N	%	Pos	%	N	n	%	Pos	%	N	n	%	Pos	%
Belgrano	25	12	48	1	8,3	25	14	56	1	7,1	25	12	48	0	0,0	27	12	44,4	0	0,0	26	15	57,7	1	6,7
Caseros	25	3	12	0	0,0	25	5	20	0	0,0	25	3	12	0	0,0	25	5	20	0	0,0	23	8	34,8	0	0,0
Constitucion		0	0	0			0	0	0	0,0		0	0	0	0,0		0	0	0	0,0	1	1	100	0	0,0
Gral. Lopez	141	6	4,3	0	0,0	143	7	4,9	0	0,0	132	5	3,8	0	0,0	127	5	3,9	0	0,0	124	6	4,8	0	0,0
Iriondo	140	80	57,1	4	5,0	130	81	62,3	5	6,2	119	88	73,9	1	1,1	121	91	75,2	3	3,3	117	95	81,2	5	5,3
La Capital	126	92	73	2	2,2	127	95	74,8	0	0,0	124	87	70,2	0	0,0	119	87	73,1	0	0,0	119	80	67,2	0	0,0
Rosario	37	4	10,8	0	0,0	30	5	16,7	0	0,0	27	10	37	1	10,0	22	11	50	0	0,0	19	13	68,4	0	0,0
San Cristobal	752	308	41	13	4,2	757	318	42	10	3,1	756	330	43,7	3	0,9	799	345	43,2	5	1,4	788	358	45,4	2	0,6
San Jeronimo	150	58	38,7	2	3,4	150	61	40,7	5	8,2	139	67	48,2	4	6,0	141	67	47,5	1	1,5	133	74	55,6	7	9,5
San Justo	99	99	100	3	3,0	99	99	100	1	1,0	97	93	95,9	1	1,1	96	92	95,8	1	1,1	100	90	90	1	1,1
San Lorenzo	48	9	18,8	3	33,3	47	11	23,4	2	18,2	41	10	24,4	3	30,0	40	11	27,5	3	27,3	39	11	28,2	3	27,3
San Martin	340	113	33,2	9	8,0	335	115	34,3	10	8,7	334	98	29,3	9	9,2	324	84	25,9	0	0,0	317	67	21,1	3	4,5
Totales Zona 1	1883	784	41,6	37	4,7	1868	811	43,4	34	4,2	1819	803	44,1	22	2,7	1841	810	44	13	1,6	1806	818	45,3	22	2,7
Castellanos	1304	512	39,3	10	2,0	1291	533	41,3	3	0,6	1268	505	39,8	3	0,6	1271	529	41,6	1	0,2	1272	516	40,6	1	0,2
Las Colonias	1112	653	58,7	10	1,5	1104	626	56,7	3	0,5	1045	664	63,5	3	0,5	1046	582	55,6	4	0,7	1051	568	54	4	0,7
Totales Zona 2	2416	1165	48,2	20	1,7	2395	1159	48,4	6	0,5	2313	1169	50,5	6	0,5	2317	1111	47,9	5	0,5	2323	1084	46,7	5	0,5
9 de Julio	20	20	100	6	30,0	21	21	100	5	23,8	21	21	100	4	19,0	21	21	100	4	19,0	20	20	100	3	15,0
Garay		0	0	0	0,0		0	0	0	0,0		0	0	0	0,0		0	0	0	0,0		0	0	0	
Gral. Obligado	36	36	100	2	5,6	34	32	94,1	0	0,0	37	34	91,9	0	0,0	35	33	94,3	0	0,0	32	29	90,6	0	0,0
San Javier	20	12	60	0	0,0	25	19	76	0	0,0	25	10	40	0	0,0	23	10	43,5	0	0,0	22	10	45,5	1	10,0
Vera	22	22	100	1	4,5	21	21	100	0	0,0	23	23	100	0	0,0	20	20	100	0	0,0	20	20	100	0	0,0
Totales Zona 3	98	90	91,8	9	10,0	101	93	92,1	5	5,4	106	88	83	4	4,5	99	84	84,8	4	4,8	94	79	84	4	5,1
Totales Provincia	4397	2039	46,4	66	3,2	4364	2063	47,3	45	2,2	4238	2060	48,6	32	1,6	4257	2005	47,1	22	1,1	4223	1981	46,9	31	1,6

Tabla 1: Distribución anual de los resultados a la prueba ELISA-i por departamentos y zonas durante el período 2008 - 2016

Departamentos	2013					2014					2015					2016				
	N	n	%	Pos	%	N	n	%	Pos	%	N	N	%	Pos	%	N	n	%	Pos	%
Belgrano	26	11	42,3	1	9,1	24	11	45,8	1	9,1	24	14	58,3	1	7,1	18	9	50	0	0,0
Caseros	25	7	28	0	0,0	23	5	21,7	0	0,0	20	4	20	0	0,0	17	4	23,5	0	0,0
Gral. Lopez	134	6	4,5	0	0,0	135	5	3,7	0	0,0	120	14	11,7	0	0,0	111	7	6,3	0	0,0
Iriondo	121	93	76,9	7	7,5	145	93	64,1	2	2,2	146	105	71,9	5	4,8	133	92	69,2	2	2,2
La Capital	120	77	64,2	0	0,0	128	72	56,3	0	0,0	126	69	54,8	0	0,0	106	58	54,7	0	0,0
Rosario	21	13	61,9	0	0,0	21	12	57,1	1	8,3	17	8	47,1	0	0,0	19	8	42,1	0	0,0
San Cristobal	792	324	40,9	3	0,9	820	376	45,9	1	0,3	796	377	47,4	5	1,3	717	348	48,5	8	2,3
San Jeronimo	136	57	41,9	7	12,3	138	75	54,3	5	6,7	129	78	60,5	4	5,1	123	73	59,3	3	4,1
San Justo	101	16	15,8	0	0,0	96	71	74	1	1,4	90	63	70	2	3,2	77	52	67,5	1	1,9
San Lorenzo	37	13	35,1	2	15,4	35	11	31,4	2	18,2	34	10	29,4	0	0,0	36	6	16,7	0	0,0
San Martin	315	65	20,6	8	12,3	306	72	23,5	7	9,7	308	77	25	6	7,8	293	65	22,2	2	3,1
<i>Totales Zona 1</i>	1828	682	37,3	28	4,1	1873	803	42,9	20	2,5	1812	819	45,2	23	2,8	1652	722	43,7	16	2,2
Castellanos	1290	516	40	3	0,6	1366	552	40,4	3	0,5	1253	555	44,3	4	0,7	1194	518	43,4	1	0,2
Las Colonias	1032	450	43,6	1	0,2	1017	569	55,9	3	0,5	1031	566	54,9	1	0,2	973	509	52,3	1	0,2
<i>Totales Zona 2</i>	2322	966	41,6	4	0,4	2383	1121	47	6	0,5	2284	1121	49,1	5	0,4	2167	1027	47,4	2	0,2
9 de Julio	19	19	100	4	21,1	19	15	78,9	2	13,3	16	16	100	3	18,8	17	17	100	2	11,8
Gral. Obligado	32	23	71,9	1	4,3	31	24	77,4	0	0,0	30	14	46,7	1	7,1	29	14	48,3	0	0,0
San Javier	21	9	42,9	0	0,0	22	10	45,5	0	0,0	19	1	5,3	0	0,0	17	5	29,4	0	0,0
Vera	20	4	20	0	0,0	22	22	100	0	0,0	19	19	100	0	0,0	13	13	100	0	0,0
<i>Totales Zona 3</i>	92	55	59,8	5	9,1	94	71	75,5	2	2,8	85	50	58,8	4	8,0	76	49	64,5	2	4,1
Totales Provincia	4242	1703	40,1	37	2,2	4350	1995	45,9	28	1,4	4181	1990	47,6	32	1,6	3895	1798	46,2	20	1,1

Referencias: N: Número de establecimientos productores de leche. Sistema Sanitario Productivo y Participativo. Ministerio de la Producción, Santa Fe. n: Número de muestras analizadas. SD: Sin Datos.

CONSIDERACIONES FINALES

En los departamentos Castellanos y Las Colonias, en los últimos ocho años, se observa una situación consolidada con menos del 1% de establecimientos positivos a la prueba ELISA, lo cual indica que se alcanzó el límite máximo con la planificación vigente. Si se pretende avanzar hacia la erradicación de la enfermedad, objetivo propuesto para la zona 2 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 la zona 2 (departamentos Castellanos y Las Colonias). El monitoreo anual de establecimientos libres mediante sangrado no parece una medida que se pueda mantener en el tiempo por la cantidad de recursos humanos y tiempo que requiere, además del costo. 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, análisis e implementación de 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.

En el código sanitario en los últimos años se incluyó la categoría de “*País o zona libre de infección por Brucella en bovinos con vacunación*”, en consecuencia, se podría mantener la cobertura vacunal. En Argentina la única vacuna aprobada es a base de *Brucella abortus* cepa 19. No se discute sobre el nivel de protección ni la estabilidad de esta vacuna, sin embargo, uno de los inconvenientes es la producción de anticuerpos que generan resultados falsos positivos con las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico, por lo tanto, su reemplazo por una vacuna rugosa que no produzca ese efecto indeseable simplificaría la interpretación epidemiológica de los resultados serológicos.

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, el Ministerio de la Producción y los entes sanitarios involucrados.

Finalmente será necesario reforzar y continuar con las acciones sanitarias en las zonas 1 y 3 a los fines de disminuir la prevalencia e incorporar a la totalidad de los establecimientos al estatus de saneamiento o libre. La mejora en la situación epidemiológica no sólo tendría un efecto favorable en las dos regiones, sino que también contribuiría a reducir la posibilidad de infección hacia la futura área libre.

BIBLIOGRAFIA

- 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*.

- 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.* 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

NUTRICIÓN

COMPARACIÓN DE SISTEMAS DE ALIMENTACIÓN EN TERNEROS DE TAMBO

SALADO, E.E.*; GALARZA, R.; CUATRIN, A.; CALLACI, C.

INTA, EEA Rafaela

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

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos de la crianza artificial de terneros es maximizar el desarrollo ruminal, es decir que el ternero pase de lactante a rumiante en el menor tiempo posible, disminuyendo así los costos de alimentación con dieta líquida y preparando anticipadamente el rumen de los animales para digerir dietas sólidas (Chaves y col., 2014). En este sentido, los preiniciadores (PI) o lactoreemplazantes sólidos, son alimentos que se utilizan para crianza artificial de terneros y que permitirían lograr estos objetivos. Poseen una digestibilidad similar a la de la leche o sustituto lácteo y mayor a la de los balanceados comunes. Permiten reducir el período de lactante (desleche entre 14 y 21 días de vida) con un desarrollo integral del rumen y adelantar la etapa de recría. Existen distintas opciones comerciales que varían en su composición e ingredientes, lo cual influiría en el consumo de dieta sólida y en la ganancia de peso vivo (PV) de los terneros.

El objetivo del estudio fue evaluar los efectos de tres sistemas de alimentación durante la crianza artificial (dos sistemas de desleche anticipado y un sistema convencional) sobre el comportamiento productivo de terneros Holstein. Adicionalmente, se estimaron los costos de alimentación de los sistemas evaluados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la EEA Rafaela del INTA. Se utilizaron 63 terneros (42 machos y 21 hembras), 21 por tratamiento, con $39,9 \pm 5,1$ kg PV al nacimiento promedio (sin diferencias entre tratamientos), los cuales comenzaron la crianza artificial en estaca a partir del día 2 de vida, previo calostrado natural durante las primeras 24 h. Los terneros fueron asignados aleatoriamente a los tratamientos a medida que nacieron (período de nacimiento: 20 febrero al 24 marzo) lográndose de esta forma una fecha de nacimiento promedio similar (05 de marzo ± 11 días).

Los tratamientos (sistemas de alimentación) fueron impuestos durante 8 semanas y consistieron en: **tratamiento convencional (TC)**: control, 4 litros de leche día⁻¹ (2 litros a.m. y 2 litros p.m.) + balanceado iniciador (92,5% MS, 18,7% PB, 21,5% FDN, 7,3% FDA, 4,4% EE, 7,0% cenizas y 83,8% DIVMS) a voluntad, realizándose el desleche cuando los terneros consumían 1 kg día⁻¹ de balanceado iniciador durante 3 días consecutivos y se continuó con balanceado iniciador + heno de alfalfa y agua a voluntad hasta finalizar la etapa; **tratamiento anticipado (TAR)**: 4 litros de leche día⁻¹ (2 litros a.m. y 2 litros p.m.) + balanceado PI Ruter (92,9% MS, 28,6% PB, 12,8% FDN, 4,7% FDA, 6,5% EE, 9,1% cenizas y 84,9% DIVMS), realizándose el desleche cuando los terneros consumían 0,4 kg día⁻¹ de PI durante 3 días consecutivos; **tratamiento anticipado (TAQ)**: ídem TAR pero con suministro de balanceado PI Quicker (94,9% MS, 25,7% PB, 9,0% FDN, 3,9% FDA, 9,2% EE, 8,4% cenizas y 89,2% DIVMS). Luego del desleche, tanto en TAR como en TAQ, se continuó con el suministro de PI hasta lograr un consumo de 1 kg día⁻¹, reemplazándolo gradualmente

por balanceado iniciador, suministrado a voluntad hasta finalizar la crianza. Adicionalmente, se suministró heno de alfalfa y agua a voluntad.

Cabe aclarar que los protocolos utilizados en TAR y TAQ se aplicaron siguiendo las indicaciones de los fabricantes y que el protocolo control (TC) se definió en base a los resultados de un ensayo previo realizado en la EEA Rafaela del INTA, cuyo objetivo fue evaluar los efectos de un balanceado iniciador experimental sobre la performance de terneros Holstein bajo dos sistemas de manejo: desleche a los 60 días y desleche anticipado (Gregoret, 2005).

A posteriori, durante los primeros 98 días de la recría, todos los terneros recibieron la misma alimentación consistente en pastura de alfalfa, heno de alfalfa a voluntad y balanceado comercial (16% PB) al 1,5% PV.

Los terneros se pesaron individualmente (previo al suministro de alimento) cada 7 días durante la crianza y cada 15 días durante la recría. El aumento medio diario de PV (AMD) entre dos pesadas sucesivas se calculó como la diferencia entre el PV final menos el PV inicial dividido por la cantidad de días transcurridos. El consumo diario individual de balanceado se determinó por diferencia entre oferta y rechazo. La leche suministrada fue medida en cada toma, no registrándose remanentes.

Los datos se analizaron según un modelo con observaciones repetidas en el tiempo ajustado por covariable (peso al nacimiento para la etapa de crianza y peso final de crianza para la recría), incluyendo los efectos sistema de crianza, sexo, semana y sus interacciones. El paquete estadístico utilizado fue SAS (1999), considerando al animal como unidad experimental. Las medias se compararon mediante el test LSD ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se detectó interacción tratamiento x sexo para AMD y PV, indicando que la respuesta a los tratamientos no fue afectada por el sexo de los terneros. La edad media de los terneros al desleche (días) y la cantidad de leche consumida (litros ternero⁻¹) fueron reducidas significativamente ($p<0,01$) en TAR y TAQ con respecto TC, sin diferencias entre ellos (28,3, 31,3, 40,8 y 113,1, 125,3, 163,3 para TAR, TAQ y TC, respectivamente). El consumo de balanceado resultó significativamente mayor ($p<0,02$) en TAR, sin diferencias entre TAQ y TC (896,6, 736,2 y 741,9 g día⁻¹, para TAR, TAQ y TC, respectivamente). Esto se tradujo en un mayor AMD en TAR con respecto a TAQ y TC, sin diferencias entre estos últimos (Cuadro 1). Sin embargo, durante la recría no hubo diferencias en AMD, lo que implica ausencia de efecto residual.

Cuadro 1: Aumento medio diario según períodos y tratamientos¹.

Período	TAR	TAQ	TC	EEM	P< ²
Crianza artificial					
AMD, kg día ⁻¹	0,624 ^a	0,505 ^b	0,533 ^b	0,023	0,01
Recría					
AMD, kg día ⁻¹	0,815	0,840	0,821	0,036	0,88

^{a,b}Medias dentro de fila con distinta letra difieren significativamente ($P<0,05$).

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMMeans (EEM). ²Efecto tratamiento.

Los resultados obtenidos durante el período de crianza artificial son similares a los reportados por Chaves y col. (2014) quienes evaluaron el comportamiento productivo y el desarrollo morfológico del rumen de terneros Holstein lactantes recibiendo alimento iniciador extrusado (Ruter) vs. no extrusado (control) y detectaron una tendencia ($p > 0,05$) a mayor PV al desleche (+5,7 %) y ganancia diaria de PV en los terneros que consumieron Ruter. Sin embargo, en dicho estudio estudio, a pesar que Ruter estimuló la proliferación de las células del epitelio ruminal, la edad media de los terneros al desleche no difirió entre tratamientos (Chaves y col., 2014). A su vez, los valores de AMD y días promedio al desleche registrados en TC resultaron cercanos a los informados por Gregoret (2005), $0,569 \text{ kg día}^{-1}$ y 42 días, quien empleó un balanceado iniciador de similar calidad nutricional que el suministrado en el presente estudio.

Se detectó interacción tratamiento x semana ($p < 0,01$) para evolución del PV durante la crianza: a partir de la sexta semana los pesos del grupo TAR resultaron significativamente superiores, sin diferencias entre tratamientos durante la recría (Figura 1). Los pesos alcanzados al final de la etapa de recría resultaron similares entre tratamientos ($p < 0,64$) y fueron 145,7, 148,4 y 143,8 kg para TAR, TAQ y TC, respectivamente.

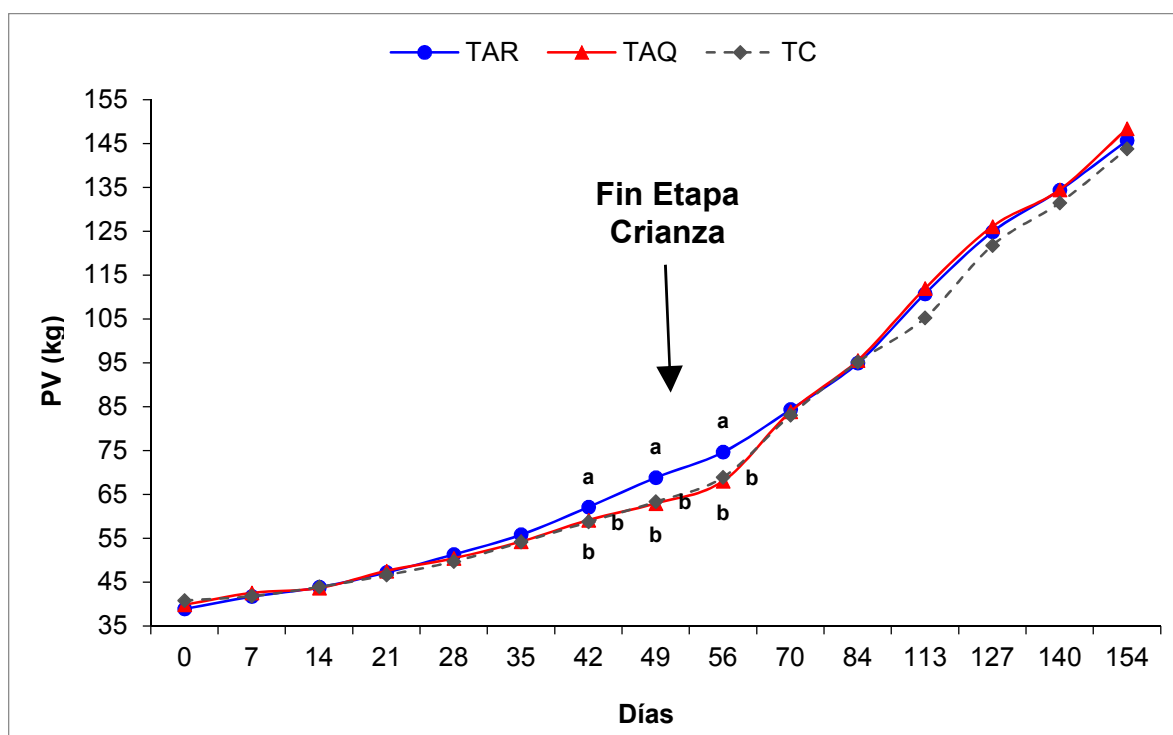


Figura 1: Evolución del peso vivo según tratamientos.

En el Cuadro 2 se presentan los costos de alimentación de la etapa de crianza artificial para los tres sistemas evaluados.

Cuadro 2: Consumo de alimentos y costos de alimentación de la crianza artificial según tratamientos.

Variable	TAR	TAQ	TC
Consumo			
Leche (litros ternero ⁻¹)	113,1	125,3	163,3
Balanceado (kg ternero ⁻¹)			
Ruter	23,0	-	-
Quicker	-	23,9	-
Iniciador	26,8	17,1	40,6
Total	49,8	41,0	40,6
Costo de alimentos			
Leche ¹ (\$ ternero ⁻¹)	617,5	682,9	890,0
Ruter ² (\$ ternero ⁻¹)	575,0	-	-
Quicker ³ (\$ ternero ⁻¹)	-	430,2	-
Balanceado iniciador ⁴ (\$ ternero ⁻¹)	144,7	92,3	219,2
Total (\$ ternero ⁻¹)	1337,2	1205,4	1109,2
Costo de mano de obra ⁵ (\$ ternero ⁻¹)	224,0	236,0	276,0
Costo de suministro ⁶ (\$ ternero ⁻¹)	123,2	131,1	157,5
Costo Total (\$ ternero ⁻¹)	1684,4	1572,5	1542,7
Costo total ⁷ (\$ kg PV ternero ⁻¹)	22,5	23,1	22,4

¹Precio= \$5,45 litro⁻¹ (Junio 2017); ²Precio= \$25,0 kg⁻¹ (Junio 2017); ³Precio= \$18,0 kg⁻¹ (Junio 2017); ⁴Precio= \$5,43 kg⁻¹ (Junio 2017); ⁵\$75,0 hora⁻¹, incluyendo cargas sociales y aguinaldo (sueldo empleados Asociación Coop. INTA Rafaela al 30/06/2017); ⁶UTA= \$660,0 (Junio 2017); ⁷PV al final de la crianza artificial= 74,7, 68,1 y 69,0 kg, para TAR, TAQ y TC, respectivamente.

A pesar de la reducción en el consumo de leche y en los costos de mano de obra y suministro en los sistemas de desleche anticipado (TAR y TAQ), los costos de alimentación de la crianza artificial por kg PV de ternero logrado resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 2).

CONCLUSIÓN

Los resultados del presente trabajo indican que el sistema de desleche anticipado TAR redujo la edad media de desleche y mejoró el AMD de los terneros durante la crianza con respecto al sistema convencional (TC), no observándose efectos residuales durante los primeros 98 días de la recría. En el actual escenario de precios, los costos de alimentación de la crianza artificial (\$ kg PV ternero⁻¹) en los sistemas de desleche anticipado, resultaron similares a los del sistema convencional con desleche a los 41 días.

BIBLIOGRAFÍA

- CHAVES, A.S, COSTA, S.F.; QUEIROZ DE MELO, L.; PEREIRA, M.N. 2014. Performance of Calves Submitted to Protocols Using Extruded or Ground Starter. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57: 695-700.
- GREGORET, R. Crianza eficiente de terneros: comparación entre sistemas de alimentación. *Agromercado: cuadernillo de producción animal n° 108 (sept.2005)*, p.10-15.
- SAS. 1999. SAS/STAT® User's guide (Release 8.0). SAS Inst. Inc., Cary, NC

**CALIDAD
DE
LECHE
Y
AGROINDUSTRIA**

ENSAYO DE VALIDACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE LIPÓLISIS EN GRASA LÁCTEA ANHIDRA

ADORNI, M.B.*, CAMPOS, S., CUATRIN, A., COSTABEL, L., PAEZ, R.

¹ INTA EEA Rafaela; Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria

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

INTRODUCCIÓN

La materia grasa de la leche está constituida por aproximadamente un 98% de triglicéridos. La hidrólisis de estos triglicéridos, denominada lipólisis, se traduce en un incremento en la concentración de los ácidos grasos libres (AGL) de la leche. Éstos son los responsables de la aparición de gustos anormales (rancia, jabón, etc.) en ciertos productos terminados. La lipólisis no constituye uno de los principales criterios de calidad de materia prima requeridos por la industria lechera. Sin embargo, en determinados tipos de fabricaciones (manteca, cremas, leche en polvo entera, etc.) esta alteración puede resultar determinante sobre la calidad final de estos productos (Taverna, 2005). El valor de lipólisis puede ser condicionante para la exportación.

El método de referencia utilizado para realizar la determinación de lipólisis se describe en la Norma ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004. Dicho método es utilizado para determinar el grado de lipólisis en grasa láctea anhidra. El método consiste en pesar entre 5 y 10g de grasa láctea anhidra, disolverla con 50ml de una mezcla de 2 propanol y éter de petróleo luego titular con hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,1N, utilizando como indicador azul de timol, hasta neutralizar los AGL contenidos en la muestra.

El problema que se presenta al momento de realizar la determinación de lipólisis siguiendo la metodología descrita es que, en caso de analizar una muestra de leche fluida o leche en polvo, previamente se debe llevar a cabo un proceso de extracción de la materia grasa. Para obtener 10 g de grasa (peso utilizado para realizar la determinación por duplicado) es necesario realizar: para el caso de leche fluida, 36 extracciones y para leche en polvo, 6. Este proceso demanda tiempo y es costoso debido a que se utilizan grandes cantidades de reactivos.

Bajo este contexto se planificó realizar un trabajo de validación del método de referencia, utilizando menor cantidad de grasa que lo especificado en el mismo. Se propuso realizar la determinación a partir de 1g de grasa láctea anhidra. De este modo, para obtener 2g de grasa (peso utilizado para realizar la determinación por duplicado), se realizan 8 extracciones para el caso de leche fluida y 1 para leche en polvo.

La validación es la confirmación a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Brinda idea de las capacidades y limitaciones de la performance de ese método, que se pueden experimentar durante el uso rutinario. El objetivo de la validación es probar la aptitud de los métodos, así como la capacidad del laboratorio. La realización de actividades de validación de los métodos de ensayo utilizados por el propio laboratorio, contemplan la satisfacción de las necesidades del cliente y la adecuación para realizar los ensayos previstos (Organismo Argentino de Acreditación, 2013).

Al momento de establecer el alcance de la validación, se diferencian tres casos, en los que la dificultad de la validación aumenta del primero al tercero:

- método de ensayo normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en la norma;
- modificación a un método de ensayo normalizado, por ejemplo, se hicieron modificaciones a los métodos descritos en la norma que pueden tener repercusión sobre la calidad de los resultados y
- método de ensayo interno, elaborado en el laboratorio y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos.

El objetivo de este trabajo fue verificar la concordancia en la determinación de lipólisis en grasa láctea anhidra utilizando el método de referencia especificado en la Norma ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004 en comparación con el método modificado por el laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

1- Alcance de la validación: El alcance de la validación se correspondió a una modificación de un método de ensayo normalizado. En la Tabla 1 se describen las diferencias entre el método de referencia especificado en la Norma ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004 (método 1) y el método modificado por el laboratorio (método 2).

Tabla 1: Diferencias entre el método de determinación de lipólisis de acuerdo a la norma de referencia y el modificado por el laboratorio.

Descripción	Método 1	Método 2
Peso de la muestra	5-10g grasa láctea anhidra	1g de grasa láctea anhidra
Disolvente	50ml de disolvente	10ml de disolvente
Titulante	hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,1N	hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,01N
Cálculo y expresión del resultado	$W_a = \frac{((V_1 - V_2) * c)}{m} * 100$ Donde: Wa: Acidez de la grasa V1: es el volumen, en ml, de la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,1N usado en la titulación de la porción de muestra disuelta. V2: es el volumen, en ml, de la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,1N usado en la titulación del blanco. c: es la concentración exacta, en moles por litro, de la la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio (0,1N). M: es la masa, en g, de la porción de prueba.	$W_a = \frac{((V_1 - V_2) * c)}{m} * 100$ Donde: Wa: Acidez de la grasa V1: es el volumen, en ml, de la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,01N usado en la titulación de la porción de muestra disuelta. V2: es el volumen, en ml, de la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,01N usado en la titulación del blanco. c: es la concentración exacta, en moles por litro, de la la solución de Hidróxido de tetra-n-butil amonio (0,01N). M: es la masa, en g, de la porción de prueba.

2- Prueba de concordancia: El objetivo de esta prueba fue determinar la concordancia, a través del Coeficiente de Lin, de los resultados obtenidos entre el método 1 y 2. Su fórmula es:

$$\widehat{\rho}_c = \frac{2 S_{12}}{S_1^2 + S_2^2 + (\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2)^2}$$

donde:

$\widehat{\rho}_c$ = coeficiente de concordancia de Lin estimado

S_{12} = covariancia entre los resultados de los métodos 1 y 2

S_1^2 = varianza del método 1

S_2^2 = varianza del método 2

\bar{Y}_1 = media del método 1

\bar{Y}_2 = media del método 2

Para ello, se analizaron 7 muestras de grasa láctea anhidra con diferentes niveles de lipólisis. Las determinaciones se realizaron por duplicado, utilizando los métodos a evaluar.

El Coeficiente de Lin es un método estadístico que permitió determinar la semejanza de mediciones de una variable continua en las mismas muestras, realizadas con métodos diferentes. A través de este análisis se calculó el coeficiente de concordancia, cuyo criterio de aceptación estipulado es:

- >0,99 concordancia casi perfecta,
- 0,99 – 0,95 concordancia sustancial,
- 0,94 – 0,90 concordancia moderada,
- <0,89 concordancia pobre

Se consideró que existe concordancia entre los métodos evaluados cuando el valor arrojado es superior a 0,95 (Cortés-Reyes et al., 2010).

3. Determinación de las relaciones entre las mediciones: La finalidad de esta prueba fue determinar una relación, la cual permitió calcular un coeficiente de conversión que será incorporado en el cálculo para obtener el valor de lipólisis final, en caso de que se aplique el método 2.

Se analizaron 18 muestras de grasa láctea anhidra con diferentes niveles de lipólisis; las mismas se determinaron por duplicado, utilizando los dos métodos descriptos anteriormente.

Se planteó un análisis de regresión lineal; en el caso de verificar que la ordenada al origen fuera estadísticamente igual a cero se realizará un análisis de regresión lineal a través del origen.

4. Validación de la relación entre las variables: En esta etapa se verificó que la medición del método 1 sea concordante con el valor obtenido de lipólisis mediante el método 2, aplicando al resultado el coeficiente de conversión calculado.

Se analizaron 8 muestras de grasa láctea anhidra con diferentes niveles de lipólisis; las mismas se determinaron, por duplicado, utilizando los dos métodos descriptos anteriormente.

Los resultados obtenidos por el método 2 fueron multiplicados por el coeficiente de conversión calculado para obtener el valor final de lipólisis y comparados con los valores obtenidos por el método 1.

Para la evaluación de la concordancia se utilizó el coeficiente propuesto en el punto 2.2.

Para la realización de todos los análisis estadísticos descriptos anteriormente se utilizó el software R (2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Prueba de concordancia:

Los resultados obtenidos en la prueba de concordancia se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Valores obtenidos utilizando el método 1 y 2 para la prueba de concordancia a partir del análisis de siete muestras

Muestra	Promedio Método 1 (mmol/100g)	Promedio Método 2 (mmol/100g)	Diferencias entre métodos (mmol/100g)
M2	1,12	1,06	0,06
B 097H1	1,28	1,21	0,07
H3	0,86	0,81	0,05
B 153	1,32	1,21	0,11
150045-2	0,81	0,70	0,11
AMF 11	0,78	0,71	0,07
150045-1	0,77	0,71	0,06

El análisis estadístico realizado determinó que el coeficiente de concordancia, calculado a través del Coeficiente de Lin, fue de 0,94 (concordancia moderada). De acuerdo al criterio de aceptación descrito en punto 2.2, se observa que no existe concordancia entre los métodos estudiados.

En la Tabla 2 se puede observar que el método 1 obtuvieron valores por encima del método 2. Además, algunas muestras no cumplieron con el límite de reproducibilidad especificado en la norma de referencia ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004, la cual establece que la diferencia entre dos resultados debe ser menor a 0,08mmol/100g grasa.

2. Determinación de las relaciones entre las mediciones

Los valores obtenidos para determinar las relaciones entre las variables se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3: Valores obtenidos utilizando el método 1 y 2 a partir del análisis de 18 muestras

Muestra	Promedio Método 1 (mmol/100g)	Promedio Método 2 (mmol/100g)
M2	1,12	1,06
B 097H1	1,28	1,21
H3	0,86	0,81
B 153	1,32	1,21
150045-2	0,81	0,70
AMF 11	0,78	0,71
150045-1	0,77	0,71
5 H3	0,93	0,83
1	1,22	1,03
B070 3	1,46	1,34
4 B097H	1,39	1,22
B 097H2	1,38	1,19
B 153	1,44	1,24
B097H1 2	1,40	1,23
5 H3	0,93	0,79
1 agitación	1,25	1,06
4 B097H agitación	1,42	1,23
B070 3	1,55	1,32

Criterio de aceptación: se adoptará el modelo de regresión como válido si la ecuación obtenida es estadísticamente significativa al nivel de error adoptado ($\alpha < 0,05$).

En la Fig. 1, se muestra el gráfico de promedio método 2 en función de promedio método 1, a partir del cual se obtuvo la siguiente ecuación de regresión lineal: $y = 1,1479x - 0,0207$.

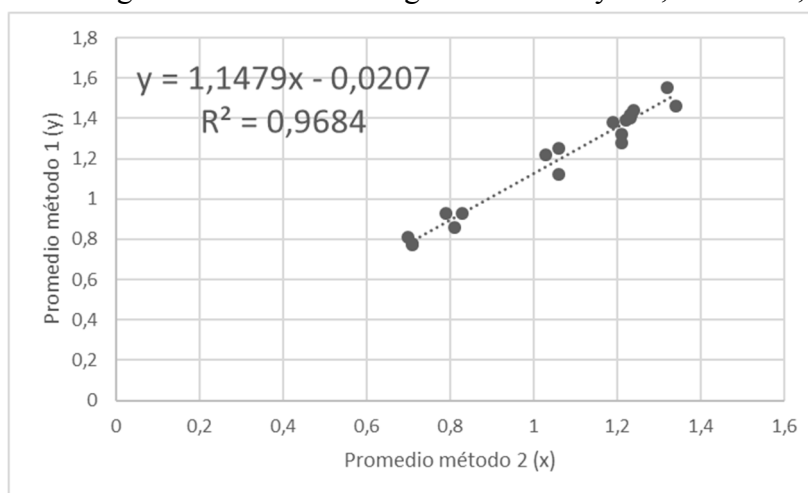


Fig. 1. Gráfico de promedio método 2 en función de promedio método 1 a partir de 18 muestras analizadas, Ecuación de regresión lineal.

Dado que la ordenada al origen de esta ecuación no fue estadísticamente significativa, se procedió al ajuste de la misma a través del origen (Fig. 2).

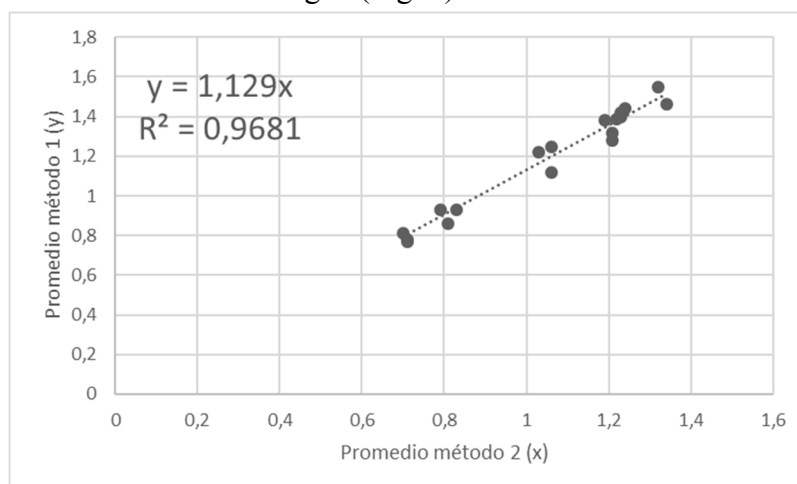


Fig. 2: Ajuste de la ecuación $y = 1,1479x - 0,0207$ a través del origen.

A partir de la ecuación $y = 1,129x$ se determinó el coeficiente que permitió la conversión de la metodología modificada respecto a la de referencia, siendo: método 1 = método 2 * 1,129. Se observó (Fig. 1 y 2) que el coeficiente de determinación no se modificó por la eliminación de la ordenada.

3. Validación de la relación entre las variables:

Los resultados de las muestras analizadas para validar la relación entre las metodologías se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Valores obtenidos utilizando el método 1 y 2 para la prueba de validación del coeficiente de conversión.

Muestra	Promedio Método 1 (mmol/100g)	Promedio Método 2	
		(afectado por coeficiente de conversión) (mmol/100g)	Diferencias entre métodos
1	1,03	1,00	0,03
5	0,77	0,78	-0,01
sample 1	0,72	0,74	-0,02
sample 2	0,76	0,81	-0,05
B622	1,08	1,09	-0,01
AMF 11	0,74	0,77	-0,03
BO TESTIGO	1,10	1,15	-0,05
3	1,26	1,22	0,04

Los resultados calculados en el método 2 se obtuvieron multiplicando el valor de lipólisis por el coeficiente de conversión calculado (1,129), es decir:

$$W_a = (((V_1 - V_2) * c) / m) * 100 * 1,129$$

El análisis estadístico realizado determinó que el coeficiente de concordancia, calculado a través del Coeficiente de Lin, fue de 0,98, por lo que, al aplicar el coeficiente de conversión se modificó la concordancia de 0,94 a 0,98 (de moderada a sustancial). De modo que la concordancia entre ambos métodos fue satisfactoria, de acuerdo al criterio de aceptación especificado en el punto 2.2.

Además, se puede observar en la Tabla 4, que las diferencias obtenidas entre los métodos fueron menores a los valores de la Tabla 2, por lo que, al aplicar la transformación al resultado se mejoró la reproducibilidad entre los métodos, cumpliendo en todas las muestras ensayadas con el límite de reproducibilidad especificado por la norma de referencia.

CONCLUSIÓN

El trabajo realizado se focalizó en planificar y diseñar un ensayo de validación para verificar la concordancia entre el método de referencia especificado en la Norma ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004 y el modificado por el laboratorio.

Luego de la realización de la prueba de concordancia se observó que los métodos presentaron una concordancia moderada y la diferencia entre los resultados obtenidos utilizando el método 1 y 2 no cumplió con el criterio de reproducibilidad especificado en la norma de referencia. Por tal motivo, se determinó un modelo que permitió relacionar ambas metodologías calculando un coeficiente de conversión, el cual fue incorporado en el cálculo para obtener el valor de lipólisis final, en caso de que se aplique el método 2.

La aplicación del coeficiente de conversión al cálculo de lipólisis permitió:

Mejorar la concordancia entre los métodos evaluados: de 0,94 a 0,98, es decir de moderada a sustancial;

Mejorar el valor de reproducibilidad, es decir la diferencia entre los valores obtenidos por el método 1 y 2 cumplieron con el límite de reproducibilidad especificado en la norma de referencia y

Validar el método modificado por el laboratorio, de modo de poder utilizar 1g de grasa, disminuyendo así la cantidad de extracciones, tiempo y cantidad de reactivo utilizado.

Se evaluaron los resultados de la validación por comparación de los parámetros estadísticos obtenidos con las condiciones establecidas previamente y se concluyó que el método modificado por el laboratorio es válido para el propósito establecido. Por lo tanto, para llevar a cabo la determinación de lipólisis se pesa 1g de grasa láctea anhidra, se disuelve con 10 ml de una mezcla de 2 propanol y éter de petróleo, luego se titula con hidróxido de tetra-n-butil amonio 0,01N, utilizando como indicador azul de timol, hasta neutralizar los AGL contenidos en la muestra. Finalmente, el resultado obtenido es multiplicado por el coeficiente de conversión hallado (1,129) para obtener el resultado final, el cual es concordante al método de referencia.

Actualmente, en el laboratorio se están realizando pruebas para elaborar un material de referencia de grasa láctea anhidra, el cual pueda utilizarse como muestra control cada vez que se

realice la determinación, con el objetivo de verificar la performance del método. Además, se está trabajando para estimar la incertidumbre de medición del método. Luego de finalizar las actividades descriptas, el laboratorio estaría en condiciones de ser auditado por el Organismo Argentino de Acreditación para obtener la acreditación de la técnica de determinación de lipólisis en grasa láctea anhidra según norma ISO 17025:2005.

BIBLIOGRAFÍA

- Cortés-Reyes, E, Rubio-Romero, J y Gaitán-Duarte, H. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* Vol. 61 No. 3, 2010, (247-255).
- ISO/FDIS 1740:2004 – IDF 6:2004. Milkfat products and butter- Determination of fat acidity (Reference method).
- Organismo Argentino de Acreditación, 2013. Guía para validación de métodos de ensayo, GUI-LE-03 versión 1, vigente desde 26/06/2013; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentosacreditados.php>, [Consulta: 07/04/2017].
- Taverna, M. Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad, 2da Edición,. (2005).
- URL, R Core Team (2016). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Documento en línea], <https://www.R-project.org/>, [Consulta: 31/03/2017].

VALIDACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN FÓRMULAS INFANTILES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA

CAMPOS, S.*; ADORNI, M.B.; CUATRIN, A.; PÁEZ, R.

INTA EEA Rafaela; Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria

** Autor de contacto: campos.sonia@inta.gob.ar.*

INTRODUCCIÓN

La leche materna es el alimento ideal durante los primeros meses de vida de un niño por sus características nutricionales, inmunológicas, económicas, etc.

El contenido de grasa en la leche humana y la de vaca no tienen diferencia en la cantidad, pero sí en la calidad y porcentaje de absorción.

La absorción de la leche materna es del 90% a la semana de vida, mientras que la absorción de grasa de la leche de vaca es de alrededor de un 60 %, de manera que la sustitución total o parcial de las grasas lácteas en las fórmulas infantiles por ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de origen vegetal (uno o varios aceites combinados) tiene como uno de sus objetivos mejorar la absorción. Para mejorar la calidad, otro de los objetivos que se persigue al modificar las grasas de origen animal, es añadir mayor cantidad de AG esenciales: linoleico (C18:2 c9, c12) y linolénico (C18:3n3).

Los PUFA son importantes componentes estructurales de las membranas biológicas. De estos AG, las fórmulas deben contener entre 0,2 y 0,8 g/100 ml de ácido linoleico, (la leche de mujer contiene 0,3 g/100 ml, lo que permite obtener por síntesis orgánica los otros ácidos grasos necesarios, según lo aconsejado por los organismos internacionales) (WHO/FAO). La fuente de ácido docosahexaenoico (DHA - C22:6 n3) utilizada en las fórmulas son los pescados de aguas frías y algas, o la lecitina de la yema de huevo (Marietti, 2011).

Bajo este contexto es importante cuantificar individualmente cada uno de estos PUFA en las fórmulas infantiles elaboradas.

El método de referencia utilizado para realizar la determinación de la composición de AG en muestras de fórmulas infantiles se describe en la Norma ISO 16958 - IDF 231:2015- Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals - Determination of fatty acids composition - Capillary gas chromatographic method. Dicho método consiste en extraer la materia grasa de la muestra de fórmula infantil para su posterior análisis. A partir de la grasa anhidra, se deben transesterificar los AG a ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME), para su posterior identificación y cuantificación, mediante el análisis cromatográfico. La determinación consiste en tres etapas:

- 1- Extracción de la materia grasa;
- 2- Metilación o Transesterificación;
- 3- Proceso cromatográfico, utilizando cromatografía gaseosa.

En el Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria se trabajó para adaptar el método utilizado de rutina basado en la metodología descrita en la Norma ISO 15885:2002 para leche y productos lácteos a los requerimientos del proceso cromatográfico especificado en la Norma ISO

16958 - IDF 231:2015 para fórmulas infantiles. En la Tabla 1 se describen las diferencias entre el método utilizado de rutina en el laboratorio y el de referencia.

Tabla 1: Diferencias entre el método del laboratorio y el método de referencia.

Etapas	Método Laboratorio. Matriz: leche y productos lácteos	Método Referencia (ISO 16958 IDF 231:2015). Matriz: fórmula infantil
Extracción de la materia grasa	Folch, 1956.	ISO 14156:2001
Metilación o Transesterificación	Kramer et al., 2001.	ISO 16958 IDF 231:2015.
Proceso cromatográfico	ISO 15885:2002, utilizando columna: CP-Select CB for FAME, WCOT fused silica <u>200</u> m * 0.25 mm ID	ISO 16958 IDF 231:2015 utilizando columna: cyanopropyl-polysiloxane (CP) <u>100</u> m * 0.25 mm * 0.25 micrones fused silica

La modificación del método se debe a:

- Extracción de la materia grasa: este proceso se realizó según Folch, 1956, debido a que la metodología descrita en ISO 14156 emplea reactivos agresivos que provocan la volatilización de AG de cadena corta, interfiriendo de esta forma en la cuantificación de los AG en estudio.
- Proceso cromatográfico: de acuerdo a la ISO 16958-IDF 231:2015 se utiliza una columna de 100m. El equipo utilizado en el laboratorio cuenta con una columna de 200 m. La ventaja de contar con una columna de estas características radica en que permite separar, identificar y cuantificar individualmente los AG en estudio.

De acuerdo a lo especificado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue diseñar un plan de validación para verificar que el método modificado por el laboratorio es apto para el uso previsto.

La validación es la confirmación a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Brinda idea de las capacidades y limitaciones de la performance de ese método que se pueden experimentar durante el uso rutinario. El objetivo de la validación es probar la aptitud de los métodos, así como la capacidad del laboratorio (Organismo Argentino de Acreditación, 2013).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo las pruebas de validación se analizaron:

- 8 muestras correspondientes a fórmula infantil con el agregado de diferentes concentraciones de aceite
- 1 muestra perteneciente al aceite adicionado en las fórmulas.

El estudio de la composición de AG se llevó a cabo utilizando un equipo Perkin-Elmer, Autosystem XL-R 3.5, con inyector PSS (Programmed Temperature Vaporizer), divisor de flujo y detector de ionización de llama (FID). Se empleó una columna capilar de sílice fundida WCOT

FUSED SILICA 200 m x 0.25 mm ID (VARIAN). Para la identificación de los compuestos se utilizó el estándar PUFA-2, *animal source* (SUPELCO).

Prueba de repetibilidad:

El objetivo de esta prueba fue evaluar la precisión obtenida aplicando un mismo procedimiento, sobre una misma muestra, con el mismo operador, en intervalos cortos de tiempo, utilizando el mismo equipamiento, dentro de un mismo laboratorio.

Este parámetro se evaluó mediante el análisis de dos repeticiones a partir de 8 muestras diferentes en estudio, el mismo día y por el mismo analista.

De acuerdo a lo especificado en la norma ISO 16958-IDF 231:2015, la diferencia absoluta entre dos resultados independientes obtenidos utilizando el mismo método, idéntico material, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipamiento dentro de un corto intervalo de tiempo, no debe superar en el 5% de los casos la repetibilidad en g/100g producto según lo especificado en Tabla 2.

Tabla 2: Criterio de repetibilidad, de acuerdo a lo especificado en la norma ISO 16958-IDF 231:2015.

Ácidos grasos	Media (g/100g)	Repetibilidad (g/100g)
C18:2 c9, c12	3,690	0,182
C18:3 n3	0,457	0,018
C20:4 n6	0,059	0,010
C 22:6 n3	0,055	0,009

Para el caso de las muestras cuya media difiere a la especificada en la norma se calculó un nuevo criterio de repetibilidad (Tabla 3).

Tabla 3: Criterio de repetibilidad calculado por el laboratorio.

Ácidos grasos	Media (g/100g)	Repetibilidad (g/100g)
C20:4 n6	4,80	0,816
C 22:6 n3	4,93	0,807

Prueba de reproducibilidad:

La finalidad fue verificar la precisión obtenida aplicando un mismo procedimiento, sobre una misma muestra, en el mismo laboratorio, mismo operador, analizando días diferentes.

Este parámetro se evaluó mediante el análisis de dos repeticiones a partir de 4 muestras diferentes en estudio (con baja, media y alta concentración), en un día diferente que el ensayo anterior, por el mismo analista.

De acuerdo a lo especificado en la norma ISO 16958-IDF 231:2015: la diferencia absoluta entre dos resultados independientes obtenidos utilizando el mismo método, idéntico material, en

diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipamientos, no debe superar en el 5% de los casos la reproducibilidad en g/100g producto según lo especificado en la Tabla 4.

Tabla 4: Criterio de reproducibilidad, especificado en la norma ISO 16958-IDF 231:2015

Ácidos grasos	Media (g/100g)	Reproducibilidad (g/100g)	Reproducibilidad (% de ésteres metílicos)
C18:2 c9, c12	3,690	0,293	0,308
C18:3n3	0,457	0,063	0,066
C20:4 n6	0,059	0,018	0,019
C 22:6 n3	0,055	0,013	0,014

Para el caso de las muestras cuya media difiere a la especificada en la norma se calculó un nuevo criterio de reproducibilidad (Tabla 5).

Tabla 5: Criterio de reproducibilidad.

Ácidos grasos	Media (g/100g)	Reproducibilidad (g/100g)	Reproducibilidad (% de ésteres metílicos)
C18:3n3	1,000	0,138	0,145
C20:4 n6	20,000	6,101	6,422
C 22:6 n3	20,000	4,727	4,976

Prueba de exactitud:

La exactitud evalúa la proximidad entre el promedio de una serie de resultados y el valor verdadero del mesurando.

Este parámetro se evaluó mediante el análisis de dos repeticiones a partir de una muestra de aceite analizada durante 3 días diferentes. El aceite utilizado para realizar esta prueba fue provisto por el cliente junto a un certificado de calidad, por lo que fue utilizado como material de referencia.

La diferencia absoluta entre el valor de referencia especificado en el certificado del material y el valor informado por el laboratorio debe ser menor a la reproducibilidad del método especificada en la norma ISO 16958-IDF 231:2015, de acuerdo a lo detallado en punto 2.3.

Factor de respuesta:

Es la relación entre la concentración de una sustancia química analizada (analito) y la respuesta del detector del equipo para esta concentración de analito. Se calcula con soluciones estándares de concentración conocida. Una vez que se ha encontrado un factor de respuesta (FR) para un producto químico en particular, la concentración de la sustancia química en las muestras futuras, puede calcularse a partir de la respuesta del detector a la muestra.

El FR se calculó mediante la siguiente fórmula: $FR = T/R$, donde: T corresponde a la concentración teórica (especificada en el certificado de análisis del material de referencia) y R a la concentración real obtenida en el laboratorio.

De acuerdo a la norma ISO 16958-IDF 231:2015 se debe calcular el factor de respuesta realizando 3 inyecciones del material de referencia utilizado.

Este parámetro se evaluó mediante el análisis de dos repeticiones a partir de una muestra de aceite (material de referencia) analizada durante 3 días diferentes.

Participación en ensayos interlaboratorios:

Los ensayos interlaboratorios 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. La participación en estos ensayos anima a los laboratorios a mejorar su actuación, estableciendo medidas preventivas y correctivas en función de los resultados obtenidos.

Se participó de un ensayo interlaboratorio de AG organizado por la Red de Laboratorios Lácteos (REDELAC).

El criterio de aceptación fue el siguiente:

- Z-score es menor o igual a 2: satisfactorio;
- Z-score se encuentra entre 2 y 3: cuestionable;
- Z-score es mayor o igual a 3: insatisfactorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de repetibilidad:

Los resultados obtenidos en la prueba de repetibilidad se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6: Diferencias obtenidas entre réplicas en prueba de repetibilidad.

Ácidos grasos	Muestras. Diferencias entre repeticiones (g/100g)							
	543	544	666	667	668	669	670	671
C18:2 c9, c12	0,098	0,036	0,002	0,411	0,058	0,018	0,029	0,02
C18:3 n3	0,133	0,002	0,000	0,131	0,039	0,009	0,000	0,00
C20:4 n6	0,009	0,002	0,005	0,009	0,007	0,000	0,000	0,11 (*)
C22:6 n3	0,005	0,000	0,000	0,009	0,005	0,000	0,000	0,05 (*)

(*) el criterio de repetibilidad aceptado responde al calculado en tabla 3.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 6, se observó que solo una muestra se encuentra fuera de los límites establecidos (Tabla 2 y 3), mientras que el resto cumplió con los criterios de aceptación. Se verificó que existen tres diferencias que superan el valor establecido. Las mismas no se consideraron relevantes debido a que el C18:3 n3 corresponde a la sumatoria de dos componentes individuales, por lo que en este caso es de esperar un porcentaje de error mayor al establecido por la norma.

Prueba de reproducibilidad:

Los valores arrojados en la prueba de reproducibilidad se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7: Diferencias de valores promedios obtenidos en diferentes días.

Ácidos grasos	Muestras.			
	Diferencias de valores promedios obtenidos en diferentes días (g/100g)			
	544	666	670	671
C18:2 c9,c12	0,09	0,27	0,75	0,04
C18:3n3	0,01	0,13 (*)	0,08 (*)	0,01
C20:4 n6	0,00	0,01	0,00	0,59 (*)
C 22:6 n3	0,00	0,01	0,01	0,36 (*)

(*) el criterio de reproducibilidad aceptado responde al calculado en tabla 5.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 7, se observó que solo una muestra se encuentra fuera de los límites establecidos (Tabla 4 y 5), mientras que el resto cumplió con los criterios de aceptación, por lo que la prueba se considera conforme.

Prueba de Exactitud:

Los resultados de la prueba de exactitud se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Valores obtenidos a través de la diferencia entre los valores medidos por el laboratorio y los de referencia.

Ácidos grasos	Valor detectado por el laboratorio	Valor de referencia	Diferencia
	% de ésteres metílicos		
C18:2 c9, c12	3,92	3,9	-0,02
C 18:3 n3	1,90	1,4	-0,50 (*)
C20:4 n6	21,20	21,4	0,20 (*)
C 22:6 n3	21,60	21,3	-0,30 (*)

De acuerdo a los resultados arrojados en la Tabla 8 se concluyó que todos los ácidos grasos a excepción del C18:3 n3, se encontraron dentro de la tolerancia permitida. Se verificó que existe una diferencia que supera el valor establecido para el componente C 18:3 n3. La misma no se consideró relevante debido a que este ácido graso corresponde a la sumatoria de dos componentes individuales, por lo que en este caso es de esperar un porcentaje de error mayor al establecido por la norma.

Factor de respuesta:

El FR obtenido se detalló en la Tabla 9:

Tabla 9: Resultados del Factor de Respuesta.

Ácidos Grasos	Conc. Teórica (T) (% p/p)	Conc. real (R) (%p/p)	Factor de Respuesta (FR)=T/R
	% de ésteres metílicos		
C18:2 c9, c12	3,90	3,92	0,99
C 18:3 n3	1,40	1,90	0,74
C20:4 n6	21,40	21,20	1,01
C 22:6 n3	21,30	21,60	0,99

De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 9, se concluyó que no es necesario aplicar un factor de corrección o FR a los resultados obtenidos debido a que el mismo generó un valor cercano a 1,00, lo que significa que no existe pérdida del componente durante el proceso cromatográfico.

Para el caso del C18:3 n3, el FR obtenido fue superior a 1,00, esto se debe a que el mismo corresponde a la sumatoria de dos componentes; razón por la cual este valor no es corregido.

Participación en ensayos interlaboratorios:

Los resultados obtenidos en el ensayo interlaboratorio se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Resultados del laboratorio obtenidos en el ensayo interlaboratorio.

Ácidos grasos	Valor informado (g/100g)	Valor asignado (g/100g)	Z-score
Ácido Caprílico	1,05	1,09 +/- 0,07	-0,17
Ácido Cáprico	2,24	2,42 +/- 0,07	-1,09
Ácido Láurico	2,70	2,84 +/- 0,11	-0,49
Ácido Mirístico	9,68	10,18 +/- 0,32	-0,65
Ácido Palmítico	27,02	28,61 +/- 0,48	-1,37
Ácido Palmitoleico	1,32	1,52 +/- 0,09	-0,97
Ácido Estearico	11,39	11,69 +/- 0,30	-0,41
Ácido Oleico	21,85	22,80 +/- 0,52	-0,76
Ácido Vaccénico	2,06	2,53 +/- 0,17	-1,41
Ácido Linoleico	2,37	2,42 +/- 0,13	-0,16
Ácido Linolénico	0,54	0,56 +/- 0,02	-0,48
Ácido Linoleico Conjugado (CLA)	0,98	1,06 +/- 0,10	-0,65

Los resultados obtenidos para todos los ácidos grasos analizados (Tabla 10) arrojaron un Z-score menor a 2 por lo que se verificó que el desempeño del laboratorio en todos los casos fue satisfactorio.

CONCLUSIÓN

El trabajo realizado se focalizó en planificar y diseñar un ensayo de validación para verificar la concordancia entre el método de referencia especificado en la Norma ISO 16958-IDF 231:2015 y el modificado por el laboratorio.

Luego de la evaluación de los resultados obtenidos en las pruebas de validación correspondientes a repetibilidad, reproducibilidad, exactitud, factor de respuesta y participación en ensayos interlaboratorios se puede confirmar que el método utilizado por el laboratorio es apto para el uso previsto, confirmándose su aptitud.

BIBLIOGRAFÍA

- Folch, J., Lees, M., y Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Kramer, J. K., y Zhou, J. (2001). Conjugated linoleic acid and octadecenoic acids: extraction and isolation of lipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(9), 594-600.
- Kramer, J. K., Cruz Hernandez, C., & Zhou, J. (2001). Conjugated linoleic acids and octadecenoic acids: Analysis by GC. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(9), 600-609.
- Marietti, G. (2011). Fórmulas lácteas infantiles para la alimentación del lactante sano durante el primer año de vida. Cátedra de Clínica Pediátrica FCM. UNC.
- Milk and milk products - Extraction methods for lipids and liposoluble compounds. ISO 14156:2001
- Milk fat -- Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography, ISO 15885:2002
- Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals - Determination of fatty acids composition - Capillary gas chromatographic method, ISO 16958 - IDF 231:2015.
- Organismo Argentino de Acreditación, 2013 “Guía para validación de métodos de ensayo”, GUI-LE-03 versión 1, vigente desde 26/06/2013; [Documento en línea], <http://www.oaa.org.ar/documentosacreditados.php>, [Consulta: 07/04/2017].

INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2017

Publicación Miscelánea Año V - N°2

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA

Ruta 34 km 227 (2300) Rafaela, Santa Fe
Teléfonos: (03492) 440121/440125
<http://inta.gob.ar/rafaela>
earrafaela@inta.gob.ar

ISSN: 2314-3126



Ministerio de Agroindustria
Presidencia de la Nación