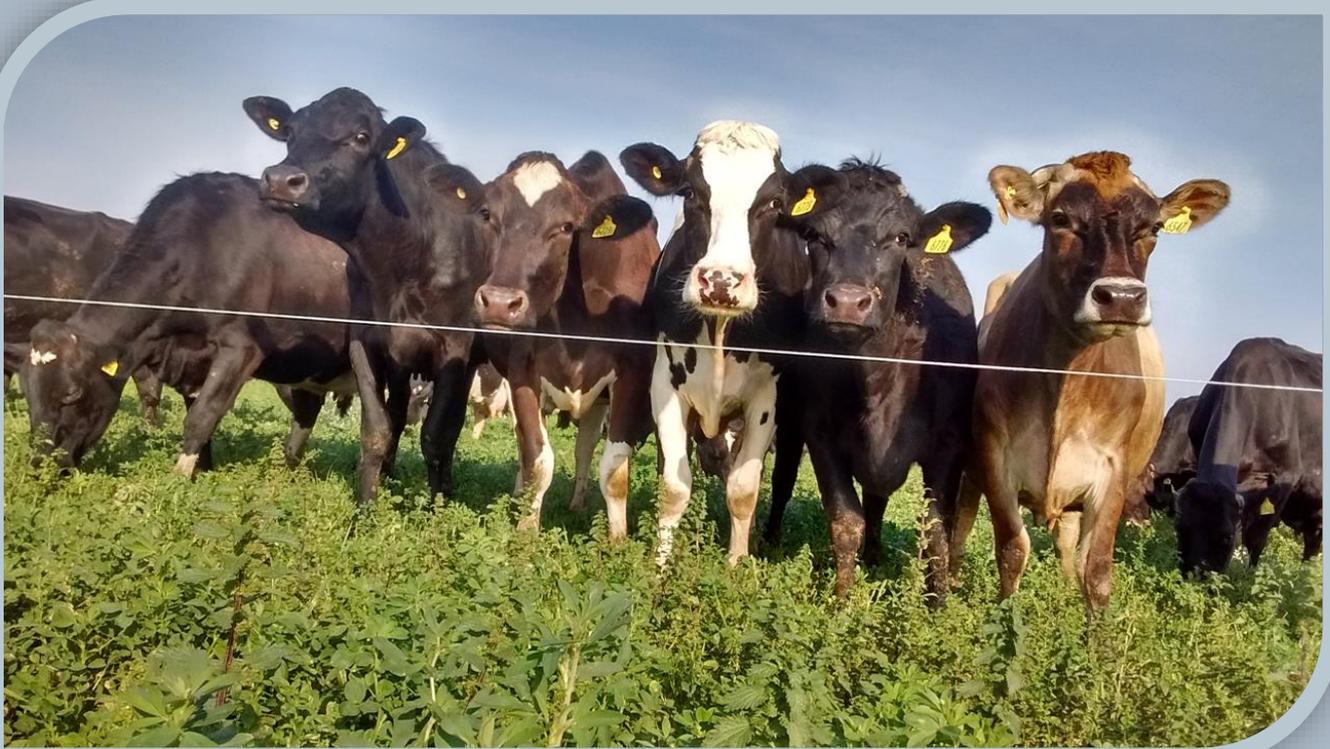


INFORMACIÓN TÉCNICA

PRODUCCIÓN ANIMAL

2020

Estación Experimental Agropecuaria Rafaela



INFORMACIÓN TÉCNICA

PRODUCCIÓN ANIMAL

2020

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA

Publicación Miscelánea

Año VIII - N° 1



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación

INFORMACIÓN TÉCNICA

PRODUCCIÓN ANIMAL

2020

Editor responsable: INTA EEA Rafaela

Director: Ing. Prod. Agr. (M.Sc.) Jorge Villar Ezcurra

Comité editorial: Comisión de publicaciones INTA EEA Rafaela

Compaginación y edición: Ing. Agr. (M.Sc.) María Lorena Iacopini

Se permite la reproducción total o parcial de su contenido citando la fuente.

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA

Ruta 34 km 227

(2300) Rafaela, Santa Fe

Teléfonos: (03492) 440121/440125

inta.gob.ar/rafaela

eearafaela@inta.gob.ar

ÍNDICE

FORRAJES

- 5** Tasa de secado de la alfalfa para heno: efecto del acondicionado mecánico.
Romero, L. A., Cuatrín, A.L.
- 7** Efecto del sistema de corte sobre la tasa de rebrote de la alfalfa para heno.
Romero, L. A., Cuatrín, A.L.
- 9** La alfalfa y su potencial en los sistemas lecheros argentinos.
Comeron, E.A.; Tieri, M.P.; Charlon, V.; Rossetti, L.; Descalzo, A.; Romero, L.; Villar, J.
- 14** Eficiencia de uso del nitrógeno por forrajeras abonadas con estiércol de bovinos lecheros en la región Pampeana, Argentina.
Herrero, M.A.; Charlon, V.; Carbó, L.L.; Cuatrín, A.; Sardi, G.M.; Romero, L.
- 24** Reafirmando el papel del Manejo Integrado de Plagas en la alfalfa en Argentina.
Frana, J.; Trossero, M.; Fava, F.; Trumper, E.
- 27** Evaluación de la eficacia de insecticidas para el control de pulgón azul (*Acyrtosiphon kondoi*) en el cultivo de alfalfa.
Trossero, M.; Frana, J.
- 34** Las leguminosas forrajeras, indispensables para el ganado del mañana.
Delaby, L.; Pavie, J.; McCarthy, B.; Comeron, E.A.; Peyraud, J.L.

NUTRICIÓN

- 50** Suplementación con aceite de lino protegido como estrategia para mejorar la tasa de concepción en vacas lecheras.
Iorio, J.D.; Maciel, M.G.; Scandolo Lucini, D.E.; Palladino, R.A.; González Moreno, Y.M.; Curletto, D.; Olmeda, M.F.; Salado, E.E.

REPRODUCCIÓN

- 58 Cantidad de progesterona residual al retiro de dispositivos intravaginales aplicados en diestro temprano y tardío en vaquillonas Holstein.
Scándolo, D.E.; Scándolo, D.; Cuatrín, A.L.; Maciel, M.

SANIDAD

- 65 *Trypanosoma vivax* en un rodeo lechero: Seguimiento y estudio de un caso.
Abdala, A.; Suárez Archilla, G.; Welschen, N.; Camussone, C.
- 68 Evaluación de la calidad microbiológica del agua en tambos de la cuenca lechera central de Argentina y factores de riesgo asociados.
Costamagna, D.; Neder, V.; Gaggiotti, M.; Taverna, M.; Signorini, M.
- 72 Mastitis ambientales: aspectos del diagnóstico, control y tratamiento.
Calvinho, L.; Neder, V.; Molineri, A.; Camussone, C.; Suárez Archilla, G.
- 78 Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en ganado lechero de la provincia de Santa Fe.
Vanzini, V.; Bergamasco M.; Aguirre N.; Torioni de Echaide, S.; Muñoz P.; Caraccia O.

GENÉTICA

- 84 Ciencia de datos. Cálculo automático de las proporciones raciales y estadísticas descriptivas de la producción de vacas cruzas.
Franco, L.; Vera, M.; Pece, M.; Maciel, M.; Salado, E.; Romero, L.; Plattner, A.; Schmidt, G.; Arias, D.

CALIDAD DE LECHE Y AGROINDUSTRIA

- 96 Desarrollo de una metodología rápida para la determinación de lactosa en suero y permeado.
Campos, S.; Massera, A.; Mainez, E.; Adorni, M.B.

- 100** Análisis de aflatoxina M₁ en sueros procesado por tecnología de membranas, obtenido de pymes lácteas de la cuenca lechera central.
Costamagna, D.; Audero, G.; Gaggiotti, M.; Taverna, M.; Signorini, M.
- 105** Efectos de la inclusión de un agente secuestrante en la dieta de vacas lecheras sobre la excreción de aflatoxina M₁ en la leche.
Costamagna, D.; Gaggiotti, M.; Abdala, A.; Smulovitz, A.; Walter, E.; Signorini, M.
- 118** Cuantificación de la tasa de transferencia de Aflatoxina M₁ desde los alimentos del ganado bovino lechero hasta los quesos.
Costamagna, D.; Gaggiotti, M.; Audero, G.; Costabel, L.; Chiericatti, C.; Taverna, M.; Signorini, M.
- 127** Evaluación de la concentración de plaguicidas en la cuenca lechera central de argentina y factores de riesgo asociados.
Costamagna, D.; Gaggiotti, M.; Cristos, D.; Rojas, D.; Taverna, M.; Signorini, M.
- 138** Efecto de diferentes enzimas coagulantes en el rendimiento, la calidad fisicoquímica y la maduración de queso blando.
Costabel, L.; Bergamini, C.; Peralta, G.; Cuatrin, A.; De Noya, G.; Sanow, C.; Audero, G.

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

- 151** Comportamiento ingestivo de agua de vacas lecheras durante una ola de calor.
Costamagna, D.; Toffoli, G.D.; Leva, P.; Mendez, L.; Landucci, T.; Taverna, M.
- 153** Percepción sobre el impacto ambiental de los tambos y la importancia de la formulación de una dieta para disminuir dicho impacto.
Tieri, M.P.; Herrero, M.A.; Faverin, C.; Iacopini, M.L.; Comerón, E.A.; Gonda, H.L.
- 161** Trabajo en equipo: Experiencia en la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI).
Pece, M.A., Maciel, M.; Salado, E.E.; Romero, L.; Vera, M.; Scandolo, D.; Vitulich, C.
- 167** Experiencia de engorde a campo con novillos holando.
Callaci, C.; Faure, D.

FORRAJES

TASA DE SECADO DE LA ALFALFA PARA HENO: EFECTO DEL ACONDICIONADO MECÁNICO

Romero, L. A.^{1*}, Cuatrín, A. L.²

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² INTA EEA Paraná (Entre Ríos).

*romero.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La reducción rápida de la humedad del forraje cortado, trae como consecuencia una reducción de las pérdidas en cantidad y calidad, provocadas por la respiración y por condiciones climáticas adversas que se pueden producir durante el tiempo de permanencia del pasto cortado en el campo.

Una técnica que permitiría aumentar la tasa de secado del pasto cortado es el acondicionamiento mecánico. En la actualidad existe una gran oferta de máquinas con diferentes tipos de acondicionadores: de rodillos lisos, estriados o acanalados, construidos de caucho, metal o plástico. Pero su uso aún no está tan difundido debido posiblemente al precio de los equipos y a la escasa demanda ejercida por parte de los usuarios. En general la herramienta de corte más usada es la cortadora hileradora de hélices.

La finalidad de este trabajo fue estudiar la tasa de secado de la alfalfa para heno acondicionada (A) vs no acondicionada (SA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las máquinas utilizadas fueron para: A) Segadora acondicionadora de rodillo de caucho (Kuhn) y SA) Cortadora-Hileradora y desmalezadora (Mainero, modelo 6026). Se usó un cultivo de alfalfa puro, cv. Mecha, de segundo año.

Se realizaron tres evaluaciones de la tasa de secado con las siguientes fechas de corte: para primavera se realizaron el día 09/11/2015, 09/12/2015 (cortes); y para el verano el 07/01/2016. Para determinar la tasa de secado (% humedad -%H) se tomaron muestras del forraje cortado a la hora cero y luego a las 12, 15 y 18 en el día de corte y luego a las 9, 12, 15 y 18 hs hasta llegar al 20% de humedad del forraje.

El diseño experimental fue en bloques completos al azar. Los tratamientos de corte fueron: hélice y platillo. Las evaluaciones de las tasas de secado del heno se contemplaron como medidas repetidas en el tiempo con mediciones hasta el momento del secado óptimo (20% humedad).

La variable tasa de secado, se analizó estadísticamente mediante análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo, modelado como una variable de regresión. Se utilizó el software SAS® 2002. Se contempló como unidad experimental la parcela. Se modeló la respuesta de secado a través del tiempo con comportamientos lineales y cuadráticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución del secado de la pastura fue diferente según el tratamiento evaluado ($p < 0,05$), pero sin diferencias entre periodos ($p = 0,9803$). Esto último se explica probablemente debido a que en los meses evaluados las condiciones ambientales fueron similares, con elevadas temperaturas ya desde los meses de noviembre y diciembre que se equipararon con las del verano.

La evolución del secado a través del tiempo fue estadísticamente diferente ($p < 0,05$), El tiempo que le lleva llegar al 20% de humedad fue 20 hs menor en A respecto del SA (Figura1).

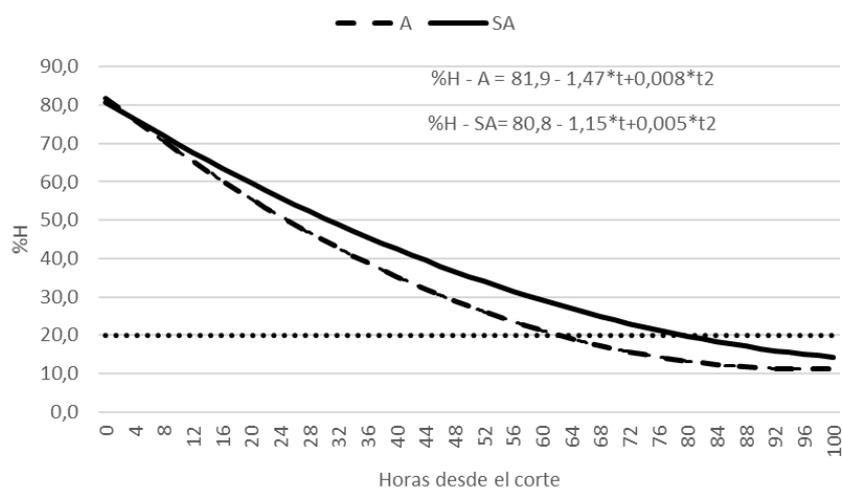


Figura 1. Variación del % de humedad según el tiempo de acondicionamiento del pasto desde el momento del corte hasta alcanzar el 20% de humedad.

El comportamiento de la curva de secado fue diferente en su evolución a través del tiempo, presentando un descenso más marcado ($p=0,0419$), 1,47 y 1,15 %/hora para A y SA respectivamente, como así también llegado un ascenso posterior ($p=0,043$), de 0,008 y 0,005 %/hora para A y SA respectivamente)

CONCLUSIONES

Utilizar un sistema de acondicionamiento de la pastura acelera la pérdida de humedad, reduciendo el tiempo de permanencia del pasto en el campo, evitándose pérdidas por efectos de la respiración del pasto y por condiciones adversas del clima.

BIBLIOGRAFÍA

BORREANI, G.; TABACCO, E. y CIOTTI, A. 1999. Effects of Mechanical Conditioning on Wilting of Alfalfa and Italian Ryegrass for Ensiling. *Agronomy journal* 91. 457-463.

EFECTO DEL SISTEMA DE CORTE SOBRE LA TASA DE REBROTE DE LA ALFALFA PARA HENO

Romero, L.A.^{1*}; Cuatrín, A. L.²

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² INTA EEA Paraná (Entre Ríos).

*romero.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

En la Argentina la máquina más difundida para el corte de la alfalfa para henificar es la cortadora hileradora de hélices. Esta es una herramienta muy versátil, ya que se usa para desmalezados de pasturas y además para el corte. Esto hace que, cuando se la usa en esta tarea, presente muchas veces las cuchillas sin filo, mala regulación, lo que acentúa los problemas de repicado, de dejar material sin cortar y una des-uniforme altura. A lo señalado precedentemente se puede agregar los problemas que podría ocasionar sobre el rebrote y la vida útil de la pradera de alfalfa.

En el mercado existen otras máquinas que están mucho más adaptada para realizar el corte de una manera mucho más controlada. Dentro de estas última de encuentra la corta hileradora de platillos la cual es muy eficiente realizando el corte, tiene poco repicado del material, regula muy bien la altura de corte y además viene con rodillos que acondicionan el forraje.

La finalidad de este trabajo fue evaluar el efecto del sistema de corte sobre la tasa de rebrote y producción de alfalfa luego del corte para heno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las máquinas utilizadas fueron: 1) cortadora hileradora de hélices y 2) cortadora hileradora de platillos. Se utilizó una pastura de alfalfa de segundo año de vida, realizándose las evaluaciones el 09/11/2015, 09/12/2015; y 07/01/2016.

Luego del corte para heno se evaluaron a los 10 y 20 días posteriores (r10 y r20 respectivamente): la producción de materia seca/ha, el porcentaje de materia seca, la altura y las pérdidas por repicado en la hilera de corte. Para las mediciones se utilizaron cuadros de 1m² (10 por tratamiento y repetición) en el caso de las pérdidas por repicado las mediciones se realizaron sobre la línea de corte recolectándose el material repicado mediante cuadros de ¼ de m².

El diseño experimental fue en bloques completos a azar. Los tratamientos de corte fueron: hélice y platillo. Las evaluaciones de los rebrotes se contemplaron con medidas repetidas en el tiempo. Las variables se analizaron estadísticamente mediante análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo utilizando el software SAS ® 2002. Se contempló como unidad experimental la parcela.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de los sistemas de corte (SC) en los rebrotes no indico diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en las variables evaluadas (Tabla 1), no existiendo interacción entre el tratamiento y el momento de corte evaluado.

Tabla 1. P-valor para los factores considerados y las variables evaluadas.

| Factor | Crecimiento (kg Ms/ha) | Materia seca (%) | Altura (cm) |
|-----------------------|------------------------|------------------|-------------|
| Sistema de corte (SC) | 0,7340 | 0,5278 | 0,7023 |
| Tiempo (T) | <0,0001 | 0,0276 | <0,0001 |
| SC X T | 0,4190 | 0,8858 | 0,8975 |

Se observaron diferencias entre los rebrotes (T) para todas las variables. En la Figura 1 se presenta el rendimiento por corte, según el sistema empleado. Las pérdidas de material repicado fueron del orden de 2,5% ($\pm 1,96$) y 7,5% ($\pm 3,39$) para la cortadora a platillo y hélice, respectivamente.

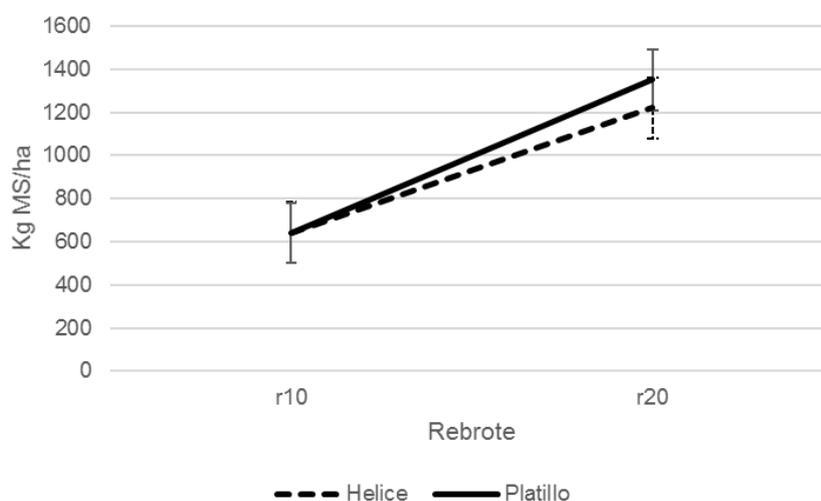


Figura 1. Crecimiento en kgMS/ha de la pastura según el sistema de corte empleado luego del corte para heno.

CONCLUSIÓN

Las máquinas cortadoras no tuvieron un impacto negativo sobre el rebrote de la alfalfa luego del corte, si lo fue sobre las pérdidas por repicado donde el sistema de hélices fue el que presentó los mayores valores.

Bibliografía

BRAGACHINI, M.; SANCHEZ, F.; URRETS ZAVALIA, G.; GIORDANO, J.; Y CATTANI, P. 2016. Porque las segadoras acondicionadoras son más rentables que las hélices. Tecno forrajes, Especial corte de Alfalfa. N°2 (Act. Téc. 98), INTA EEA Manfredi.20 pag.

LA ALFALFA Y SU POTENCIAL EN LOS SISTEMAS LECHEROS ARGENTINOS¹

Comeron, E.A.^{1}; Tieri, M.P.¹; Charlon, V.¹; Rossetti, L.²;
Descalzo, A.²; Romero, L.¹; Villar, J.¹*

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe)

² INTA EEA Castelar (Buenos Aires)

**fliacomeron@fibertel.com.ar*

Este artículo pretende informar, de manera sintética, el rol de la alfalfa en el sector lácteo argentino, considerando la producción primaria en un marco de eficiencia integral, y la calidad de la materia prima y los productos de transformación, desde la visión y las actividades desarrolladas en el INTA

1.- EVOLUCIÓN DE LA ALFALFA EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN LÁCTEA

La Argentina es uno de los pocos países que basan su producción ganadera, en condiciones de alimentación de base pastoril durante todo el año y a bajo costo. Pero existe aún un amplio margen para mejorar su eficiencia productiva y económica, en un marco de sustentabilidad ambiental y social.

A pesar de los vaivenes productivos registrados en los últimos años, la cuenca lechera central de Argentina es considerada como la más importante de América Latina. En ella, especialmente en las provincias de Santa Fe y Córdoba, la alfalfa encuentra suelos y condiciones climáticas excelentes para crecer a su máximo potencial, a la vez que mejora la fertilidad de los suelos por medio de la fijación biológica de nitrógeno durante los 3-5 años de utilización en los sistemas de producción. En este contexto, el uso de alfalfa para pastoreo o picado reduce los costos operativos y minimiza la degradación de los recursos naturales, contribuyendo a la sostenibilidad ambiental y económica.

Antes de los '80, en los sistemas productivos argentinos las vacas se alimentaban fundamentalmente de especies forrajeras anuales de invierno (avena) y de verano (sorgo, moha), sin el uso regular de concentrados y con insuficiente cantidad de reservas, principalmente bajo la forma de heno. En consecuencia, la producción de leche era muy variable y sujeta a las condiciones ambientales.

A principios de la década del 80, comienza en forma incipiente la intensificación de la lechería - o al menos las bases de la misma -, con la introducción del cultivar de alfalfa CUF 101, que fue amplia y rápidamente adoptada. Esta variedad, sin latencia invernal, se destacaba respecto a las gramíneas y otras leguminosas, por su producción de materia seca, largo período de crecimiento, resistencia a los pulgones, adaptación a diversas condiciones ambientales y la calidad del forraje (proteína, digestibilidad, palatabilidad, etc).

Como resultado de la introducción de alfalfas sin latencia invernal comenzó un cambio importante en los sistemas de producción de leche por la característica de poder ser pastoreadas casi todo el año (8-9 cortes) en una rotación que asegurara productividad y persistencia. Un manejo adecuado para la alfalfa responde a la combinación de una elevada defoliación (hasta un 80% de eficiencia de cosecha con altas cargas instantáneas de 160 vacas lecheras ha⁻¹ día⁻¹ en franjas diarias) con aprovechamiento discontinuo. Esto significa respetar periodos de descanso que son variables según la

¹ Trabajo traducido por los autores y original publicado en Proceedings of the second World alfalfa congress, Córdoba, Argentina 11 november 2018. <http://www.worldalfalfacongress.org/>

estación del año: aproximadamente 24 días en verano, 28 días en primavera, más de 40 días en otoño, y en invierno definido por el rebrote basal.

Sin embargo, esta primera incorporación de variedades mejoradas no se tradujo en un aumento significativo de la productividad (expresada en litros de leche $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$). Si bien se reconoce que la alfalfa es un buen alimento, la gran proporción de esta leguminosa en el consumo total (90% de la materia seca ingerida) dificultaba la conformación de una dieta que proveía una relación proteína/energía desbalanceada y problemas de timpanismo. En ese contexto era frecuente observar consecuencias negativas en la salud de las vacas y la producción de leche.

En la década del '90 la intensificación se expresó de manera más importante, con incrementos de la producción de leche a una tasa anual del 7%. Esto fue posible gracias a: 1) la gran adopción del silaje de planta entera de maíz o sorgo embolsado que permitió una carga animal alta y estable durante el año y 2) la implementación de una rotación de cultivos de base para la mayoría de las cuencas lecheras compuesta por 3 años de alfalfa (60%) + 2 años de sorgo/maíz o maíz/maíz (estos dos últimos para silaje). Como "válvula de seguridad" ante contingencias que pudiesen afectar la producción de alfalfa en su 3^{er} año, era común la implantación de verdeo de invierno (avena para pastoreo) y/o de verano (soja para pastoreo o Setaria para heno). En consecuencia, se logró: una mayor estabilidad estacional e interanual de la oferta de forraje que permitió elevar la carga animal durante el otoño-invierno y complementariamente, se mantuvo una cierta estabilidad en los componentes de la dieta, con una disminución de la participación de la alfalfa dentro de la misma. Como consecuencia de ello, la eficiencia en la producción de leche (litros $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$) aumentó notablemente y de manera sostenible (+30%)

En el periodo 2005-2015, el proceso de intensificación se caracterizó por adecuaciones a las estrategias alimentarias con mayor tendencia al confinamiento parcial o total. Esto último asociadas generalmente a una mayor escala, el uso de concentrado extra-predial en una proporción del 25 al 43% de la MS total consumida por las vacas y con el incremento en los gastos de suministro de alimentos (representando en promedio el 8% del Ingreso bruto de la leche). La tendencia en la disminución de la participación de la alfalfa en la dieta se manifestó fuertemente (del 50% pasó al 27% de la MS consumida). Sin embargo, ello no debería interpretarse como el indicio de una tendencia a la desaparición de las pasturas de alfalfa en los sistemas de producción de leche. Por el contrario el pastoreo de alfalfa seguirá cumpliendo un rol relevante en la producción láctea argentina por dos razones fundamentales: 1) permite un adecuado balance de nutrientes por los aportes de energía, proteínas y vitaminas, y la posibilidad de combinarla con otros alimentos y 2) reduce los costos de alimentación y de salud animal, mejorando así los resultados económicos de la empresa (Bretschneider y Salado, 2016; Salado et al, 2016).

La información producida y analizada desde la EEA Rafaela del INTA (Comerón y Romero, 2017) concluyen que la combinación de sistemas de base pastoril con suplementación (sistema típico: 30% concentrado: 30% pastura de alfalfa 30% silaje de maíz o sorgo 10% de heno de alfalfa) permitiría que una vaca Holando pueda producir alrededor de 7500 litros lactancia⁻¹, manteniendo una condición corporal adecuada. En combinación con una carga animal de 1,5-1,6 vacas $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ se alcanzan en forma sostenible, productividades de algo más de 11000 litros $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ con rentabilidades viables para responder a situaciones de mercado muy variables (consumo interno y de exportación)

2. EFECTO DEL PASTOREO DE LA ALFALFA SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE, LOS PRODUCTOS DERIVADOS Y LA COMPOSICIÓN DE ANTIOXIDANTES.

La alfalfa es una importante fuente de nutrientes, la que además de mejorar la concentración de componentes esenciales, disminuye la susceptibilidad a la oxidación. Cuando se analiza la inclusión de diferentes proporciones de alfalfa pastoreada en raciones parcialmente mezcladas (PMR), se registra una correlación directa entre la proporción de la misma en la dieta y la concentración de compuestos

benéficos en la leche y los productos derivados (queso y leche en polvo). Esta respuesta es importante para diferenciar la calidad de la leche producida bajo condiciones variables de pastoreo de alfalfa con una estrategia de alimentación en PMR.

En un ensayo realizado en el INTA Rafaela, luego de 20 días de alimentación con alfalfa fresca (peso húmedo) vs silaje de sorgo y heno, se registraron mayores concentraciones de vitamina A (retinol), vitamina E (alfa-tocoferol) y carotenoides (beta-caroteno), así como una capacidad oxidativa superior y por lo tanto, menor susceptibilidad a la oxidación (Rossetti et al, 2010).

Adicionalmente, se obtuvo una calificación sensorial superior para caracteres organolépticos, tales como color y aroma, como respuesta a la inclusión de alfalfa en la alimentación. Debido a que las dietas más utilizadas en las cuencas lecheras no incorporan una alta proporción alfalfa fresca, se condujo una experiencia en el INTA Rafaela con su inclusión en proporciones variables (Descalzo et al, 2012), concluyendo que con una proporción del 50% de alfalfa (peso húmedo) era suficiente para obtener la misma calidad de leche que con proporciones mayores. También se evaluó el impacto sobre los productos derivados obtenidos (leche en polvo entera y queso de pasta dura tipo Reggianito) utilizando la leche del mismo estudio. Los resultados mostraron una composición nutricional superior de los productos lácteos con una adecuada proporción de alfalfa fresca en la dieta. La conclusión general es que el valor nutricional de la leche y sus productos derivados pueden ser naturalmente mejorados mediante el uso de alfalfa fresca en la estrategia de alimentación.

3. IMPACTO AMBIENTAL EN SISTEMAS CON ALFALFA

A pesar que la alfalfa es ampliamente utilizada en los sistemas de producción de leche, se han conducido muy pocos estudios que evalúen el impacto ambiental del pastoreo de esta especie en los mismos.

Tieri y col. (2017) analizaron para el período julio 2014 – julio 2015 a 116 tambos en base a la eficiencia de uso del nitrógeno (EUN) y la emisión de gases de efecto invernadero. El estudio permitió identificar un número de sistemas productivos que combinaban una elevada producción y un bajo impacto ambiental. Con relación a la EUN, el promedio para los establecimientos fue de $24.6\% \pm 7.7$, que es similar a los valores reportados por Gourley et al. (2012) para Australia y EUA, aunque superiores a los estimados por Nevens et al. (2006) para explotaciones lecheras de la región Flamenca. Sin embargo, 60.3% de los tambos en el estudio exhibieron una EUN de alrededor de 30%, muy cercano al límite aceptable propuesto por Powell et al. (2010). Para la estimación para la emisión de gases de efecto invernadero se utilizó la metodología IPCC (Huella de carbono = CF, en $\text{kg CO}_2\text{eq kg leche}^{-1}$). Los resultados indicaron que la CF se encontraban en el rango de valores obtenidos para el Reino Unido y los EUA, i.e. 0.6-2.8 $\text{kg de CO}_2\text{-eq kg de leche}^{-1}$ (DairyCo 2012; Thoma et al., 2013). El promedio para la CF (0.92 ± 0.24 %) estuvo cercano al límite inferior del rango obtenido en evaluaciones internacionales (Opio et al. 2013) y similar al registro de 1 $\text{kg de CO}_2\text{-eq/kg de FPCM}$ (grasa y proteína corregida de leche) calculado para sistemas productivos de Irlanda (Leip et al., 2010; Yan et al., 2013). El valor medio obtenido para Argentina es también similar al rango de 0.84-0.90 reportado por O'Brian et al. (2014) para tambos del Reino Unido, Irlanda y EUA.

4.- CONSIDERACIONES

Existen evidencias productivas y económicas que justifican el uso de las pasturas de alfalfa como parte de dietas del tipo PMR (pastoreo de alfalfa + silaje + heno + concentrado) en la producción láctea. Ésta estrategia implica menor inversión y adecuados costos operativos, al menos para el pequeño/mediano productor de leche argentino ($\leq 3,500$ litros día^{-1}). Adicionalmente, la pastura de alfalfa contribuye a una estructura de alimentación más estable (menos riesgosa) y a la mejora del valor

nutricional de la leche y productos derivados. Además, tiene un menor impacto ambiental (EUN y CF) comparado con sistemas confinados. Sin embargo, todavía existe la necesidad de identificar nuevos indicadores para una evaluación más exhaustiva de la respuesta de los sistemas y también de nuevos estudios para mejorar la eficiencia de uso de los nutrientes, la composición nutricional y la sostenibilidad de los sistemas de producción de leche.

5.- BIBLIOGRAFÍA

- BRETSCHNEIDER, G. Y SALADO, E.E. 2016. Nutrición Animal. Ventajas y desventajas de sistemas de producción lecheros confinados vs pastoriles. EEA INTA Rafaela. Información Técnica de Producción Animal. 66-71. http://rafaela.inta.gov.ar/publicaciones/documentos/miscelaneas/misc_online/misc_online_a4_2_inta_informacion_tecnica_produccion_animal_2016.pdf
- COMERON, E. Y ROMERO, L.A. 2007. Utilización de la alfalfa para vacas lecheras en pastoreo. "El cultivo de la Alfalfa en la Argentina". 2da Edición. Ed. Daniel Basigalup, Subprograma Alfalfa de INTA, EEA Manfredi, Ediciones INTA. Capítulo 14, págs. 305-334
- COMERÓN, E., ROMERO, L., VERA, M., VILLAR, J., MACIEL, M., CHARLÓN, V., TIERI, M.P. Y SALADO, E. 2016. Algunas consideraciones sobre la evolución del proceso de intensificación de la lechería argentina y los aportes del INTA. Información técnica de producción animal 2016 ISSN 2314-3126 Publicación Miscelánea Año V N°1 EEA Rafaela.
- COMERON, E.A. Y ROMERO, L.A. 2017. La utilización de pasturas de alfalfa en los sistemas lecheros intensificados. Información Técnica De Producción Animal 2017 ISSN 2314-3126 Publicación Miscelánea Año V N°2 EEA Rafaela.
- DESCALZO A.M., ROSSETTI L., PÁEZ R., GRIGIONI G., GARCÍA P.T., COSTABEL L., NEGRI L., ANTONACCI L., SALADO E., BRETSCHNEIDER G., GAGLIOSTRO G., COMERÓN E., TAVERNA M.A. (2012) Differential Characteristics of Milk Produced in Grazing Systems and Their Impact on Dairy Products, Milk Production. Advanced Genetic Traits, Cellular Mechanism, A. Manag. and H.INTECH.pp. 368.
- DAIRYCO 2012. Greenhouse gas emissions on British dairy farms DairyCo C footprinting study: https://dairy.ahdb.org.uk/media/623464/greenhouse_gas_emissions_on_british_dairy_farms.pdf
- GOURLEY, C.J.P., AARONS, S.R., POWELL, M. 2012. Nitrogen use efficiency and manure management practices in contrasting dairy production systems. Agriculture, Ecosystems and Environment 147 (2012) 73–81.
- LEIP, A., WEISS, F., WASSENAAR, T., PEREZ, I., FELLMANN, T., LOUDJANI, P., TUBIELLO, F., GRANDGIRARD, D., MONNI, S., BIALA, K. 2010. Evaluation of the livestock's sector contribution to the EU greenhouse gas emissions (GGELS), Final report, EC, Joint Research Centre, Ispra, Italy.
- O'BRIEN, D., CAPPER, J. L., GARNSWORTHY, P. C., GRAINGER, C., & SHALLOO, L. 2014. A case study of the carbon footprint of milk from high performing confinement and grass-based dairy farms. Journal of Dairy Science, 97(3), 1835-1851. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7174>
- OPIO, C., P. GERBER, A. MOTTET, A. FALCUCCI, G. TEMPIO, M. MACLEOD, T. VELLINGA, B. HENDERSON, AND H. STEINFELD. 2013. Greenhouse Gas Emissions from Ruminant Supply Chains—A Global Life Cycle Assessment. FAO, Rome, Italy.
- POWELL J.M., GOURLEY, C.J.P., ROTZ, C.A., WEAVER, D.M. 2010. Nitrogen use efficiency: A potential performance indicator and policy tool for dairy farms. Environmental science & policy 13 (2010) 217–228.
- ROSSETTI L., SANCHO A.M., LANGMAN L., COMERÓN E., GRIGIONI G.M., BIOLATTO A., DESCALZO A.M. 2010 Antioxidant status and odour profile in milk from silage of lucerne-fed cows. The Australian Journal of Dairy Technology 65:3-9.

- SALADO, E.E., MACIEL, M.G., BRETSCHEIDER, G., CUATRIN, A., CASTIGNANI, H. 2016. Nutrición Animal. Sistemas de Alimentación combinado pastura y ración totalmente mezclada. Respuesta productiva y comportamiento reproductivo de vacas lecheras. EEA INTA Rafaela. Información Técnica de Producción Animal. 72-79. http://rafaela.inta.gov.ar/publicaciones/documentos/miscelaneas/misc_online/misc_online_a4_2_inta_informacion_tecnica_produccion_animal_2016.pdf
- THOMA, G., POPP, J., NUTTER, D., SHONNARD, D., ULRICH, R., MATLOCK, M., KIM, D.S., NEIDERMAN, Z., KEMPER, N., EAST, C., ADOM, F. 2013. Greenhouse gas emissions from milk production and consumption in the United States: A cradle-to-grave life cycle assessment circa 2008. *International Dairy Journal*, Vol 31 (1), 3-14.
- TIERI, M.P., FAVERIN, C., CHARLON, V., COMERON, E., GONDA, H.L. 2017. Lechería con baja emisión, eficiente en el uso del nitrógeno, alta productividad y margen bruto ¿Existe en Argentina? Libro de resúmenes III GALA (Uruguay), pp 118.
- YAN M.J., HUMPHREYS, J., AND HOLDEN, N.M. 2013. Life cycle assessment of milk production from commercial dairy farms: the influence of management tactics. *J. Dairy Sci.* 96 :4112–4124.

EFICIENCIA DE USO DEL NITRÓGENO POR FORRAJERAS ABONADAS CON ESTIÉRCOL DE BOVINOS LECHEROS EN LA REGIÓN PAMPEANA, ARGENTINA

Herrero, M. A.¹; Charlon, V.²; Carbó, L. I.¹; Cuatrín, A.³; Sardi, G.M.¹; Romero, L.²

¹ Cátedra de Bases agrícolas, Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA). aherrero@fvvet.uba.ar

² INTA EEA Rafaela. charlon.veronica@inta.gob.ar

³ INTA EEA Paraná (Entre Ríos)

RESUMEN

La intensificación de los sistemas ganaderos con el consiguiente aumento de la carga animal, incrementa la cantidad de estiércol que puede ser reutilizado como una fuente de nutrientes para cultivos forrajeros. El propósito del trabajo fue recopilar y comparar los resultados obtenidos de a) calidad de estiércol en diferentes zonas de producción lechera de la Argentina y b) resultados de ensayos realizados en dos ambientes climáticos diferentes, sobre la eficiencia de utilización del nitrógeno (N) del estiércol de bovinos lecheros como fertilizante de recursos forrajeros y cultivos. Se sistematizó la información analítica (materia seca (% MS), nitrógeno (%N), fósforo (%P) y % P2O5) de 36 muestreos de estiércol proveniente de pilas de almacenamiento o de tratamiento por separador de sólidos en ambas regiones con igual metodología. Se recopiló información de suelo, clima, calidad del estiércol, dosis y estrategia de aplicación y de productividad en 7 ensayos realizados en el Norte de Buenos Aires y 8 en el Centro de Santa Fe. Los recursos forrajeros y cultivos fueron: alfalfa, avena, maíz, moha, raigrás anual, pasturas polifíticas, sorgo de pastoreo y para silaje y trigo. Para comparar los resultados se utilizó el indicador Eficiencia Aparente de Uso de N (EAUN) que expresa los kg de MS/kg N aplicado respecto al testigo. La calidad del estiércol presentó características variables en las zonas estudiadas, coincidentes con estudios internacionales (%MS de 16,3 a 56,0, %N de 2,9 a 19 y %P2O5 de 0,31 a 2,33), atribuidas a diferente manejo del agua, tipo de separador y de la dieta. Los valores de EAUN fueron desde 4 hasta 82 kg MS/kg N, según cultivo y situación climática. Las variables temperatura y precipitaciones fueron las que más incidieron en la EAUN, respecto de condiciones edáficas y del estiércol tales como su acondicionamiento previo, momento y división de la dosis total aplicada. Es decir, con temperaturas templadas y buena humedad se esperan mejores condiciones de mineralización que favorecerían la eficiencia de uso de estos recursos orgánicos (EAUN mayores a 30 kg MS/kg N) que requieren de condiciones muy específicas para que sus nutrientes estén disponibles para los cultivos. En distintas zonas de la región pampeana se podría utilizar estiércol vacuno como fuente nitrogenada para favorecer la acumulación de biomasa aérea, a partir de su reúso.

Palabras clave: calidad de estiércol, mineralización, condiciones climáticas, estrategias de alimentación, biomasa vegetal

SUMMARY

Intensification of animal production systems, and therefore the increase in livestock stocking rate, increases the amount of excreta that can be used as a nutrient source for forages crops. The purpose of this study was to compile and compare a) effluent quality results from different dairy production areas of Argentina and b) results from studies carried out in two different environments, on nitrogen

(N) use efficiency of dairy cattle manure used as fertilizer of forage and grain crops. Analytical information of 36 manure samples from stocking piles or solid separator treatments in the different regions (dry matter (%DM), nitrogen (%N), phosphorus (%P) and % P₂O₅) was systematized by using the same sampling methods. Information on soil, weather conditions, manure quality, doses and application strategies, and productivity of 7 studies carried out in northern Buenos Aires and 7 in central Santa Fe, was compiled. The forages and crops were: alfalfa, oats, corn, Hungarian millet, annual ryegrass, polyphitic pastures, sorghum for both grazing and silage, and wheat. In order to compare results, the Apparent N Use Efficiency (ANUE) indicator was used. It expresses the kg DM/kg applied N in relation to the control treatment. Manure quality presented variable characteristics in both zones (%DM from 16,3 to 56,0, %N from 2,9 to 19, and %P₂O₅ from 0,31 to 2,33). These are in accordance with international studies, and attributed to different water management practices, type of manure solid separation technique, and diet components. Values for ANUE varied from 4 to 82 kg DM/kg N, varying from crop and weather conditions. Temperature and rainfall variables had a greater incidence on ANUE, over soil and manure variables, such as prior management, moment and division of the applied total dose. That is to say, with moderate temperatures and adequate moisture, better mineralization conditions are expected which in turn increase ANUE of these organic nutrient resources (ANUE greater than 30 kg DM/kg N). These sources require very specific conditions for their nutrients to become available for crops. In the different areas of the Pampa Region, cattle manure could be used as a nitrogen source, improving aerial biomass accumulation by its reuse.

Key words: manure quality, mineralization, weather conditions, feeding strategies, forage biomass

INTRODUCCIÓN

La intensificación de la producción ganadera, con aumentos importantes de la carga animal, lleva implícito un incremento en el uso de los recursos (energía, nutrientes y agua) con el correspondiente aumento de la producción por hectárea (Upton, 1997). Existen indicadores que permiten cuantificar y determinar las eficiencias en el uso de los nutrientes (Atkinson y Watson, 1996; Rotz, 2004) a escala de predio, unidad en la cual las decisiones son tomadas por el productor, y que resultan fundamentales para evaluar opciones de manejo productivo y mitigación de los impactos de la ganadería en el medio ambiente (Rotz et al., 2010).

Tanto los vertidos a cuerpos de agua, como la acumulación de excretas en sectores determinados, o la reutilización de sus nutrientes como fertilizantes, llevan consigo problemas que se manifiestan en el ámbito mundial. Entre el 60 y el 80 % del nitrógeno (N) y fósforo (P) ingeridos por los animales son eliminados por orina y heces, permaneciendo una escasa proporción en los productos animales (Van Horn et al., 1994; Watson y Atkinson, 1999). Cuando los sistemas ganaderos se intensifican, las excretas se concentran en áreas reducidas que resultan focos de contaminación y son consecuencia de flujos de nutrientes y minerales dentro y entre predios (Herrero et al., 2006; Charlton et al., 2012). La identificación de éstos flujos resulta fundamental para aplicar estrategias de manejo de la alimentación y de los residuos orgánicos generados, principalmente estiércol (Knowlton et al., 2004; Hoekstra et al., 2007; Burón Alfano et al., 2009). Decidir estrategias de alimentación (tipo de ración, instalaciones y tiempos de suplementación, entre otros), permiten reducir transferencias y pérdidas, mejorando los índices de conversión nutricional, y permitirían, por ejemplo, recolectar estiércol para mejorar el reciclado de nutrientes mediante su reuso como abono (Dou et al., 2003; Rotz, 2004; Salazar et al., 2005). Las ventajas del uso racional del estiércol como abono se focalizan en disminuir el ingreso de nutrientes al predio vía fertilizantes y en reducir la contaminación por escurrimientos y lixiviados desde instalaciones donde se acumulan a partir de la redistribución del mismo hacia las áreas a aplicar (Hooda et al., 2000; Carbó et al., 2009).

En la Argentina, la producción lechera refleja los procesos de intensificación referidos. En el año 1998 se registraban 30.500 tambos, reduciéndose su número hasta menos de 12.000 en la actualidad (SENASA, 2015). En este proceso, la producción de leche se incrementó de 6.000 a 11.500 millones L/año y el stock de vacas disminuyó entre un 10-15%, manteniéndose la tendencia decreciente de la última década a una tasa del orden del 1% anual (FunPEL, 2015).

Los residuos que se generan en las instalaciones de ordeño presentan diferentes características. El estiércol, que está constituido por excretas recolectadas de los pisos de los corrales y/o de separadores de sólidos en el tratamiento primario o de animales estabulados, tiene un variable porcentaje de materia seca (15-50%). Presenta un excelente potencial para ser utilizado como abono por contener mayores concentraciones de nutrientes que los purines (efluentes) que poseen mayor cantidad de agua (RAMIRAN, 2011).

En diversos países del mundo la estrategia más difundida es su reutilización como fertilizante, como consecuencia de las reglamentaciones locales vigentes que impiden su vertido a cuerpos de agua (Menzi, 2002). En general, la dosificación recomendada es en base a Nitrógeno disponible, donde para la UE (Unión Europea) se utiliza en general como valor máximo de 170 kg por hectárea y por año (Martinez y Burton, 2003).

En un estudio, realizado en la Argentina en 329 tambos, se determinó que esta práctica de manejo se utiliza desde hace unos 15 años, siendo la misma poco difundida en diferentes cuencas lecheras (6% de los tambos). Por otra parte, su utilización no consideraba el "uso agronómico", sino la necesidad de vaciar las lagunas de almacenamiento que se colmataban de sedimentos (Herrero et al., 2009). En los últimos años se han incrementado las consultas de cómo utilizar el estiércol y los efluentes como fertilizantes. Sin embargo, se observa que los resultados sobre su impacto en la eficiencia de producción de biomasa vegetal están dispersos en trabajos de difícil acceso para técnicos y productores.

El propósito del trabajo fue recopilar y comparar los resultados obtenidos de a) calidad de estiércol en diferentes zonas de producción lechera de la Argentina y b) resultados de ensayos realizados en dos ambientes climáticos diferentes, sobre la eficiencia de utilización del nitrógeno (N) del estiércol de bovinos lecheros como fertilizante de recursos forrajeros y cultivos.

METODOLOGÍA

Se utilizó información relevada durante 10 años en dos regiones lecheras: Centro de Santa Fe (SF) y Norte de Buenos Aires (BA). La región de SF es una zona de clima templado-húmedo, con temperatura media anual de 19,2°C y precipitaciones anuales de 944,1mm (mayor distribución noviembre-abril) y la de BA tiene temperatura media anual de 16,8°C y precipitaciones anuales de 1000mm (mayor distribución octubre-abril). En ambas regiones predominan suelos con buena fertilidad natural, alta capacidad productiva y aptos para una gran variedad de cultivos agrícolas, forrajeros y forestales.

Se recopiló información sobre la calidad del estiércol de predios lecheros de ambas regiones. Las muestras eran provenientes de pilas de almacenamiento y de separadores de sólidos. En cada caso se consideró el % de materia seca (MS% a 105°C), el contenido de nitrógeno según %N (N Kjeldahl) y de fósforo %P (método colorimétrico) y su conversión como %P₂O₅. Los datos se analizaron mediante prueba de Shapiro-Wilks para conocer normalidad, luego se compararon todos los parámetros para ambas regiones mediante la prueba de Mann-Whitney ($\alpha = 5\%$).

Además, se sistematizó la información correspondiente a ensayos entre 2003 y 2012 realizados tanto en Santa Fe (EEA Rafaela, INTA: 31°12' S, 61°30' W y en campo productor: 31°26'29" S, 60°59'16" O) como en Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA: 34°35'29" S, 58°29'00" W y en campo de productor: 34° 19' 22" S, 59° 05' 30" O), que hubiese sido presentada previamente en diferentes congresos de la especialidad.

Para su comparación se consideraron: especie vegetal, condiciones ambientales respecto a registros históricos (10 años) tipo y calidad del estiércol (MS% y N%), estrategia de aplicación (momento de aplicación respecto a la siembra y particionamiento de la dosis aplicada), dosis de N expresada como kg de N disponible para las plantas (NDP)/ha y eficiencia aparente en el uso del N (EAUN), expresado como kg MS producida/kg de NDP aplicado. El EAUN se calculó mediante la siguiente fórmula (Dobermann, 2005):

$$EAUN = \frac{(kg\ MS\ del\ tratamiento\ fertilizado - kg\ MS\ del\ testigo)}{kg\ N\ aplicado/ha}$$

Las dosis de N se calcularon utilizando las fórmulas de NDP provistas por la EPA (1995), que consideran la composición del estiércol a aplicar en el año y los coeficientes de mineralización de los residuos o abonos orgánicos utilizados en las aplicaciones previas. En el caso de la pastura polifítica y la alfalfa pura (2009) la aplicación se realizó solamente el año de implantación y se fueron acumulando los rendimientos (1er. y 2do. año) dividiéndose por los Kg NDP aplicados para expresar la EAUN. Para el caso de la alfalfa (2006) además se consideraron los rendimientos parciales de cada etapa (1, 2 y 3^{er}. año).

El período de ensayos considerado fueron entre los años 2006 y 2012 en BA y entre 2003 y 2010 en SF. En BA se recopiló la información (productividad y calidad) de los siguientes recursos forrajeros: avena (*Avena sativa*), raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.), sorgo azucarado para silo y pastura polifítica (raigrás perenne cv. Matrix, raigrás anual cv. Florida, cebadilla criolla cv. Copetona, trébol rojo cv. Tropero, trébol blanco cv. Braidwood y *Lotus tenuis* cv. Esmeralda). En SF se recopiló la información de los siguientes recursos forrajeros: pastura alfalfa (*Medicago sativa* cv Monarca SP INTA), avena (*Avena sativa*, cv Calen), raigrás anual (*Lolium multiflorum* L.am, cv Tama), sorgo forrajero para silo (*Sorghum saccharatum*, cv Beef Builder), trigo (*Triticum aestivum*), moha (*Setaria italica*, cv Carape) y maíz (*Zea mays*).

RESULTADOS

Las características del estiércol en ambas regiones se presentan en la Tabla 1. Se observa gran variabilidad en todos los parámetros estudiados. El contenido de materia seca se encuentra entre 16 y 56%, vinculado al manejo y uso del agua con estos sólidos. Si bien se acotó la comparación a muestras provenientes de pilas de almacenamiento y material proveniente de separadores de sólidos, los lixiviados y la incidencia de agua de lluvia genera dispersión en los valores evaluados. Respecto a los contenidos de %N, %P y %P₂O₅ se hallaron diferencias significativas (p< 0,05) entre regiones.

Tabla 1. Parámetros de calidad de estiércol (% MS y N%, P% y % P₂O₅, expresados en base seca) en 36 muestras provenientes de predios lecheros de dos regiones en la Argentina (expresados como valores medios ± desvío estándar, (CV%= coeficiente de variación)).

| Parámetros | Región | |
|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| | Centro de Santa Fe (n= 19) | Norte de Buenos Aires (n= 17) |
| % Materia Seca | 28,75 ±7,02a (24,24) | 31,65 ±12,07a (38,15) |
| % N | 1,62 ±0,30a (19,35) | 3,45 ±1,79b (51,91) |
| % P | 0,25 ±0,16a (61,25) | 0,13 ±0,04 b (33,28) |
| % P ₂ O ₅ | 0,58 ±0,36a (61,24) | 0,29 ±0,10b (32,74) |

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas (Prueba de Mann-Whitney α= 5%)

En Tabla 2 se muestran los resultados comparados de 15 ensayos.

Tabla 2. Impacto del uso del estiércol de bovinos lecheros, como abono de forrajes y cultivos, en la eficiencia de uso N (expresados como valores medios \pm desvío estándar) en Santa Fe (SF) y Buenos Aires (BA) según año, condiciones ambientales del periodo de ensayo, dosis y estrategia de aplicación.

| Especie vegetal ¹ , Zona ² y Año | Condiciones ambientales ³ | Estrategia de aplicación ⁴ | Dosis (kg NDP ⁵ /ha) | EAU N ⁶ | Referencia |
|--|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------|--|
| ALF SF 2003/05 | 2 (33% en 2º año) | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2006</i> |
| | | 4 (2) | 98 | 24,12 \pm 5,88* | |
| | | 5 | 392 | 10,68 \pm 4,35* | |
| | | 8 | 196 | 9,86 \pm 8,03* | |
| ALF SF 2007/09 | 2 (26% en 2º año) | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2009^a</i> |
| | | 7 | 140 | 5,31 \pm 2,10* | |
| AVE SF 2004 | 2 (33%) | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2007^a</i> |
| | | 4 (48) | 35 | 7,73 \pm 14,16 | |
| | | 4 (48) | 70 | 8,09 \pm 7,93 | |
| | | 4 (2) | 35 | 8,37 \pm 15,17 | |
| | | 4 (2) | 70 | 12,87 \pm 6,78 | |
| AVE BA 2008 | 2 (28%) | 3 | 0 | - | <i>Margheim, et al., 2009</i> |
| | | 4 (15) | 50 | 18,47 \pm 27,49 | |
| | | | 100 | 8,01 \pm 8,21 | |
| MO SF 2008 | 1+ | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2009^b</i> |
| 4 (7) | 75 | 22,91 \pm 11,27 | | | |
| PP BA 2008 | 2 (47%) | 3 | 0 | - | <i>Pastorino, et al., 2009</i> |
| (implantación) | | 4 (15) | 100 | 21,58 \pm 9,27 | |
| | | | 200 | 4,07 \pm 5,21 | |
| PP BA 2009 (1º Año) | 1+ | 4 (15) | 0 | - | <i>Herrero, et al., 2010</i> |
| | | | 100 | 56 \pm 13** | |
| | | | 200 | 27 \pm 6** | |
| PP BA 2010 (2º año) | 1 | 4 (15) | 0 | - | <i>Herrero, et al., 2011</i> |
| | | | 100 | 82 \pm 13* | |
| | | | 200 | 41 \pm 9* | |
| RGA BA 2006 | 1 | 3 | 0 | - | <i>Herrero, et al., 2007</i> |
| | | 4 (15) | 100 | 32,71 \pm 7,91 | |
| | | 6 | 100 | 46,40 \pm 4,78 | |
| RGA BA 2007 | 2 (11%) | 3 | 0 | - | <i>Herrero, et al., 2008</i> |
| | | 4 (15) | 100 | 13,36 \pm 2,70 | |
| | | 6 | 100 | 15,69 \pm 1,36 | |
| RGA SF 2006 | 2 (18%) | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2011</i> |
| | | 4 (15) | 150 | 5,05 \pm 0,51 | |
| | | 6 | 150 | 3,60 \pm 0,78 | |
| SS SF 2006 | 1+ | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2007^b</i> |
| | | 4 (3) | 140 | 20,51 \pm 5,04 | |
| SS BA 2012 | 1+ | 3 | 0 | - | <i>Carbó, et al., 2014</i> |
| | | 4 (15) | 94 | 12,7 \pm 4,7 | |
| | | | 188 | 37,3 \pm 3,5 | |
| TR SF 2003 | 1 | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2004</i> |
| | | 4 (48) | 35 | 7,73 \pm 14,16 | |
| | | 4 (48) | 70 | 8,09 \pm 7,93 | |
| | | 4 (2) | 35 | 8,37 \pm 15,17 | |
| ZM SF 2003 | 1 | 3 | 0 | - | <i>Charlón, et al., 2005.</i> |
| | | 4 (137) | 70 | 22,54 \pm 23,6 | |
| | | 4 (98) | 70 | 30,94 \pm 37,6 | |
| | | 4 (60) | 70 | 21,46 \pm 21,1 | |

| |
|---|
| ¹ Especies: ALF: alfalfa (<i>Alfalfa sativa</i>); AVE: avena (<i>Avena sativa</i>), MO: moha (<i>Setaria itálica</i>); PP: pastura polifítica (Cebadilla criolla (<i>Bromus catharticus</i>), Raigrás perenne (<i>Lolium perenne</i>), Raigrás anual (<i>Lolium multiflorum</i>), Trébol Rojo (<i>Trifolium pratense</i>), Trébol Blanco (<i>Trifolium repens</i>) y Trébol de los cuernitos (<i>Lotus tenuis</i>); RGA: raigrás anual (<i>Lolium multiflorum</i>)), SS: sorgo para silo (<i>Sorghum sachararum</i>), TR: trigo (<i>Triticum aestivum</i>), ZM: maíz (<i>Zea mayz</i>) |
| ² Región de producción lechera: Santa Fe (SF); Buenos Aires (BA) |
| ³ Condiciones ambientales: 1- Normales de humedad y temperatura (* indica distribución errática); 2- Adversas con déficit hídrico y/o temperaturas extremas respecto a registros históricos de 10 años (% respecto a las mismas). |
| ⁴ Estrategia de aplicación: 3: control; 4: aplicación previo a la siembra con incorporación (días previos); 5: aplicación dividida (mitad pre-siembra (2 días) y mitad al año); 6: aplicación dividida (pre-siembra y luego del 1° corte); 7: aplicación post-emergencia de plantas; y 8: aplicación al año de la siembra. |
| ⁵ NDP: Nitrógeno disponible para las plantas (EPA, 1995) |
| ⁶ Eficiencia de Uso de N: (kg MS del tratamiento fertilizado - kg MS del testigo)/(kg N aplicado/ha) (Dobermann, 2005) |
| * Corresponde a la productividad acumulada total |
| ** Pastura: 2008-2010: la Eficiencia de uso del 2009 incluye la productividad acumulada del año de implantación (2008). |

Las condiciones climáticas, fundamentales para la mineralización del estiércol, fueron variables en los distintos estudios, y esto repercutió en el aporte de nutrientes a la planta y en su EAUN. En ocho ensayos se presentaron características similares a los registros históricos (temperatura y precipitaciones). Sin embargo, en tres de ellos, la distribución de las precipitaciones a lo largo del ensayo fue errática, lo cual podría haber afectado los resultados de los mismos. Los ensayos restantes se realizaron bajo condiciones de déficit hídrico que en promedio rondó en un 27% del registro histórico con un máximo de 47% y un mínimo de 11%. Dichos déficits se produjeron tanto durante la etapa de implantación, como durante ciertas etapas del ciclo de crecimiento. El peor año, el 2007, registró las temperaturas promedio (durante el invierno) más bajas en 45 años, con una nevada en julio, siendo la primera registrada en 89 años, y además se produjo un déficit hídrico entre mayo y julio.

En los ensayos con condiciones climáticas adversas, se observó los menores valores de EAUN (Tabla 2).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al comparar las características del estiércol con los resultados obtenidos por Menzi (2002) en un extenso relevamiento de 27 países europeos, se observa que los valores que se muestran en este trabajo se encuentran en el rango entre 14 y 43 %MS, siendo similares a los hallados en las regiones estudiadas. Si se comparan los resultados de N con los evaluados por Menzi (2002) se observa valores medios de 4,8 %N (de 2 a 7%) más cercanos a los del norte de BA. Para el caso de %P₂O₅ los valores en los 27 países estudiados de Europa resultaron cinco veces más elevados que ambas regiones en Argentina, probablemente por la menor cantidad de granos y suplementos que aportan P a la dieta en nuestros sistemas productivos.

Las diferencias encontradas entre ambas regiones en la composición de %N y %P del estiércol, probablemente sean ocasionadas porque las muestras provenían de distintas épocas del año, con diferente composición y manejo de las pasturas y de las raciones (dieta). Respecto de la composición de la dieta se observó en BA que entre el 45-50% de la ración corresponde a pasturas polifíticas templadas (otoño-invierno-primaverales), de alta calidad. El resto se distribuye entre silaje y diversos granos y subproductos frecuentes en la zona (afrechillo de trigo, grano de maíz, subproductos de soja y balanceado) en proporciones similares. En cambio, en SF, si bien las pasturas representan un porcentaje similar o mayor en la dieta, éstas son principalmente pasturas monofíticas de alfalfa o polifíticas base alfalfa, verdes y con subproductos y granos (concentrados energéticos) como semilla de algodón, expeller de soja, grano de maíz y sorgo. La diferencia en composición de las dietas, tanto en calidad como cantidad del recurso forrajero, como el efecto del tipo de suplementos, fue evaluado por el trabajo

de Hoekstra et al. (2007), quienes describen que la especie forrajera, su calidad, momento y manejo del pastoreo, así como el tipo de suplemento, afectan la disponibilidad y la capacidad de captación de los nutrientes e inciden sobre la excreción de los mismos.

En la tabla 2 se observa que las EAUN son diferentes según condiciones climáticas y localización de los ensayos. En condiciones de déficit hídrico desde la aplicación del estiércol en adelante se obtuvieron EAUN menores a 20 Kg MS/kg N. Esta situación ocurrió para ambas regiones y para diferentes especies forrajeras anuales o perennes. Cuando las condiciones de temperatura ambiental y humedad (lluvias) fueron mejores, situación que favorece la mineralización del N, se observaron eficiencias mayores a 30 kg MS/kg de N, independientemente de la región, cultivo o dosis. Otros autores encontraron que la mineralización fue mayor en condiciones de capacidad de campo y menor en suelos secos (Eghball et al., 2002).

Se observó que en ensayos donde se duplicaron las menores dosis, las EAUN eran levemente mayores o incluso menores. Por lo tanto, no se justificaría la utilización de dosis de N que excedan las necesidades de cada cultivo, para rendimientos medios esperados acorde a la situación del suelo. También se puede observar que existe mayor eficiencia (EAUN) para la zona más templada (BA) respecto del centro del país (SF). Otros estudios, provenientes de distintas latitudes y situaciones, reportaron valores similares de EAUN para pasturas (14-22kg MS por año/kg N), raigrás anual (25-48) y maíz (6-42 kg MS/kg N), adjudicando la variabilidad a la calidad del estiércol y a la estrategia de aplicación del estiércol (momento y forma de aplicación) y época del año (Herrero et al., 2009).

En síntesis, existen diferentes estudios en el país que muestran que en la región pampeana se podría utilizar estiércol vacuno como fuente nitrogenada, aumentando la acumulación de biomasa, tanto en especies forrajeras anuales como perennes. Es importante destacar que el uso de estiércol suministra una fracción N de uso inmediato por las plantas, que corresponde a la fracción inorgánica. Por otra parte, existen otras fracciones nitrogenadas, una con mineralización rápida (año de aplicación) y otra más lenta (segundo y tercer año luego de la aplicación). Estas fracciones dependen de las condiciones climáticas, las cuales definen la disponibilidad de nutrientes para las plantas, y esto lo diferencia de los fertilizantes minerales. En la dosificación del estiércol todas las fracciones se deben cuantificar para decidir la dosis de aplicación.

El desarrollo de estrategias que permitan la utilización eficiente de los nutrientes del estiércol, en la producción de cultivos y forrajes se presenta como una solución sostenible a la contaminación por acumulación de excretas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Buenos Aires por el apoyo financiero para la realización de los diferentes proyectos (2016-2004) que involucraron la realización de los ensayos (Proyectos 498BA; W376; V015 y V050).

Al INTA por el apoyo a la I+D y el aporte financiero a través de los Proyectos PNLEC 071041 (2009-2012) y PNLEC1104 (2006-2009). A profesionales y estudiantes de grado que colaboraron con los mismos y a los productores que permitieron su realización.

REFERENCIAS

- ATKINSON, D.; WATSON, C.A. 1996. The environmental impact of intensive systems of animal production in the lowlands. *Animal Science* 63, 353-361.
- BURÓN ALFANO, V.; QUESTA, G.; HERRERO, M.A.; ORLANDO, A.A.; FLORES, M.; CHARLÓN, V. 2009. Potencial de reutilización de los residuos provenientes de tambos comerciales para la fertilización de recursos forrajeros. *Revista InVet* 11 (2), 85-92.

- CARBÓ, L.I.; HERRERO, M.A.; SARDI, G.M.I.; FLORES, M.C.; VOLPE, S.; GUTIERREZ, G. 2009. Evaluación de raigrás anual (*Lolium multiflorum* lam.) fertilizado con purines y urea. SIGERA (Simposio Internacional sobre gestión de los residuos animales) Brasil, 446-451. (<http://sbera.org.br/sigera2009/downloads/obras/037.pdf>. Verificado 22/dic/2015).
- CARBÓ, L.I.; URQUIZA, M.E.; ORLANDO, A.A.; HERRERO, M.A.; TORGANO, M.; BONTÁ, M.A. 2014. Producción de sorgo para silaje en respuesta a fertilización con estiércol bovino de tambo. Revista Argentina de Producción Animal 34 (S1), 99.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; CUATRÍN, A.; TAVERNA, M. 2004. Efecto de la utilización de los residuos orgánicos en un verdeo de invierno. Revista Argentina de Producción Animal 24 (S1), 324-326.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; CUATRÍN, A.; TAVERNA, M. 2005. Efecto del momento de aplicación y de fuentes de nitrógeno en un cultivo de maíz. Revista Argentina de Producción Animal 25 (S1), 319-320.
- CHARLÓN, V.; CUATRÍN, A.; VIVAS, H.; TAVERNA, M. 2006. Utilización de residuos orgánicos en la producción acumulada y la calidad de una pastura de alfalfa pura. Revista Argentina de Producción Animal 26 (S1), 172-173.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; CUATRÍN, A.; TAVERNA, M. 2007a. Utilización de residuos orgánicos en el rendimiento y la calidad de un cultivo de avena. Revista Argentina de Producción Animal 27 (S1), 214-215.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; TAVERNA, M. 2007b. Utilización de residuos del tambo en un cultivo de sorgo forrajero para silaje. Revista Argentina de Producción Animal 27 (S1), 216-217.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; CUATRÍN, A.; TAVERNA, M. 2009a. Efecto de la utilización de residuos orgánicos en la producción de una pastura de alfalfa. Revista Argentina de Producción Animal 29 (S1), 355-356.
- CHARLÓN, V.; ROMERO, L.; CUATRÍN, A.; TAVERNA, M. 2009b. Utilización de residuos orgánicos en un cultivo de Moha de Hungría (*Setaria italica*). Revista Argentina de Producción Animal 29 (S1), 356-357.
- CHARLÓN, V.; HERRERO, M.A.; CUATRIN, A.L.; CARBÓ, L.I.; ROMERO, L. 2011. Dosis y momentos de aplicación de estiércol bovino en dos ambientes sobre cultivo de raigrás. Revista Argentina de Producción Animal 31 (S1), 559.
- CHARLÓN, V.; HERRERO, M.A.; CUATRIN, A. 2012. Contaminación del agua subterránea por nitratos en sitios intensificados de predios lecheros. Revista Argentina de Producción Animal 32 (S1), 59.
- DOBERMANN, A.R. 2005. Nitrogen Use Efficiency. State of the Art. Agronomy & Horticulture -Faculty Publications. Paper 316 (<http://digitalcommons.unl.edu/agronomyfacpub/316> Verificado el 22/dic/15).
- DOU, Z.; FERGUSON, J.; FIORINI, J.; TOTH, J.; ALEXANDER, S.; CHASE, L.; RYAN, C.; KNOWLTON, F.; KOHN, R.; PETERSON, A.; SIMS, J.; WU, Z. 2003. Phosphorus feeding levels and critical control points on dairy farms. Journal of Dairy Science 86, 3787-3795.
- EGBALL, B.; WIENHOLD BJ, GILLEY JE, EIGENBERG RA. 2002. Mineralization of manure nutrients. Journal of Soil and Water Conservation 57 (6), 470-473.
- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1995. Process design manual: land application of sewage sludge and domestic septage. U.S. EPA, Office of Research and Development, Washington, DC. 290 pp.
- FUNDACIÓN PEL. 2015. Anuario de la lechería argentina 2014. Editorial Inforcampo SA. 43 pp.
- HERRERO, M.A.; GIL, S.B.; SARDI, G.M.; FLORES, M.C.; CARBÓ, L.I.; ORLANDO, A.A. 2006. Transferencia de nutrientes del área de pastoreo a la de ordeño en tambos semi-extensivos (Buenos Aires, Argentina). Revista InVet 8, 23-30.

- HERRERO, M.A.; SARDI, G.M.I.; ORMAZABAL, J.J.; CARBÓ, L. I.; VOLPE, S.; FLORES, M.; CARIOLA, A.; GAMBÍN, V. 2007. Respuesta del raigrás anual a diferentes fuentes nitrogenadas y momentos de aplicación. *Revista Argentina de Producción Animal* 27 (S1), 354-355.
- HERRERO, M.A.; CARBÓ, L.I.; SARDI, G.M.; GUTIERREZ, G.; URQUIZA, M.; VOLPE, S.M.; FLORES, M.C.; ORMAZABAL, J.J.; CARIOLA, A.; CARCAGNO L.; MALHEIM, F. 2008. Efecto de fuentes nitrogenadas y momentos de aplicación sobre la productividad bienal de raigrás anual. *Revista Argentina de Producción Animal* 28 (S1), 354-355.
- HERRERO, M.A.; KOROL S.E.; CHARLON, V.; SALAZAR, F.; LA MANNA, A. 2009. Uso del agua, manejo de efluentes e impacto ambiental en el tambo. Informe internacional presentado en las III Jornadas Internacionales para la calidad de leche (JICAL III), Buenos Aires, Argentina. 26-28 de Marzo. *Memorias de las Jornadas APROCAL*, 27-57.
- HERRERO, M.A.; CARBÓ, L.I.; SARDI, G.M.I.; ALBANO, Y.; GENTILE, F.; MARGHEIM, F.; GUTIERREZ, G.; CARIOLA, A.; VOLPE, S.M.; FLORES, M.C. 2010. Acumulación de materia seca y extracción de nutrientes en pastura con historial de fertilización con estiércol. *Revista Argentina de Producción Animal* 30 (S1), 215-216.
- HERRERO, M.A.; SARDI, G.; CARBÓ, L.; CARIOLA, A.; GUTIERREZ, G.; URQUIZA, M.; GALOTTA, L.; PASTORINO, F.; VOLPE, S.; FLORES, M. 2011. Fertilización con estiércol bovino en pasturas: producción de forraje y nutrientes extraídos. *Revista Argentina de Producción Animal*. 31 (S1), 445.
- HOEKSTRA, N.J.; SCHULTE, R.P.O.; STRUIK, P.C.; LANTINGA, E.A. 2007. Pathways to improving the N efficiency of grazing bovines. *European Journal of Agronomy* 26, 363–374.
- HOODA, P.S.; EDWARDS A.C.; ANDERSON, H.A.; MILLER, A. 2000. A review of water quality concerns in livestock farming areas. *The Science of the Total Environment* 250, 143-167.
- KNOWLTON, K.F.; RADCLIFFE, J.S.; NOVAK, C.L.; EMMERSON, D.A. 2004. Animal management to reduce phosphorus losses to the environment. *Journal of Animal Science* 82, E173-E195.
- MARGHEIM, F.B.; SARDI, G.M.; VOLPE, S.M.; CARBÓ, L.I.; GUTIERREZ, G. M.; HERRERO, M.A.; URQUIZA, M.; CARIOLA, A.; FLORES, M.C.; CALCAGNO, L. 2009. Acumulación de forraje y contenido de nitrógeno y fósforo en avena fertilizada con estiércol. *Revista Argentina de Producción Animal* 29 (S1), 402-403.
- MARTINEZ, J.; BURTON, C. 2003. Manure management and treatment: an overview of the European situation. *International Conference of Animal Hygiene*; México. 12. (<http://www.isah-soc.org/documents/mainspeakers/15%20MartinezFrance.doc>. Verificado 22/dic/2015).
- MENZI, H. 2002. Manure Management in Europe, results of a recent survey. In proceedings of the 10th Ramiran International Conference of the FAO/SCORENA Network on the recycling of Agricultural Municipal and Industrial Residues in Agriculture (RAMIRAN). StrbskePleso, Slovak Republic, 14-18 Mayo, 93-102 (<http://www.ramiran.net/DOC/B2.pdf>. Verificado 22/dic/2015).
- PASTORINO, F.; SARDI, G.M.I.; GUTIERREZ, G.; VOLPE, S.M.; CARBÓ, L.I.; HERRERO, M.A.; FLORES, M.C.; ORMAZABAL, J.J.; GALOTTA, L.; ALBANO, Y. 2009. Pastura en implantación fertilizada con estiércol: acumulación de forraje y contenido de nitrógeno. *Revista Argentina de Producción Animal* 29 (S1), 401-402.
- RAMIRAN, NETWORK ON THE RECYCLING OF AGRICULTURAL MUNICIPAL AND INDUSTRIAL RESIDUES IN AGRICULTURE. 2011. Glossary of terms on livestock manure management. 2nd PAIN, B.; Menzi, H. (Eds.) (http://www.ramiran.net/doc11/RAMIRAN%20Glossary_2011.pdf. Verificado 20/dic/2015).
- ROTZ, C.A. 2004. Management to reduce nitrogen losses in animal production. *Journal of Animal Science* 82 (E. Suppl), E119-137.
- ROTZ, C.A.; MONTES, F.M; CHIANESE, D.S. 2010. The carbon footprint of dairy production systems through partial life cycle assessment. *Journal of Dairy Science* 93 (3), 1266-1282.

- SALAZAR, F.J.; CHADWICK, D.; PAIN, B.F.; HATCH, D.; OWEN, E. 2005. Nitrogen budgets for three cropping systems fertilised with cattle manure. *Bioresource Technology* 96, 235-245.
- SENASA. 2015. Sistema de Gestión Sanitaria (SGS) y el Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA)
(http://www.senasa.gov.ar/prensa/DNSA/Control_Gestion_y_Programas_Especiales/Indicadores_ganaderos/7_Indicadores_Ganaderia_Bovina_%20de_Tambo/Tambos.html). Verificado 15/mar/2016).
- UPTON M. 1997. Intensification or extensification: which has the lowest environmental burden? *World Animal Review* 88, 21-29.
- VAN HORN, H. H.; WILKIE, A. C.; POWERS, W. J.; NORDSTEDT, R.A. 1994. Components of Dairy Manure Management Systems. *Journal of Dairy Science* 77, 2008-2030.
- WATSON, C.A.; ATKINSON, D. 1999. Using nitrogen budgets to indicate nitrogen use efficiency and losses from whole farm systems: a comparison of three methodological approaches. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 53, 259-267.

REAFIRMANDO EL PAPEL DEL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS EN LA ALFALFA EN ARGENTINA

Frana, J.^{1*}; Trossero, M.¹; Fava, F.²; Trumper, E.²

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe)

² INTA EEA Manfredi (Córdoba)

*frana.jorge@inta.gob.ar

Los conceptos actuales donde se enmarca el Manejo Integrado de Plagas (MIP) provienen de las contribuciones de Stern y colaboradores (1959), profesores de la Universidad de California en los Estados Unidos de América, desarrollados precisamente para el cultivo de alfalfa. En ese momento, diseñaron la integración del control químico con el control biológico del pulgón manchado de la alfalfa. Por entonces, el MIP se propuso como una estrategia sólida para reducir los riesgos de pérdidas económicas sin comprometer la salud ambiental, basado en métodos de muestreo rápidos y confiables, con umbrales económicos determinados a través de las investigaciones de campo, y el uso de insecticidas selectivos que controlen efectivamente los artrópodos objetivo, pero sin o bajo impacto en la fauna benéfica. El MIP integra conceptos de la teoría económica y principalmente conceptos e hipótesis derivadas del marco teórico de la ecología, como la teoría de la biogeografía de islas (MacArthur y Wilson, 1967); la teoría de los enemigos naturales (Doutt y DeBach, 1964); y la hipótesis de concentración de recursos (Root, 1973).

Talleres clave sobre MIP (teoría y práctica) se llevaron a cabo en 1978, organizados por la FAO en la Estación Experimental Pergamino-INTA (INTA-FAO, 1978). Sin embargo, desde mucho antes (1960 hasta 1985), Barral & Zago (1983) diseñaron estrategias exitosas para el MIP en algodón, lo que condujo a una disminución sustancial del número de aplicaciones de insecticidas de aproximadamente 15 a 3 durante toda la temporada, un logro que recibió reconocimiento internacional. Después de 1978, INTA inició el desarrollo de programas de MIP para trigo, maíz, soja y alfalfa. En ese momento, el Programa Nacional de Protección Vegetal, establecido y dirigido por R. Parisi (INTA Pergamino), y apoyado por investigadores de todo el país, J. Aragón (Marcos Juárez); J. Ves Losada (Anguil); E. Botto (IMyZA) y J.M. Imwinkelried (Rafaela), con el asesoramiento de D. Harcourt (Agriculture Canada), realizaron estudios de análisis de tablas de vida y factores clave de mortalidad natural de las plagas de alfalfa. Estos proyectos establecieron las bases para un nuevo enfoque dentro de la estrategia de MIP: la conservación de los enemigos naturales. Cualquier actividad a realizar en el cultivo debe evaluarse primero, en cuanto a cómo se podrían afectar a los depredadores, parasitoides o entomopatógenos. Teniendo en cuenta esto, para el control de larvas de lepidópteros como las de *Colias lesbia*, *Rachiplusia nu*, *Spodoptera frugiperda*, *Anticarsia gemmatalis* o *Helicoverpa gelotopoeon*, se recomendó utilizar formulaciones de *Bacillus thuringiensis* o insecticidas del grupo de las diamidas que se sabe son selectivos para los enemigos naturales. Luego, cuando se deban controlar los pulgones, se recomendará una dosis reducida de pirimicarb. Sin embargo, dado que la alfalfa está destinada al pastoreo directo o al corte, quizás una opción de manejo de bajo costo sería anticipar la práctica sin intervención química. Por otro lado, en la década de 1980 se desarrolló un exitoso programa para liberar especies de la avispa *Aphidius* (Hymenoptera: Braconidae) en toda la región de producción de cereales y alfalfa.

Lamentablemente, como ocurre en muchos otros países, el MIP no es adoptado en forma masiva. Sin embargo, los agricultores que practican la filosofía MIP aprovechan la ventaja económica por no incurrir en costos de control de pulverizaciones de plaguicidas innecesarias. Debido a que la alfalfa es un cultivo perenne, este proporciona un ambiente relativamente estable durante varios años, en el cual los organismos benéficos pueden desarrollarse con mayor diversidad y abundancia (Zumoffen et al., 2010). Sin duda, los paisajes agrícolas que contengan alfalfa pueden beneficiarse de este servicio ecosistémico de biocontrol, recibiendo enemigos naturales de las plagas clave compartidas.

El monitoreo de los campos de alfalfa no solo apunta a plagas clave, sino también a mantener registros de sus enemigos naturales de la siguiente manera: Trichogrammatidae y Scelionidae como parasitoides de los huevos de Lepidoptera o Hemiptera; Aphidiinae y Microgastrinae como parasitoides de pulgones o larvas, respectivamente. Ichneumonidae y Braconidae como parasitoides de larvas y pupas de Lepidoptera; Chalcidoidea y avispas poliembriónicas Encyrtidae, así como Tachinidae, parasitoides clave en *Rachiplusia nu*. Tettigoniidae, tucuritas verdes de antenas largas como depredadores de pulgones e insectos de cuerpo blando. Carabidae como depredadores principalmente en el suelo. Luego varios depredadores de trips, huevos de lepidópteros, larvas, ninfas como el género Orius, Geocoris, Nabis, Zelus, Podisus. Algunos Diptera son depredadores generalistas como Asilidae, Dolichopodidae, o Syrphidae y Coccinellidae en forma de adultos o inmaduros como depredadores específicos de pulgones. Además, hay depredadores Chrysopidae como larvas y adultos, lo mismo que Staphylinidae. Las hormigas Solenopsis también son depredadores importantes. Además, el ácaro Balaustium es un depredador común en los campos de alfalfa. Hay varias especies de arañas representadas por las familias Araneidae, Thomisidae, Oxyopidae, Salticidae, Lycosidae y Clubionidae. Además, bajo ciertas condiciones ambientales, los virus y hongos entomopatógenos (*Nomuraea rileyi*) pueden alcanzar niveles epizoóticos en *Spodoptera spp.* y *Rachiplusia nu* controlando un porcentaje muy alto de los individuos.

Como ejemplo del potencial del enfoque MIP, de 19 potreros con alfalfa destinados a la producción láctea en la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, desde noviembre de 2014 hasta abril de 2015, solo cuatro fueron totalmente tratados (4,8; 11,3 y 11,5 larvas de *S. frugiperda* / golpe de red y 7,8 larvas de *C. lesbia* / golpe de red); tres fueron parcialmente tratados (con 9,5 y 7,2 larvas de *S. frugiperda* / golpe de red y 7,6 larvas de *H. gelotopoeon* / golpe de red). Por el contrario, es bien sabido que los productores de leche de la región aplican al menos un insecticida solo para larvas defoliadoras que puedan aparecer en verano.

Puede efectuarse una pregunta sobre cómo los campos de soja y maíz pueden beneficiarse de los campos de alfalfa en el paisaje regional. Es probable que la propagación o el movimiento de enemigos naturales subsidiados por la alfalfa sea un proceso importante que afecte a las poblaciones de insectos herbívoros en los cultivos circundantes. Dado que los enemigos naturales comienzan a aumentar la densidad de población a principios de la primavera, estos pueden pasar en vuelo o por el viento a los campos vecinos.

Como en cualquier otro cultivo, el MIP en alfalfa necesita revisión constante. Todos los programas MIP, tal como se explican en las bases metodológicas, deben dirigirse a las plagas principales, las cuales se encuentran en un proceso dinámico. Durante muchos años, los principales defoliadores fueron *R. nu* y *C. lesbia*. Sin embargo, quizás *S. frugiperda* se ha vuelto relativamente más importante en los últimos diez años. *S. frugiperda* se desarrolla más temprano en las zonas templadas debido al aumento de la temperatura y a la ausencia de temperaturas bajas, letales para las pupas en los primeros 5 cm de suelo.

Como se mencionó anteriormente, los pulgones como plaga clave de la alfalfa fueron atacados con varios enfoques. Primero, se estableció un programa de mejoramiento clásico que resultó en variedades de alfalfa que exhibían tolerancia o antixenosis. En segundo lugar, la conservación de "vaquitas benéficas" y parasitoides en el campo es fundamental para mantener las poblaciones de pulgones a bajas densidades. Durante julio de 2018, una densidad inusual de pulgón azul de alfalfa (*Acyrtosiphon kondoi*) estuvo presente en toda la región de cultivo de alfalfa del centro de Argentina,

donde se registraron más de 600 pulgones / tallo. Quizás, una infestación tan extraordinaria pudo haber sido la consecuencia de sembrar cultivares con una diversidad génica estrecha. De hecho, los pulgones resistentes a un cultivar son la consecuencia de la partenogénesis, donde los ejemplares inmaduros son réplicas génicas exactas de sus padres. Este escenario se asemeja a lo que pudo suceder cuando se detectó el biotipo *A. kondoi*-Raf.1990 debido a la alta presión de selección impuesta a la especie mientras el mismo cultivar fue sembrado en más del 50% de la región alfalfera.

Por otra parte, surgió otro debate sobre la necesidad de la alfalfa *Bt* para resolver los problemas de lepidópteros plagas: ¿es realmente necesaria? Existen muchos argumentos en contra de las necesidades de la alfalfa *Bt*. A pesar de que las larvas de lepidópteros son un problema, se pueden manejar de varias maneras, incluida la anticipación del corte. Pero una cuestión debe tenerse en cuenta. Si los agricultores no pudieron o supieron adoptar refugios en el maíz *Bt* y la soja *Bt*, difícilmente se podría esperar que adopten refugios en la alfalfa *Bt*. Otro problema sería la constante presión de selección actuando durante más de cuatro años. Además, *Cotesia ayerza* (Hymenoptera: Braconidae) es un parasitoide gregario de *C. lesbia* que comienza su control inadvertido desde agosto de cada año. Si bien el huésped se considera una plaga de verano, ¿deberíamos esperar encontrar *C. ayerza* en los campos de alfalfa *Bt*? ¿O son razonables las preocupaciones sobre las extinciones locales?

Finalmente, como fue presentado arriba, existe evidencia de que los cultivos de alfalfa son entornos estables que albergan una comunidad de insectos benéficos, como depredadores y parasitoides, y otros organismos descomponedores como los escarabajos estercoleros, que brindan servicios ecosistémicos reales. Sin dudas entonces, la conservación de los enemigos naturales de las plagas clave debe ser la estrategia conducente, para mejorar y seguir la filosofía de MIP en la alfalfa en Argentina.

REFERENCIAS

- BARRAL, J. M. & L. B. ZAGO. 1983. Programa para el Manejo Integrado de insectos y ácaros en algodón. INTA EERA Sáenz Peña, Chaco. Boletín 71. 32 p.
- DOUTT, R.L. & P. DEBACH. 1964. Some biological control concepts and questions. Pp 118-142. In: P. DeBach, ed. Biological control of insect pests and weeds. Reinhold, New York.
- IMWINKELRIED, J.M. & C.E. SALTO. 1994. Biotipo del pulgón azul de la alfalfa *Acyrtosiphon kondoi* Shinji (Homoptera: Aphididae) en Argentina. Informe para Extensión 172. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. 2 p.
- IMWINKELRIED, J.M.; R. ALBRECHT; C.E. SALTO; R. ZEHNDER & A. GALETTO. 1992. Implementación de una estrategia para el control integrado de plagas de la alfalfa en un área restringida de la provincia de Santa Fe. Informe para Extensión 151. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. 4 p.
- INTA-FAO. 1978. Compendio del curso de perfeccionamiento en Control Integrado de Plagas (Tomos I y II), INTA, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino.
- MACARTHUR, R.H. & E.O. WILSON. 1967. The Theory of Island Biogeography. Monographs in Population Biology, Princeton Univ.
- ROOT, R. B. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: the fauna of collards (*Brassica oleracea*). Ecological Monographs 43: 95-124.
- STERN, V.; R. SMITH; R. VAN DEN BOSCH & K. HAGEN. 1959. The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: The integrated control concept. Hilgardia 29(2): 81-101.
- ZUMOFFEN, L.; C. SALTO & M. SIGNORINI. 2010. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) como reservorio de insectos entomófagos. Revista FAVE - Ciencias Agrarias 9 (1-2): 73-82.

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE INSECTICIDAS PARA CONTROL DE PULGÓN AZUL (*ACYRTHOSIPHON KONDOI*) EN EL CULTIVO DE ALFALFA

Trossero, M.*; Frana, J.

INTA EEA Rafaela (Santa Fe).
trossero.marcia@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa*) es la principal especie forrajera del país y base de la producción de carne y leche en la región pampeana argentina (Basigalup y Rossanigo, 2007). Es un cultivo perenne, con cultivares con y sin latencia, capaz de albergar una amplia variedad de insectos benéficos y perjudiciales. Entre éstos últimos, los áfidos son uno de los más importantes. Las especies más frecuentes son el "pulgón verde de la alfalfa" (*Acyrtosiphon pisum*), el "pulgón azul" (*Acyrtosiphon kondoi*), "pulgón manchado de la alfalfa" (*Therioaphis trifolii*) y el "pulgón negro de las leguminosas" (*Aphis craccivora*) (Aragón y Imwinkelried, 2007).

En el invierno de 2018, se encontraron altas densidades poblacionales del "pulgón azul" (*Acyrtosiphon kondoi*) en los cultivos de alfalfa de las cuencas lecheras de Santa Fe y Córdoba (Frana *et al.*, 2018). Esta especie, originaria del Norte de China y Manchuria, fue detectada en 1974 en la costa oeste de Estados Unidos e hizo su aparición en nuestro país en el año 1976 (Luna, 1977). A partir del otoño del año 1977 se dispersó rápidamente a través de las diferentes regiones sembradas con alfalfa (Aragón y Imwinkelried, 2007).

En la región central de la Provincia de Santa Fe, este insecto tiene dos períodos de aparición, uno en el otoño y otro en la primavera y por lo general se presenta en forma conjunta con otras especies de pulgones que atacan a las alfalfas de grupo de reposo 9. Frecuentemente, las poblaciones del "pulgón azul" son las dominantes y superan los niveles de daño económico de 20-30 pulgones por tallo de más de 30 cm de altura. Una forma de atenuar el problema que causan estos insectos es el uso de cultivares de alfalfa con resistencia a los pulgones (Imwinkelried y Salto, 1994).

Las colonias de *A. kondoi* se ubican preferentemente sobre los brotes terminales de las plantas y, a diferencia del pulgón verde, no se desprenden con facilidad. Es una especie adaptada a las bajas temperaturas y es por esto que se la encuentra en el invierno, multiplicándose activamente por partenogénesis, desde mediados de julio hasta principios de primavera. En otoño, puede producirse otro pico poblacional. La toxina inyectada por este pulgón es más agresiva que la del pulgón verde y también transmite el virus del mosaico de la alfalfa (VMA). Las plantas dañadas por este pulgón presentan un marcado acortamiento de los entrenudos y un menor desarrollo de las hojas, que pueden deformarse o tornar a color amarillento o violáceo, para posteriormente secarse y caer, perdiendo calidad el forraje (Aragón y Imwinkelried, 2007).

Cuando ocurren altas poblaciones de pulgones, y hay ausencia o baja densidad de controladores biológicos, una alternativa de control es la utilización de insecticidas selectivos para la fauna benéfica y amigables con el ambiente, adecuados a la estrategia fundamental del Manejo Integrado de Plagas (MIP) que consiste en la conservación de los enemigos naturales.

El insecticida Transform® (actualmente con registro en trámite en SENASA para su utilización en alfalfa) a evaluar en este ensayo, contiene 500 gramos del activo sulfoxaflor por kilogramo de producto. Está formulado como gránulos dispersables (WG) y ha sido clasificado dentro de la categoría toxicológica

IV (productos banda verde, que normalmente no ofrecen peligro). Sulfoxaflor pertenece al subgrupo C (Sulfoximinas), del grupo 4 de clasificación de modos de acción del IRAC (IRAC, 2019). Este nuevo principio activo es un modulador competitivo de los receptores nicotínicos de la acetilcolina, presentando una interacción con éstos distinta a la de los insecticidas neonicotinoides (Sparks *et al*, 2013). Resulta importante conocer la eficacia de control de nuevos insecticidas, comparados con los normalmente utilizados. Para ello se efectuó el presente estudio de control del pulgón azul con distintos principios activos.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia de diferentes insecticidas para el control de *Acyrtosiphon kondoi* (pulgón azul de la alfalfa) que afectan el cultivo de alfalfa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un lote de alfalfa consociada (Alfalfa: 12 kg + Festuca: 6 kg + Trébol rojo: 6 kg) ya implantada (29 de abril de 2017) en la EEA Rafaela del INTA, sobre un suelo *Argiudol típico* serie Rafaela. La variedad de alfalfa utilizada fue Mecha (KWS). Se siguió un diseño experimental en bloques completamente aleatorizados con siete tratamientos y cuatro repeticiones. Las parcelas experimentales contaban con 10 m de largo por 4 m de ancho (40 m²). Los tratamientos consistieron en la aplicación de seis insecticidas y un testigo sin aplicación:

| | |
|----|-----------------------------|
| T1 | Testigo sin control |
| T2 | Sulfoxaflor 50% (20 g/ha) |
| T3 | Sulfoxaflor 50% (30 g/ha) |
| T4 | Sulfoxaflor 50% (40 g/ha) |
| T5 | Sulfoxaflor 50% (50 g/ha) |
| T6 | Clorpirifós 48% (400 ml/ha) |
| T7 | Pirimicarb 50% (100 g/ha) |

Los insecticidas se aplicaron el 23 de julio de 2018 cuando el número de pulgones por tallo estaba por encima del Umbral de Daño (20 pulgones por tallo; Aragón y Imwinkelried, 2007). Las aplicaciones se realizaron con mochila de presión constante (con una barra de 4 picos y 2 metros de ancho de trabajo). El caudal aplicado fue de 100 litros por hectárea. La presión fue de 45 kg/cm² (3 lib/pulg²). El tipo de pastilla utilizada fue cono hueco. Al momento de la aplicación las plantas estaban en estado vegetativo con una altura media de 20 cm. Las condiciones de humedad relativa, temperatura y velocidad del viento fueron de 35,7%, 12,4 °C y 16 km/h, respectivamente (Estación Meteorológica Automática de la EEA Rafaela). Los datos meteorológicos registrados durante el ensayo se presentan en la Gráfico 1.

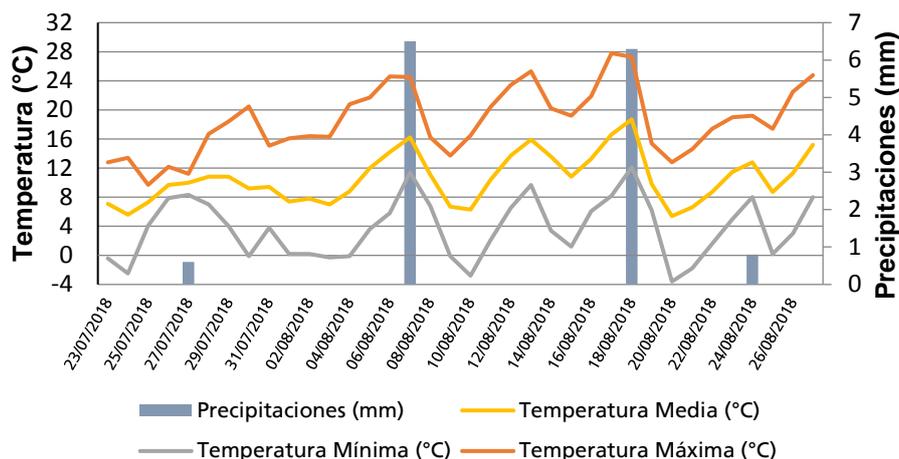


Gráfico 1. Datos meteorológicos de temperatura media, mínima y máxima (°C) y precipitaciones (mm) registrados en la Estación Meteorológica Automática de la EEA Rafaela durante el transcurso del ensayo.

En cada unidad experimental, el muestreo consistió en contabilizar el número de *A. kondoi* presentes en diez tallos de plantas de alfalfa antes de la aplicación de insecticidas y a las 24hs, 3, 7 y 14 días después de la aplicación (DDA). Además, se evaluó la producción de Materia Verde (kg/ha), Materia Seca (kg/ha) y relación hoja/tallo.

El efecto de los tratamientos se evaluó mediante Análisis de la Varianza (ANAVA) y las diferencias significativas entre tratamientos con LSD Fisher. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de los insecticidas se realizó cuando el cultivo de alfalfa tenía una altura de 20 cm y la infestación de *Acyrtosiphon kondoi* (pulgón azul) era en promedio 254 pulgones por tallo, muy por encima del Umbral de Daño. El T2 tenía una población inicial menor al resto de los tratamientos pero sin diferencias estadísticas significativas ($p=0,0611$) (Tabla 1 - Gráfico 2).

Tabla 1. Número de pulgones azul promedio en 10 tallos de plantas de alfalfa antes de realizar la aplicación para diferentes tratamientos.

| Recuento Previo | |
|-----------------|-----------------------------|
| Tratamiento | N° Pulgón azul en 10 tallos |
| T2 | 1.473 |
| T5 | 2.324 |
| T4 | 2.696 |
| T3 | 2.745 |
| T6 | 2.791 |
| T1 | 2.864 |
| T7 | 2.906 |

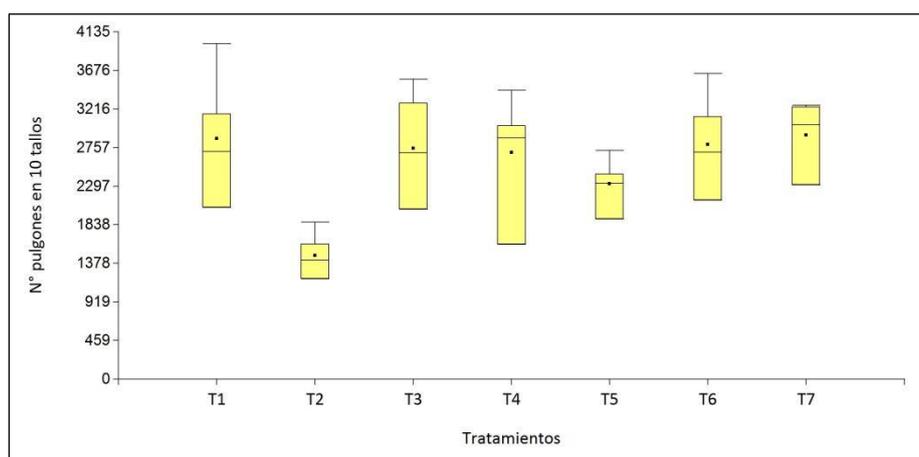


Gráfico 2. N° de pulgones en 10 tallos antes de la aplicación de insecticida en los siete tratamientos.

A las 24 hs de la intervención química (Tabla 2 - Gráfico 3) se puede observar que el T7 (pirimicarb) y el T6 (clorpirifós) disminuyeron la población en un 73% y 64%, respectivamente y diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos (P=0,0029).

Tabla 2. N° de pulgones promedio en 10 tallos para los diferentes tratamientos a las 24 hs de realizar la aplicación.

| 24 hs DA | | |
|-------------|------------------------------|-------|
| Tratamiento | N° Pulgón azul en 10 tallos* | |
| T7 | 703 | A |
| T6 | 907 | A B |
| T2 | 1.438 | A B C |
| T4 | 1.612 | B C |
| T5 | 1.926 | C D |
| T3 | 1.985 | C D |
| T1 | 2.576 | D |

*Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

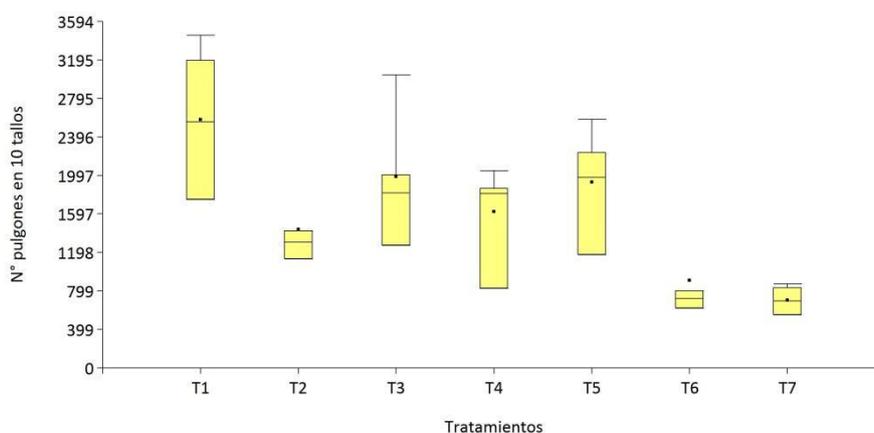


Gráfico 3. N° de pulgones en 10 tallos a las 24hs DA de insecticida en los siete tratamientos.

A los 3 DDA el T3 y T6 se diferenciaron estadísticamente ($p < 0,0001$) del T4 y T1 (Tabla 3 – Gráfico 4). A los 7 DDA los tratamientos con insecticidas se diferencias estadísticamente del testigo sin control ($p < 0,05$).

Tabla 3. N° promedio de pulgones en 10 tallos para los diferentes tratamientos a los 3 y 7 días después de realizar la aplicación (DDA).

| 3 DDA | | | 7 DDA | | |
|-------------|------------------------------|-----|-------------|------------------------------|---|
| Tratamiento | N° Pulgón azul en 10 tallos* | | Tratamiento | N° Pulgón azul en 10 tallos* | |
| T3 | 521 | A | T6 | 591 | A |
| T6 | 588 | A | T4 | 677 | A |
| T5 | 657 | A B | T5 | 690 | A |
| T2 | 697 | A B | T2 | 702 | A |
| T7 | 771 | A B | T3 | 755 | A |
| T4 | 1.193 | B | T7 | 836 | A |
| T1 | 2.242 | C | T1 | 1.890 | B |

*Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

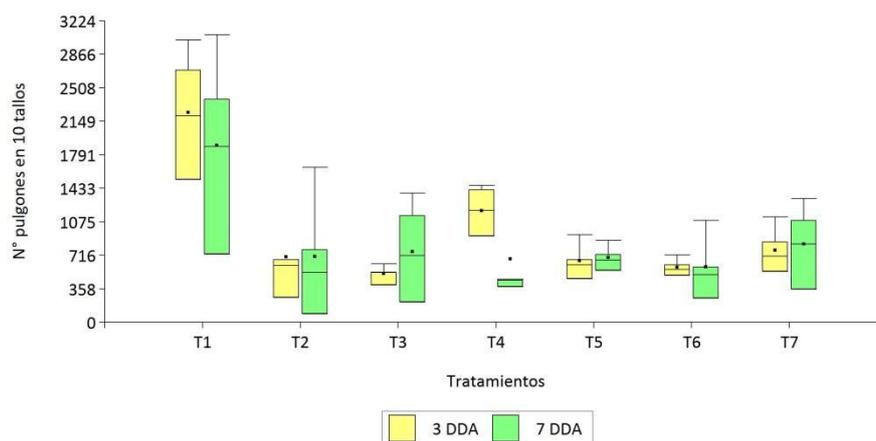


Gráfico 4. N° de pulgones en 10 tallos a los 3 (amarillo) y 7 (verde) DDA de insecticida en los siete tratamientos.

A los 14 días DDA (Gráfico 5) todos los tratamientos se encontraron con la misma densidad poblacional de pulgones (Tabla 4). La disminución de la población de *Acyrtosiphon kondoi* en el tratamiento sin control podría ser explicada por una alta presencia de pulgones infestados por hongos Entomophthorales (controladores biológicos de insectos). Se hace necesario destacar que durante el ensayo no se detectaron ni parasitoides ni depredadores de pulgones.

Tabla 4. N° de pulgones en 10 tallos para los diferentes tratamientos a los 14 después de realizar la aplicación (DDA).

| 14 DDA | | |
|-------------|------------------------------|---|
| Tratamiento | N° Pulgón azul en 10 tallos* | |
| T2 | 253 | A |
| T5 | 267 | A |
| T3 | 351 | A |
| T6 | 372 | A |
| T7 | 436 | A |
| T4 | 463 | A |
| T1 | 524 | A |

*Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

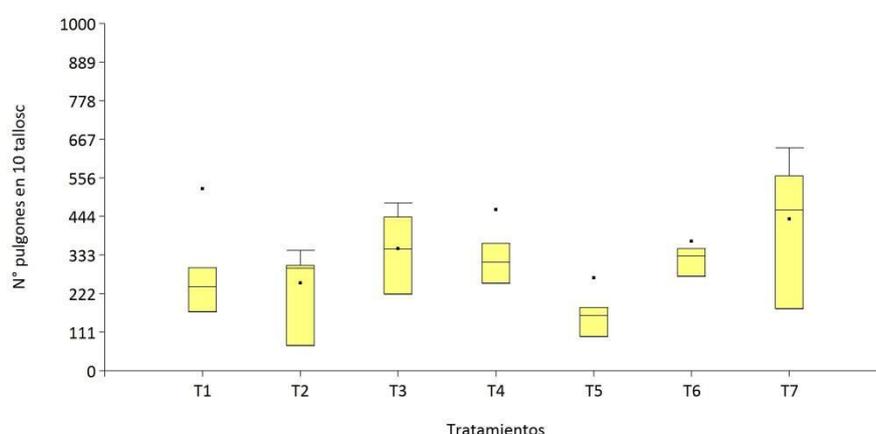


Gráfico 5. N° de pulgones en 10 tallos a las 14 DDA de insecticida en los siete tratamientos. (Rafaela, 2018).

En cuanto al rendimiento, tanto en kg de Materia Verde (MV) y Materia Seca (MS), el testigo sin control (T1) se diferenció significativamente al resto de los tratamientos, siendo el de menor producción. El tratamiento que tuvo mayor producción fue el aplicado con sulfoxaflor 50% (T5) a una dosis de 50 g/ha. Tanto con el uso de clorpirifós (T6) como de pirimicarb (T7), se obtuvieron rendimientos similares y no se diferenciaron estadísticamente entre sí, pero sí del T1 y T5. En lo que respecta a la relación hoja/tallo, no se observaron diferencias significativas (Tabla 5).

Tabla 5. Rendimiento de materia verde (kg/ha), materia seca (kg/ha) y relación hoja/tallo para los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | kg de MV/ha | kg de MS/ha | | Relación hoja/tallo | |
|-------------|-------------|-------------|-----|---------------------|---|
| T1 | 5.340 | 1.404,4 | A | 0,41 | A |
| T3 | 9.280 | 2.003,7 | B | 0,45 | A |
| T6 | 9.590 | 2.077,4 | B | 0,40 | A |
| T7 | 10.310 | 2.186,6 | B | 0,46 | A |
| T2 | 10.960 | 2.359,2 | B C | 0,46 | A |
| T4 | 11.300 | 2.365,6 | B C | 0,49 | A |
| T5 | 12.850 | 2.725,6 | C | 0,49 | A |

*Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

CONCLUSIONES

Las densidades poblacionales de *Acyrtosiphon kondoi* estuvieron muy por encima de los umbrales de tratamientos recomendados.

A las 24 horas de la intervención química con clorpirifós y pirimicarb se observó una notable disminución de las densidades de pulgón azul.

Los tratamientos realizados con sulfoxaflor fueron efectivos a los 3 y 7 días después de la aplicación, siendo la dosis de 50 g/ha la de mayor efectividad.

Se observaron diferencias significativas en el rendimiento entre el testigo sin tratar y los diversos tratamientos, obteniendo una disminución del 51 % en el testigo respecto al tratamiento de mayor rendimiento (sulfoxaflor, 50 g/ha), lo que indica una correcta protección del cultivo de los insecticidas probados.

A los 14 días después de la aplicación, se visualizó una alta densidad de pulgones infectados con hongos Entomophthorales (controladores biológicos), lo cual explicaría parte de la disminución de la población de *Acyrtosiphon kondoi* en el tratamiento sin control, lo cual afecta una correcta evaluación de los insecticidas. Se promueve la necesidad de futuros ensayos con los efectos colaterales sobre la fauna benéfica.

BIBLIOGRAFÍA

- ARAGÓN, J. Y IMWINKELRIED, J. M. 2007. Manejo integrado de plagas de la alfalfa. En: Basigalup D. H. (Ed.). El cultivo de la alfalfa en la Argentina. Ediciones INTA, Buenos Aires (AR), pp. 165-198.
- BASIGALUP, D. H. Y ROSSANIGO, R. 2007. Panorama actual de la alfalfa en la Argentina. En: Basigalup D. H. (Ed.). El cultivo de la alfalfa en la Argentina. Ediciones INTA, Buenos Aires (AR), pp. 13-26.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2012. InfoStat Versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- FRANA, J.; TROSSERO, M.; FAVA F. Y E. TRUMPER. 2018. Restating the role of Integrated Pest Management in alfalfa in Argentina. p.: 95-97. En: Proceedings of the Second World Alfalfa Congress. November 11-14, 2018. Córdoba, Argentina.
- IMWINKELRIED, J.M. Y SALTO, C.E. 1994. Biotipo del pulgón azul de la alfalfa *Acyrtosiphon kondoi* Shinji (Homoptera: Aphididae) en Argentina. Informe para Extensión 172. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. 2 p.
- IRAC. 2019. Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas. Accedido septiembre 2019 en: <https://www.irac-online.org/documents/folleto-modo-de-accion-insecticidas-y-acaricidas/?ext=pdf>
- LUNA, A. P. 1977. Diferenciación de las dos especies principales de pulgones que dañan a la alfalfa en la Argentina. Castelar, Buenos Aires (AR): INTA- Castelar. Alfalfa, Hoja Informativa 2: 1-11.
- SPARKS T. C., WATSON, G. B., LOSO, M. R., GENG, C., BABCOCK, J. M. Y THOMAS, J. D. 2013. Sulfoxaflor and the sulfoximine insecticides: Chemistry, mode of action and basis for efficacy on resistant insects. Pesticides Biochemistry and Physiology 107 (2013) 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.05.014>

LAS LEGUMINOSAS FORRAJERAS, INDISPENSABLES PARA EL GANADO DEL MAÑANA¹

Delaby, L.¹; Pavie, J.²; McCarthy, B.³; Comeron, E.A.⁵; Peyraud, J.L.¹

¹ INRA - AgroCampus Ouest, UMR 1348, Physiologie, Environnement, *luc.delaby@rennes.inra.fr*

² Institut de l'Élevage, route d'Epinay, F-14310 Villers Bocage.

³ Teagasc, Animal & Grassland Research and Innovation Centre, Ireland.

⁴ INTA EEA Rafaela (Santa Fe, Argentina).

RESUMEN

La globalización y los cambios de contexto que la misma induce, obligan a efectuar una revisión de la oportunidad y el lugar que ocupan las leguminosas en los sistemas de producción. La historia agronómica de las leguminosas ha sido controvertida. Siendo esenciales para la sostenibilidad de los sistemas, las leguminosas fueron progresivamente desplazadas en Europa en cuanto a sus roles y superficie ocupada como consecuencia de la intensificación basada en la química y la especialización de las producciones. Mientras que en algunas regiones de América del Sur (en especial, Argentina), la alfalfa en pastoreo (acompañada normalmente por forrajes conservados y concentrados) se constituye en un alimento importante de los sistemas de producción de leche. Las leguminosas se destacan por la fijación simbiótica, la transferencia de fertilidad y la riqueza en proteínas. Estas fortalezas tienen consecuencias agronómicas y zootécnicas en todos los niveles, desde la parcela hasta la explotación desde la rotación hasta la alimentación del ganado. A pesar de los requisitos y las debilidades que justifican prácticas bien adaptadas, las leguminosas permiten fortalecer la autonomía de los sistemas ganaderos y también, según el contexto de los precios de los insumos, la rentabilidad de las explotaciones. El desarrollo futuro de las leguminosas parece depender de sus ventajas medioambientales y requiere una política sostenible y voluntaria para aumentar y mantener su presencia en los sistemas ganaderos.

La 68ª sesión de la Asamblea General de las Naciones Unidas (ONU, 2014) declaró el 2016 como el Año Internacional de las Leguminosas y confió a la FAO el establecimiento de esta amplia ambición. En Francia, en el marco del proyecto "Produisons Autrement", S. Le Foll, Ministro de Agricultura, lanzó el Plan de proteínas vegetales 2014-2020. Estos hechos marcan la importancia que estas plantas tienen a nivel mundial para el futuro del planeta.

La motivación en torno a las leguminosas no es nueva, pero parece intensificarse. En Francia, la AFFF lleva a cabo, cada 10 años, la realización de jornadas de estudios y de investigación en el tema.

Además se destacan los trabajos publicados en la revista francesa Fourrages : en el año 1993 sobre la temática "nuevas perspectivas para las leguminosas forrajeras", en 2003 con "la investigación de los nuevos equilibrios entre forrajes, proteínas y ambiente", sin olvidar las Jornadas AFFF históricas de 1983 consagradas al "trébol blanco" (*Trifolium repens*).

¹ Artículo presentado en Jornadas AFFF (Association Française pour la Production Fourragère) titulado "**Les légumineuses fourragères et prairiales. Quoi de neuf?**" Paris (Francia) Marzo de 2016 (Versión adaptada y resumida del artículo original).

Varias publicaciones recientes resaltan las virtudes de las leguminosas. Se pueden citar por ejemplo: la revista *Agronomic Innovations Journal*, que consagró en 2010 un volumen completo sobre el tema "Leguminosas y agricultura sostenible"; las revisiones bibliográficas de Rochon et al en 2004, Lüscher et al en 2014, Phelan et al en 2015, la cual propone una síntesis del trabajo asociado con las leguminosas forrajeras. Finalmente, el libro coordinado por Schneider y Huyghe (2015) cuyo título "Leguminosas para sistemas agrícolas y alimentarios sostenible" refleja las expectativas y las perspectivas asociadas a la renovación de las leguminosas.

Los planes de estímulo nacionales o europeos para la producción de proteínas vegetales han florecido desde la década de 1970 y durante la primera crisis petrolera, estando las leguminosas forrajeras involucradas. En general, estos planes han generado reacciones positivas durante su duración, pero nunca han tenido el éxito deseado (CGDD, 2009). La globalización y el cambio estructural de contexto de la década de 2000 están modificando el juego, y cambiando las ambiciones, especialmente las relacionadas con "cómo producir más y cómo producir mejor". Los riesgos asociados con el desarrollo de las leguminosas se han vuelto considerables, multifacéticos y a diferentes escalas, desde el planeta hasta la explotación.

El aumento de la población mundial ya efectiva y pronosticada, combinado con el creciente poder adquisitivo de los países emergentes con una alta densidad de población, está ejerciendo una presión muy significativa sobre la demanda mundial de alimentos, particularmente la demanda de proteínas vegetales y animales. Las consecuencias ambientales asociadas con el desarrollo agrícola pasado han creado conciencia sobre el importante papel negativo del nitrógeno (N) mal valorado. Los conceptos de agroecología, que emergen como una alternativa a la intensificación por la química, alientan a reconsiderar cómo producir, gracias en particular a las leguminosas (Peoples et al, 1995, Guillou et al, 2013). Finalmente, la creciente competencia en los mercados mundiales y las fluctuaciones en los precios de las harinas "proteolaginosas" están socavando la economía ganadera y la serenidad de los agricultores. Frente a esta situación, el tema "leguminosas" vuelve a valorizarse como una alternativa para reducir la dependencia de Europa, consecuencia histórica de los acuerdos internacionales y la política agrícola común, y para mejorar la resiliencia de las explotaciones a través de una mayor autonomía proteica.

Por lo tanto, las leguminosas y su posible desarrollo futuro aparecen como una oportunidad sostenible para la agricultura y el mundo del mañana. El propósito de este artículo introductorio a las Jornadas AFPF 2016 consiste en exponer sus fortalezas, cualidades y debilidades en el contexto de hoy, con algunos ejemplos de su integración en la escala de los sistemas de producción de leche de Francia, Irlanda y Argentina. Las fortalezas y los límites ambientales asociados a la presencia y el uso de leguminosas solo se mencionarán en este artículo, siendo objeto de una síntesis más completa abordada por Cellier et al (2016).

1.- El lugar de las leguminosas en los sistemas forrajeros: una historia agronómica controvertida.

En Europa, las leguminosas forrajeras cultivadas puras o asociadas han sido durante mucho tiempo un componente esencial de la productividad y el mantenimiento de la fertilidad en los sistemas de policultivo. **La Revolución forrajera** comenzó en los años 60 pero **rápidamente se ha visto reducida su contribución**. Se considera que hay dos razones principales que incidieron en el declive gradual de las leguminosas en los sistemas ganaderos. Por un lado, se constata la abundancia de fertilizantes minerales de nitrógeno, de bajo costo y efectos espectaculares, que ha fomentado el desarrollo de pastizales mono-específicos de gramíneas productivas. Por el otro, irrumpe el ensilado de maíz con un paquete tecnológico de simple ejecución y cada vez mejor ejecutado, con una cosecha única y una calidad de conservación garantizada, obteniendo una alta productividad energética por superficie y una perfecta complementariedad con la harina de soja (subproducto de uso habitual en Francia). La intensificación y

especialización que siguió a esta situación dio lugar a la simplificación de los sistemas, de los cuales las leguminosas no se vieron favorecidas.

La evolución de la superficie cultivada con leguminosas presentadas en la Figura 1 es el reflejo perfecto de esta situación. Actualmente sólo quedan 365.000 hectáreas de cultivos puros, en comparación con 3,3 millones de hectáreas (17% de la tierra cultivable) a principios de la década de 1960 (CGDD, 2009). El destino de las leguminosas asociadas a las gramíneas no ha sido mucho mejor, aunque no hay estadísticas para evaluar con precisión su evolución. Sólo la alfalfa parece ser más resistente, fundamentalmente relacionado con la producción de deshidratados, especialmente en la región de Champagne.

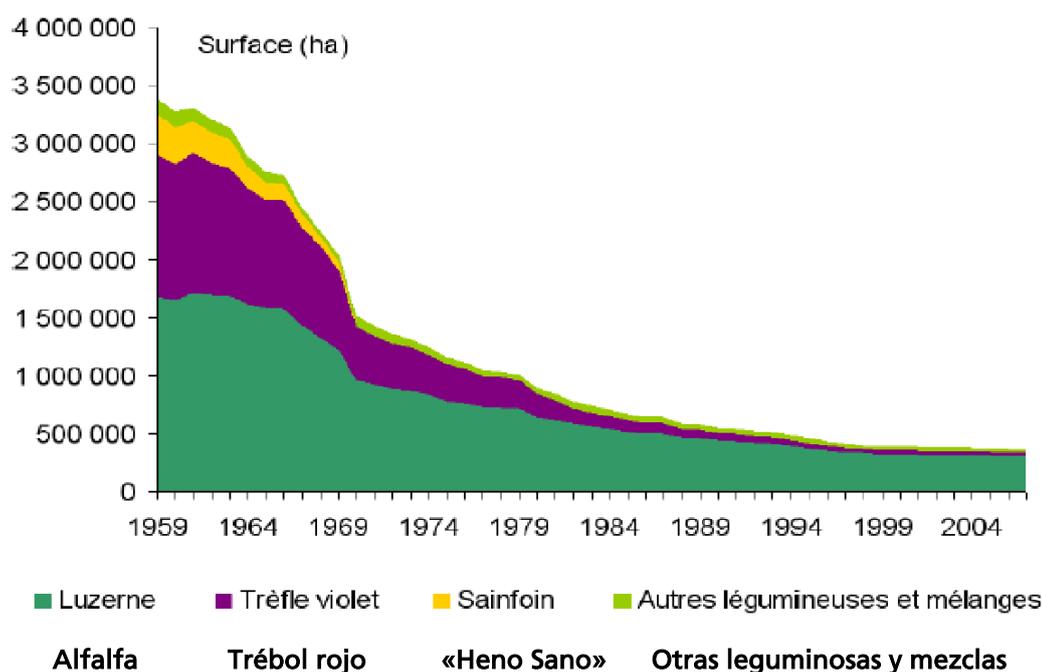


Figura 1. Evolución de las superficies cultivadas (surface) con leguminosas puras (CGDD, 2009, según datos de Agreste)

En Francia, a partir de la década de 1980, la influencia de un agricultor bretón (oriundo de la Bretagne, Francia) y la publicación de su libro "La pradera temporal basada en trébol blanco" (Pochon, 1981, 5a edición 2012) cambiaron la visión de esa leguminosa. Para Pochon, se trata de beneficiarse con la fijación simbiótica para producir más, pero a un menor costo. La asociación «gramíneas + trébol blanco» fueron el objeto de una serie de trabajos de investigación (AFPF, 1983; Pflimlin, 1993) y de acciones de difusión (ITEB-EDE de Bretagne, 1987), para gradualmente recuperar un lugar importante en los pastizales temporarios (Agreste, 2006).

En la década de 1980, en América del Sur y especialmente en Argentina, el desarrollo de la producción láctea se basó marcadamente en el cultivo y el uso de la alfalfa. Aquí, también, las motivaciones de los agricultores se asocian con menores costos de producción, una moderada intensificación y sobre todo una mayor seguridad del sistema forrajero.

Los años 2000 se caracterizaron en Europa por el abandono gradual de las normas de protección (precios garantizados, cuotas de leche en 2015) y la apertura al mercado mundial. Al mismo tiempo, la conciencia del impacto ambiental negativo de los excesos de la actividad humana, tanto global, con el calentamiento climático, como local (por ejemplo, la erosión de la biodiversidad, la proliferación de algas verdes, los efectos de los pesticidas), da una nueva «cita» a las leguminosas. Más allá de sus intereses

agronómicos y zootécnicos, se destacan sus activos ambientales (Thiébau et al, 2003) y su rol central respecto a los conceptos agroecológicos, están bien identificados. También se destaca el interés económico asociado con la fijación simbiótica y su alto contenido de proteínas. Incluso la lechería de Irlanda y su sistema forrajero basado en las pasturas de rye grass inglés fertilizado, descubre el interés del trébol blanco (Humphreys et al, 2009), al desarrollar desde 2010 un programa de investigación para integrar a estas leguminosas a los itinerarios técnicos del pastoreo intensivo.

En Francia, más allá de las pasturas asociadas «gramínea + trébol blanco» que ahora están bien integradas por los productores, especialmente en la zona oceánica (Le Gall y Guernion, 2004), se proponen pasturas multiespecíficas como alternativas, especialmente en ambientes menos favorables, más secos (Fustec et al, 2008). Las leguminosas como el «sainfoin» (Forel y Manteaux, 2013), la arveja, el lotus corniculatus, observan con marcado interés el valor alcanzado de sus especificidades. Según datos publicados por Agreste en 2006, casi el 70% de los pastizales temporarios plantados son mezclas de gramíneas y leguminosas (Huyghe y Delaby, 2013). Si bien estos desarrollos son limitados, marcan claramente un **punto de inflexión en la conciencia de las posibilidades que ofrecen las leguminosas**. Los sistemas de agricultura orgánica (AB), ahora reconocidos como alternativas creíbles y alentadas (los volúmenes de leche producida aumentaron de 120.000 a más de 500.000 toneladas en 10 años - CNIEL, 2015), son sin duda los que más interés tienen en las leguminosas. La prohibición del uso de fertilizantes nitrogenados, incluida en las especificaciones AB, estimula las innovaciones para optimizar el papel de las leguminosas, que desempeñan un papel central en el manejo sostenible del suelo, los sistemas de cultivo y la alimentación para los animales.

Finalmente, según las estimaciones de Schneider et al (2015), las leguminosas forrajeras en Francia representan alrededor de 1,700,000 hectáreas equivalentes de cultivos puros, es decir, 10 y 20% de leguminosas, respectivamente en pastizales permanentes y temporarios.

Con altibajos, la intensificación de la lechería argentina continúa, estando la alfalfa asociada con el maíz (o sorgo según los riesgos climáticos) en los sistemas productivos (Comeron y Romero, 2007). En efecto, utilizada sola (hasta el 90% de la dieta consumida), la alfalfa tiene límites nutricionales asociados con el desequilibrio de energía / nitrógeno y el riesgo significativo de meteorismo. Las rotaciones evolucionan hacia un sistema simple, basado en 3 años de alfalfa en pastoreo, seguido de 2 años de sorgo / maíz o maíz / maíz utilizado en ensilaje. Como resultado, se ha logrado una mayor estabilidad estacional e interanual en la producción de forraje y de leche. Este sistema forrajero ha permitido aumentar la carga animal y ha mantenido una alta estabilidad en los componentes de la ración. La ingesta de concentrados también está aumentando, así como las inversiones en equipos e instalaciones, para el suministro integrado de alimentos (ensilaje, heno y concentrados). Esta situación ha evolucionado en detrimento de la participación de la alfalfa en las rotaciones, aunque a favor de una alimentación más balanceada pero que conlleva a un incremento del costo. Sin embargo, en Argentina, alrededor de 4 millones de hectáreas de alfalfa permanecen en 38 millones de hectáreas bajo cultivo.

Estas nuevas opiniones sobre las leguminosas y estas tendencias más equilibradas en su uso, tanto en Europa como en América del Sur, parecen indicar un renovado atractivo y, especialmente, una mejor consideración de los potenciales, las fortalezas y las limitaciones de las leguminosas forrajeras en los sistemas agrícolas de producción de rumiantes.

2.- Utilizar cada vez más y mejor el potencial agronómico y zootécnico de las leguminosas forrajeras.

Numerosos estudios han puesto en evidencia las interesantes especificidades agronómicas y zootécnicas de las leguminosas. Este trabajo se refiere principalmente al guisante proteaginoso para las leguminosas de semillas, y la alfalfa y el trébol blanco para las leguminosas forrajeras (Schneider y Huyghe, 2015). Estas especificidades les confieren ventajas con argumentos a favor de su uso en sistemas de cría de rumiantes.

Desde un punto de vista agro fisiológico, las ventajas/fortalezas de las leguminosas se pueden resumir en tres puntos clave: fijación simbiótica, transferencia de fertilidad y riqueza de proteínas. Gracias a la introducción de las leguminosas en las rotaciones, la valorización agronómica de estas tres "habilidades" tendrá importantes consecuencias en la productividad y la eficiencia de los sistemas, en sus impactos ambientales y finalmente en la economía de la explotación y el sector agrícola. Sin embargo, estas plantas también tienen exigencias/requisitos, e importantes fragilidades que deben conocerse para satisfacerlas correctamente, evitando favorecer las condicionantes de su expresión. Las condiciones pedoclimáticas asociadas con el medio ambiente y las prácticas de producción y explotación de las leguminosas influirán en gran medida en su oportunidad y su contribución a las rotaciones.

● **La fijación simbiótica: un fenómeno biológico natural esencial**

La capacidad de fijación biológica del nitrógeno (BNF) de las leguminosas se basa en nódulos de raíces compuestos por bacterias que viven en simbiosis con la planta. La enorme ventaja agronómica asociada con esta simbiosis es que las leguminosas pueden desarrollar un recurso natural, libre e inagotable que es el nitrógeno atmosférico y, por lo tanto, producir en ausencia de fertilización con nitrógeno mineral. Con esta capacidad, las leguminosas pueden establecerse y desarrollar entornos donde falta nitrógeno disponible en el suelo. Para promover el desarrollo de leguminosas en cultivo puro o asociado, tratara entonces de favorecer las condiciones óptimas de instalación de estas nodosidades y el funcionamiento de esta simbiosis.

Sin embargo, las leguminosas también pueden establecerse y crecer en entornos más favorables. Su capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico no es exclusiva y saben cómo aprovechar el nitrógeno mineral disponible en el suelo, ya sea derivado de la mineralización de nitrógeno orgánico o de la fertilización mineral. Cuanto más nitrógeno mineral este disponible, más se benefician las leguminosas y menos fijan el nitrógeno atmosférico. La proporción de nitrógeno fijado puede variar localmente de 90% a menos de 20% dependiendo de la disponibilidad de nitrógeno mineral (Liu et al, 2011, Vertès et al, 1997).

De acuerdo con los supuestos plausibles descriptos en el Cuadro 1, la cantidad de nitrógeno fijado anualmente es muy variable y será significativamente mayor para un cultivo de alfalfa puro (275 a 435 kg) que para un trébol blanco asociado con una gramínea (90 a 160 kg).

Cuadro 1. Cantidad de nitrógeno atmosférico fijado por la alfalfa o la asociación raigrás inglés y trébol blanco (RGA-TB) según el rendimiento y la tasa de fijación variable con el nitrógeno mineral disponible.

| | Alfalfa | | | | Asociación. RGA-TB | | | |
|------------------------------|---------|-----|-----|-----|--------------------|-----|-----|-----|
| Rendimiento (t MS cosechada) | 10 | 10 | 14 | 14 | 7 | 7 | 11 | 11 |
| Tasa de fijación (%) | 80 | 90 | 80 | 90 | 70 | 80 | 70 | 80 |
| N fijado (kg/ha) | 276 | 311 | 387 | 435 | 90 | 103 | 141 | 161 |

Admitiendo: 1) tenor en MAT (N) de 180 (28,8) et 220 (35,2) g/kg MS para la alfalfa y el trébol blanco, 2) un tenor en TB de 40% et 3) un coeficiente de pasaje entre cosecha y la planta entera (incluye raíces) de 1,2 y 1,3 respectivamente para la alfalfa y el trébol blanco.

Desde un punto de vista ambiental y los riesgos de pérdida de nitrógeno, es importante considerar esta autorregulación de la fijación simbiótica porque naturalmente limitará los riesgos de excedentes vinculados al aporte exógeno de nitrógeno. Por otro lado, la fijación simbiótica es efectiva y eficiente solo cuando las condiciones ambientales (humedad, temperatura, pH,...) son favorables, condiciones que van de la mano con el crecimiento aéreo y radicular de la leguminosa. Por lo tanto, el nitrógeno atmosférico fijado es, como su nombre lo indica, fijado en el momento oportuno. Finalmente, este nitrógeno está en forma orgánica e integrado en los órganos de la planta, lo que lo hace mucho

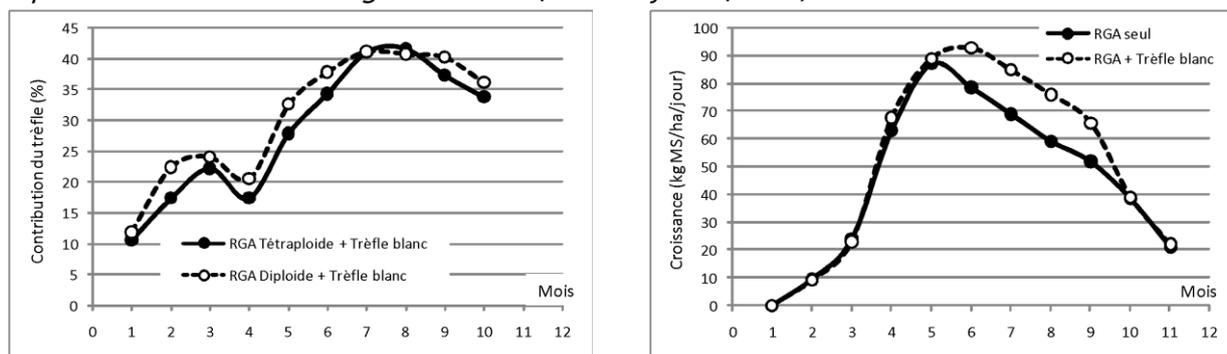
menos "reactivo" que el nitrógeno mineral y limita el riesgo de pérdidas por emisiones gaseosas o lixiviación.

El caso de las **asociaciones de gramíneas y leguminosas** es un poco peculiar, dada la posible competencia por el nitrógeno mineral disponible. Así, por ejemplo, a menudo se discute la capacidad del trébol blanco para cohabitar con la gramínea en presencia de nitrógeno mineral en pastizales mezclas (Simón et al, 1997, Phelan et al, 2015). La leguminosa, que sella la unión simbiótica, es menos competitiva que las gramíneas para eliminar el nitrógeno mineral del suelo. La contribución y durabilidad del trébol blanco se vuelve sensible a la competencia de las gramíneas las que se hacen más agresivas gracias al nitrógeno mineral disponible. Como suele ser el caso en biología, este fenómeno no es absoluto. Existen muchas interacciones entre la fertilidad del suelo, el clima y las prácticas (Nyfeler et al, 2009) para modular la contribución de las plantas asociadas con la producción de pastizales. Como señalaron Simon et al (1997), el éxito de la convivencia dependerá de la capacidad del medio ambiente para satisfacer la demanda de nitrógeno de la gramínea contra la demanda asociada a su potencial de crecimiento, la cual dependerá de las condiciones climáticas.

Los resultados recientemente obtenidos en Irlanda (McCarthy et al, 2016, Egan, 2015) parecen confirmar que en un suelo, clima y ambiente favorables, el trébol blanco también puede ayudar a aumentar la productividad de la pradera (Figura 2). La investigación que se lleva a cabo actualmente en Irlanda no prevé la introducción del trébol blanco como una posible fuente de fertilizante mineral y mantener una fertilización nitrogenada sustancial, entre 150 y 250 kg de mineral N en pastoreo. A partir de junio, cuando la proporción de trébol blanco se vuelve significativa (> 25%), la asociación de pastizales se caracteriza por un crecimiento diario de 10-15 kg de MS / día / ha en comparación con el rye grass. Inglés solamente, hasta el mes de octubre. La producción anual de biomasa acumulada es de aproximadamente 2 toneladas de MS/ha más alta (McCarthy et al, 2016) en la pradera RGA-TB.

En la mayoría de las situaciones, independientemente de la fertilización nitrogenada aplicada y la riqueza del medio ambiente, **los pastizales de asociaciones multiespecíficos con leguminosas han demostrado su superioridad en la producción de biomasa** (Lüscher et al., 2014; Nyfeler et al., 2011) **gracias, entre otras cosas, a la dualidad de las leguminosas frente al nitrógeno.**

Figura 2. Contribución mensual del trébol blanco a la biomasa y su influencia en el crecimiento diario de una pradera fertilizada a 250 kg N / ha / año (McCarthy et al, 2016).



Siempre que sea posible, e incluso recomendable en el caso del cultivo de alfalfa pura o trébol rojo, no es necesario suspender la fertilización mineral u orgánica en los pastizales asociados. Sin embargo, el deseo de introducir y beneficiarse de la presencia de leguminosas en los pastizales justifica limitar la fertilización exógena, a fin de estimular la fijación simbiótica y promover el desarrollo de estas leguminosas, con el fin de obtener una contribución anual a la biomasa del 30 al 40%. Se trata entonces

de posicionar estos aportes de nitrógeno exógeno en el momento apropiado, para que sean lo más efectivos posibles, sin afectar el mantenimiento de las leguminosas.

• **Las leguminosas: plantas altruistas, al servicio de la agronomía.**

La entrada de nitrógeno asociada con la fijación simbiótica desempeñará un papel importante en la fertilidad y el mantenimiento del suelo. De hecho, las leguminosas enriquecerán el medio ambiente y proporcionarán una parte del nitrógeno fijado de dos maneras diferentes a lo largo del tiempo. **La transferencia de nitrógeno puede tener lugar durante la fase productiva en beneficio de las gramíneas o cereales asociados, y durante la rotación de cultivos, después de la destrucción de las leguminosas**, en beneficio de los cultivos posteriores. Por lo tanto, los cultivos leguminosos a menudo se colocan en la cabeza de rotación. Las vías de transferencia son diferentes según el momento en cuestión, y también según la conducta de las praderas (en pastoreo o con corte de manera exclusiva).

En el **caso de cultivos anuales**, cuando ellas están asociadas, las leguminosas transfieren poco nitrógeno directamente a la planta asociada, excepto de los exudados de las raíces y durante la senescencia de las mismas, que permanece modesta durante la fase de cultivo (Louarn et al, 2010). El efecto de "heterosis" observado en las asociaciones en comparación con el promedio de los dos cultivos anuales puros se debe principalmente a una complementariedad entre gramíneas y leguminosas con respecto a las dos fuentes de nitrógeno, la mineral y la atmosférica. Las gramíneas se benefician del nitrógeno mineral que "no usa" la leguminosa la cual aprovechan el nitrógeno atmosférico, especialmente porque la disponibilidad de nitrógeno mineral es limitante.

En el caso de las pasturas de asociación, **la transferencia de nitrógeno es más importante en la medida en que el cultivo permanece en su lugar durante varios años**, con un mayor fenómeno de mortalidad / renovación de plantas, especialmente en el caso de una marcada sequía de verano. seguido a menudo por un retorno de lluvia favorable a la mineralización de este nitrógeno orgánico. **Las cantidades de nitrógeno transferidas**, por supuesto, diferirán según los contextos, y en particular según las especies de leguminosas implantadas (son **más elevados en el trébol blanco que en la alfalfa**. Louarn et al, 2015). Por otro lado, **la presencia del animal**, que en muchas explotaciones mejora la pradera por el pastoreo, **agregará una vía de transferencia inmediata** y desempeñará un papel importante en la expresión de la complementariedad entre gramíneas y leguminosas. La proporción de nitrógeno excretado por vía urinaria y fecal representa entre 70 y 95% del nitrógeno ingerido (Delaby et al, 2014). En consecuencia, las restituciones del pastoreo contribuyen al reciclaje de nitrógeno y, por lo tanto, al reciclaje de nitrógeno fijado por las leguminosas. Teniendo en cuenta las restituciones localizadas, una parte del nitrógeno urinario está en exceso y no se podrá reciclar inmediatamente ni de manera integral. En praderas pastoreadas, la proporción de este reciclaje asociado con el animal en las transferencias totales permitidas por la presencia de leguminosas es bastante variable, en particular de acuerdo con el número de días de pastoreo realizados. Utilizando una metodología compleja, Ledgard et al. (1991) estimaron que de una transferencia total fija de N de 130 kg entre el trébol blanco y el rye grass perenne, el 46% se originó a partir de restituciones de animales. La presencia del animal, por lo tanto, amplificará y acelerará la transferencia de nitrógeno fijado de la leguminosa a la gramínea.

Después de la cosecha y/o de la destrucción del cultivo conteniendo leguminosas, los **efectos residuales** ligados a la liberación del nitrógeno son consecuentes. Ellos **dependen de la biomasa residual** (raíces, partes aéreas no cosechadas) **y de su rapidez de degradación**. El tenor en proteínas elevados de los diferentes componentes de la planta restituida en el suelo explica esas transferencias de nitrógeno importantes. Esos efectos residuales van a beneficiar al cultivo siguiente ya sea en términos de rendimiento como de tenor en nitrógeno del producto cosechado. Después de un cultivo de guisantes, el trigo o la canola (colza) pueden beneficiarse de esto (Voisin et al, 2015), al igual que los cereales plantados detrás de un cultivo de alfalfa (Fiorelli, comunicación personal) o cebada después de una pradera de RGA-TB (Evans et al, 1992). Luego de una pradera rica en leguminosas, las cantidades

liberadas de nitrógeno pueden ser muy grandes y justificar las reducciones de fertilización recomendadas para cultivos posteriores. Desde un punto de vista agronómico, este efecto posterior de las plantas leguminosas es extremadamente interesante a nivel del sistema, siempre que el período de destrucción del dosel, el tipo de cultivo sembrado posteriormente y, sobre todo, para limitar o incluso eliminar la fertilización nitrogenada (Vertès et al, 2015). A pesar de esto, después de una cosecha de maíz en particular, las pérdidas de nitrógeno por lixiviación a menudo aumentan en el otoño siguiente. Se están realizando investigaciones para optimizar esta valorización, pero la predicción de la mineralización de estos residuos y, por lo tanto, de la disponibilidad de este nitrógeno, que debe permitir reducir la fertilización mineral, sigue siendo una gran dificultad.

A nivel de una rotación, las leguminosas (ya sean semillas o forrajes), también proporcionarán **otros servicios agronómicos**. Se puede citar su influencia en la mejora de la estructura del suelo, gracias en parte a su «raíz en pivot» y también al enriquecimiento de la materia orgánica. Su introducción en las rotaciones también tiene un efecto de diversificación vegetativa que crea interrupciones en el tiempo (alargamiento de las rotaciones) y el espacio (mosaico cultural), y es favorable a la lucha contra las malezas. Sin embargo, estas leguminosas también conllevan sus propios riesgos y, de hecho, su lugar en las rotaciones y su frecuencia de retorno en las mismas deben ser razonadas y razonables. Finalmente, también contribuyen a aumentar la biodiversidad de las plantas y sus flores promueven la presencia y la vida de los insectos polinizadores. Cuando se introducen en cultivos intercalados (encubiertos) o bajo cubierta, las legumbres desempeñarán un papel importante en la cubierta del suelo, limitando así el riesgo de erosión en algunas áreas. Además del hecho de que se pueden cosechar y proporcionar forraje complementario, su destrucción al final del invierno tendrá efectos de "mulch" o interesantes abonos verdes.

En los sistemas de agricultura orgánica, como en los llamados sistemas de "bajo aporte", la liberación de nitrógeno después de los cultivos de leguminosas es vital para el sistema y su sostenibilidad. Esta es también una de las justificaciones para su introducción consistente en términos de superficies en las rotaciones. Esta forma de agricultura, que se basa principalmente en la biología, también es muy sensible a los otros beneficios agronómicos de las leguminosas descritas anteriormente. Algunos agricultores (Faidherbe, 2007), a veces después de un largo aprendizaje, han dominado el arte de combinar las diversas leguminosas anuales, perennes, de semillas o de forraje para lograr rotaciones largas y rotaciones muy diversas, a veces bastante complejas pero totalmente justificado en el contexto de estas especificaciones.

● **Las leguminosas: una fuente de proteínas para el ganado**

El interés nutricional de las leguminosas radica principalmente en su alto contenido de proteínas para la alimentación de los rumiantes. Entre las leguminosas de grano, el guisante de proteína (aproximadamente 1.15 UFL y 100 g de PDIE / kg) no es más que un concentrado de producción equilibrado (Hoden et al, 1992). Como en el caso del guisante, el uso de habas o de lupines, que son más ricos en MAT y nitrógeno degradable, ayudará a corregir los forrajes pobres en MAT y mejorar su digestibilidad al aumentar la disponibilidad de nitrógeno soluble en el rumen. Estas semillas leguminosas también se pueden combinar entre sí y proporcionar, en forma de heno y cosechado antes del verano, un forraje equilibrado. Los experimentos realizados en AB como parte del proyecto "Reine Mathilde" en Normandía, especialmente la mezcla de guisantes y frijoles, muestran posibilidades interesantes. En las leguminosas forrajeras, este alto contenido de proteínas (de 160 a 280 g de MAT / kg de MS), que varía según la especie, sus métodos de recolección y conservación (INRA, 2007), les confiere un papel esencial en el equilibrio de las raciones y la autosuficiencia alimentaria de los sistemas ganaderos. Asociados con otros forrajes bastante ricos en energía, permitirán limitar las compras de harina de oleaginosas y realizar ahorros sustanciales. De hecho, si las granjas de rumiantes, que primero consumen forraje, se caracterizan por un alto grado de autonomía en la EM (> 90%), la autonomía en las proteínas

es significativamente menor (Devun et al, 2013) y crea una dependencia perjudicial a la salud que incrementa la sensibilidad de las explotaciones a los vaivenes económicos. Asociados con otros forrajes bastante ricos en energía, permitirán limitar las compras de harina de oleaginosas y realizar ahorros sustanciales. De hecho, si las granjas de rumiantes, que primero consumen forraje, se caracterizan por un alto grado de autonomía en la EM (> 90%), la autonomía en las proteínas es significativamente menor (Devun et al, 2013) y crea una dependencia perjudicial a la salud económica de las explotaciones.

Al respecto, el **ejemplo de Argentina** resulta interesante. El sistema de alimentación propuesto por INTA a una gran mayoría de productores lecheros (Comeron et al, 2006a y 2006b - Tabla 2) se basa en raciones que combinan 40-50% de alfalfa en pastoreo, 20-25% de ensilaje de maíz o sorgo, 10% de heno y 20-30% de concentrado para la producción de leche de 5,000 a 6,000 kg y de 7,000 a 8,000 kg de leche, respectivamente, en vacas Jersey o Holstein con una carga total de 1,7 a 2,0 vacas por hectárea. La complementariedad de energía / nitrógeno entre los dos forrajes reduce el uso de concentrado de proteínas (en particular, la soya que, aunque se produce en Argentina, se destina a la exportación) y constituye la base simple pero efectiva del sistema de alimentación y, en general, del sistema forrajero.

Cuadro 2. *Ingestión y producción lechera de vacas Jersey y Holstein, a escala de lactancia, en un sistema de alimentación basado en el pastoreo de alfalfa y la suplementación de forraje conservado (ensilaje de maíz y heno) y concentrado (Comeron et al, 2006a et b).*

| | Jersey | Holstein |
|--|-----------|-----------|
| Alimentación (kg MS total durante la lactancia) | | |
| Alfalfa pastoreada | 1846 | 2476 |
| Ensilaje de maíz | 598 | 794 |
| Heno | 437 | 550 |
| Semilla de algodón | 221 | 294 |
| Concentrado de producción | 1186 | 1577 |
| Producción y composición de leche | | |
| Leche (kg /día) | 19,7 | 27,9 |
| Leche total (kg – 290 días) | 5720 | 8090 |
| Tasa butirosa (%) –M,Grasa (g) | 4,7 / 885 | 3,2 / 853 |
| Tasa protéica (%)–M.Proteica(g) | 3,9 / 723 | 3,4 / 896 |

En Francia, el complemento de una ración de base de ensilaje de maíz con alfalfa deshidratada de calidad (> 18% MAT a una tasa de 3 a 5 kg por día - Peyraud y Delaby, 1994) o conservado por vía húmeda (representando el 50% del forraje - Rouillé et al, 2016) ahorra entre 1,0 y 2,0 kg de torta. Pero la alfalfa es una planta cuyo interés por los rumiantes exigentes se ve parcialmente alterada por el tallo (rico en paredes), cuya digestibilidad y valor energético son bajos. La idea de cosechar y almacenar hojas y tallos por separado, como en el caso de los cereales, granos y paja, parece atractiva y podría hacerse realidad, una vez que se resuelvan los problemas tecnológicos, gracias al proyecto Mas-sai desarrollado por la sociedad Trust'ing (Juncker, 2016).

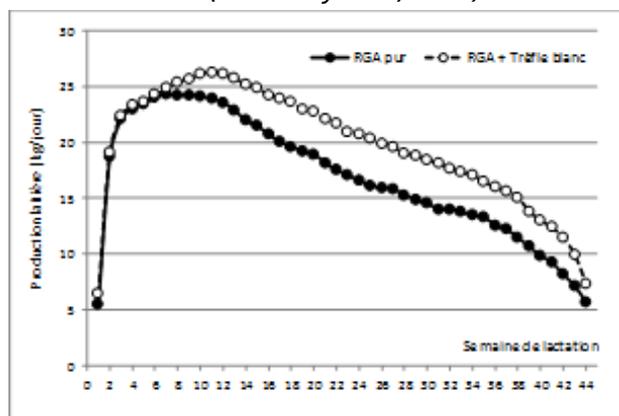
Las leguminosas también se caracterizan por tener una ingestibilidad y consumo *ad libitum* más elevados que las gramíneas. En el trébol blanco se adiciona además una mejor digestibilidad asociada con la ausencia de tallos y vainas, que le confiere una excelente estabilidad de su valor alimenticio, en

particular su digestibilidad, durante la fase de crecimiento. En condiciones de pastoreo, en comparación con un RGA fertilizado puro, esta característica, que también es favorable a la ingestión, será aún más pronunciada a medida que la edad de rebrote se prolongue (Ribeiro-Filho et al, 2003) y la proporción de trébol aumente. En términos de manejo del pastoreo, las asociaciones gramíneas-trébol se harán más flexibles. Por lo tanto, tolerarán una mayor edad de rebrote, lo cual es interesante para aumentar la biomasa producida durante una reducción en la fertilización nitrogenada (McDonagh et al, 2015 - Cuadro 3). Finalmente, estas características nutricionales del trébol blanco permiten un mejor rendimiento lechero, como se demostró nuevamente a nivel de lactancia completa (+800 kg de leche y +55 kg de Materia Util), en el trabajo reciente de McCarthy et al (2016) en Irlanda (Figura 3).

Cuadro 3. Influencia de la fertilización nitrogenada y de la edad de rebrote sobre la producción y la repartición de la biomasa anual de una pastura de RGA-TB (McDonagh et al, 2015).

| | RGA puro | | RGA + TB | |
|---------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | 100 | 250 | 100 | 250 |
| Fertilización nitrogenada (kg/ha/an) | 100 | 250 | 100 | 250 |
| Edad de rebrote (días) | 30 | 21 | 30 | 21 |
| Numero de ciclos | 7 | 9 | 7 | 9 |
| Biomasa (kg MS/ha) | 9125 | 10555 | 13020 | 11450 |
| Distribución estacional (%) P / V / O | 21/60/19 | 19/60/21 | 19/61/20 | 19/59/22 |

Figura 3. Efecto del trébol blanco (Trefle blanc) asociado al RGA sobre la producción de leche (kg/día) en pastoreo durante 44 semanas de lactación (McCarthy et al, 2016).



Otros elementos nutricionales de interés que se destacan en las leguminosas es el alto contenido de calcio de la alfalfa (15 a 20 g / kg de MS). En menor medida, se puede citar el trébol rojo, el híbrido y el blanco, los cuales limitan el riesgo de acidosis gracias a una escala electrolítica favorable. También, el lotus ya que contiene taninos que limitarán la degradación del nitrógeno y es probable que mejoren el valor alimenticio de toda la ración. Finalmente, estos taninos tienen interesantes efectos antiparasitarios que integran la gama de posibles métodos de manejo de los equilibrios huésped-parásito, especialmente en pequeños rumiantes.

• Administrar los requerimientos y las fragilidades de las leguminosas

Estas fortalezas no deben hacernos olvidar que las leguminosas también tienen requisitos o debilidades que deben integrarse y gestionarse para aprovechar las ventajas de su presencia, su desarrollo y su valorización a nivel de sistema. Desde un punto de vista agronómico, las leguminosas prefieren suelos con un pH alto (> 6.5 - 7.0), especialmente alfalfa, y suelos bien abastecidos con fósforo y potasio disponibles. Temen la humedad, los suelos hidromórficos y el exceso de agua. Estas plantas, y especialmente las leguminosas "pequeñas", aprecian la luz y las temperaturas medias superiores a 10 ° C. Su inicio en la vegetación es, por lo tanto, posterior al de las gramíneas. Finalmente, gracias a su sistema radicular adaptado, la alfalfa y el trébol rojo toleran temperaturas bastante altas y condiciones de verano secas, incluso si su crecimiento disminuye. Todas estas preferencias / requisitos explican en parte los contratiempos observados en los pastizales de asociación o las mezclas de proteínas de cereales, cuando la contribución de las leguminosas a la mezcla no siempre se encuentra a la cita.

En términos de valoración, las leguminosas forrajeras generalmente preferirán intervalos entre cosechas, de aproximadamente 1 a 2 semanas más prolongados que las gramíneas. **En Argentina, la alfalfa solo se aprovecha entre 4 y 6 semanas, y con tiempos de ocupación o permanencia de los animales en la misma franja entre 3 y hasta 5 días** (Comeron et al., 1993). Estas limitaciones dependerán de la estación del año o, más apropiadamente, de la tasa de crecimiento (kgMS/ha/día) durante el pastoreo de la franja. Estas diferencias deberán ser tenidas en cuenta en el caso de las asociaciones con gramíneas. El pisoteo asociado con las secuencias de pastoreo en condiciones húmedas a menudo es perjudicial. Aun en condiciones de pastoreo ideales, Comeròn et al, 1993 (datos a confirmar.) aseveran que por encima de una carga animal instantánea de 110 a 115 vacas lecheras Holando por hectárea y por día, comienzan a manifestarse los efectos negativos del pisoteo (caída de la perennidad por el incremento de pérdidas de plantas, no compensada por el aumento del número de tallos por planta). Sin embargo, este efecto puede reducirse, disminuyendo la carga instantánea mediante el incremento de la superficie ofrecida manteniendo al mismo tiempo el nivel de asignación de franja (es decir, el tiempo de permanencia de 1/2 a 5 días en la franja)

Además de la variedad Luzelle, en Francia, la alfalfa no está clasificada como leguminosa para su uso en pasturas, ya que es sensible al pisoteo. En cuanto a la cosecha, especialmente para henificar o con preoreo, se debe ser minucioso para conservar el máximo de hojas posible, que contienen los nutrientes interesantes de estas plantas. Este último punto es esencial en el caso de cultivos puros de alfalfa o trébol rojo.

El trébol blanco, cuyo uso esencial es el pastoreo en asociación con varias gramíneas, es una planta donde su contribución a la pradera es bastante impredecible. Si bien se han descrito los principales factores adversos (Simon et al, 1997), la magnitud de sus efectos está escasamente cuantificada y, a menudo, es variable. El trabajo publicado por Loiseau et al en 2001 demuestra y permite una mejor comprensión de las variaciones oscilatorias en la contribución del trébol blanco, en relación con la disponibilidad de nitrógeno mineral en el suelo. Sin embargo, su durabilidad, su desaparición o, por el contrario, su dominación, y especialmente la inestabilidad interanual de su contribución en esta o aquella parcela de la misma explotación, parece ser el resultado de interacciones complejas entre prácticas y momentos de aplicación de estas prácticas. La introducción del trébol blanco en las pasturas irlandesas es un buen ejemplo. Algunas recomendaciones de manejo del pastoreo deberán revisarse para integrar de manera sostenible el trébol blanco en los pastizales (McCarthy et al, 2016). La fertilización nitrogenada debe reducirse y debe ser dirigida a fines del invierno - principios de la primavera para estimular al rye grass sin dañar el trébol blanco. La práctica de la acumulación de biomasa en otoño-invierno para pastorear a principios de la primavera y satisfacer la demanda del rebaño es perjudicial para el trébol blanco y deberá modularse. En contraste, el pastoreo que caracteriza la práctica irlandesa parece ser un activo para preservar, especialmente para el acceso a la luz, en primavera y verano, cuando las condiciones climáticas son favorables para la leguminosa.

Finalmente, para el animal que los consume, la principal desventaja de las leguminosas sigue siendo **la meteorización**. Aunque rara vez es mortal, su riesgo de ocurrencia impredecible perturba a los agricultores que luego son reacios a continuar con las leguminosas cuando se han arrepentido de estas situaciones de hinchazón. Este riesgo, importante en el pastoreo de alfalfa aunque prácticamente inexistente en dietas del tipo RPM (Raciones parcialmente mezcladas del tipo Pastoreo + forrajes conservados + concentrado), puede requerir el establecimiento de prácticas tales como la protección durante tiempos de acceso limitados o como en Argentina, cortar para secar previamente el día antes del pastoreo. Estas prácticas plantean el problema de la disponibilidad de mano de obra, a veces incompatible con el funcionamiento de la explotación.

3.- CONCLUSIÓN

Las leguminosas pueden desempeñar un papel importante en la autonomía, eficiencia y sostenibilidad de los sistemas agrícolas y ganaderos. Su gran diversidad, debido a que son anuales o perennes, semillas o forrajes, y sus particularidades agronómicas, como se menciona en este texto, permiten prever inserciones en rotaciones y modos de uso muy variados. Especialmente si integramos en la reflexión, las consecuencias esperadas del calentamiento global. Ellas permiten desarrollar sistemas de producción bastante simples, como se propuso en Argentina alrededor del par maíz-alfalfa o en Irlanda con un sistema de pastoreo que eventualmente integrará el trébol blanco. Por el contrario, dependiendo del rol que el ganadero quiera asignarles, es posible conducir a sistemas más complejos como los que se encuentran durante la introducción de mezclas de cereales y proteínas, cultivos de cobertura o cultivos cruzados. con varias vocaciones. El objetivo es entonces beneficiarse de las complementariedades y sinergias asociadas con la diversidad de cultivos dentro de las rotaciones. En todos los casos, su autonomía frente al nitrógeno es una riqueza que beneficiará al sistema. Pero, dada esta capacidad biológica de usar nitrógeno atmosférico y, por lo tanto, ser más dependientes de las condiciones ambientales, debemos saber y, por lo tanto, aprender a ser tolerantes con su productividad variable, su reactividad al contexto a veces. menos favorable porque menos "artificializado". Y es indudablemente esta tolerancia necesaria, esta aceptación de lo "no siempre perfecto" lo que limita el desarrollo de las leguminosas hoy, en un contexto más bien favorable para su regreso. La incertidumbre, la inestabilidad y la diversidad ya no son relevantes en los exigentes sistemas de producción agrícola en términos de regularidad del desempeño y la expresión del potencial.

Los análisis microeconómicos, que intentan integrar todos los beneficios asociados con las leguminosas, son raros, pero generalmente confirman el interés de las leguminosas. Sin embargo, su sensibilidad al contexto, particularmente los precios del petróleo, los fertilizantes y la soja, debilita la certeza asociada con sus activos agronómicos (Humphreys et al, 2012, Phelan et al, 2015). Incluso a nivel macroeconómico, el interés de una mayor autonomía de proteínas en Francia al reducir las importaciones de harina de soja y el uso de proteínas metropolitanas no está garantizado. La sustitución entre cultivos que genera esta idea y, por lo tanto, la reducción de las exportaciones de cereales que induce parece ser generalmente desfavorable (CGDD, 2009).

La eliminación de estas paradojas asociadas con las leguminosas, que reflejan la diferencia entre activos e intereses, requerirá un deseo persistente de promover su desarrollo. Dada la desconexión de los Estados y la Comunidad Europea con respecto al apoyo directo de los precios y su relativa efectividad a largo plazo, el deseo de desarrollar leguminosas requerirá el reconocimiento de sus activos ambientales a través del segundo pilar. Entonces será necesario aceptar la idea de los beneficios ambientales pagados y financiar los servicios agroecológicos prestados por este o aquel sistema de elección, en condiciones de registrarlos durante mucho tiempo y poder evaluarlos y controlarlos. Dada la inercia de los sistemas, los

ganaderos esperarán señales claras y proactivas para inducir leguminosas a largo plazo en los sistemas de producción y el paisaje agrícola europeo.

4.- BIBLIOGRAFÍA

- AFPF. 1983. Intérêt du trèfle blanc. Fourrages, Volumes 94 et 95, 243 pages.
- CELLIER P., ODOUX F., THIEBAU P., VERTES F. 2016. Ce que les légumineuses fourragères et prairiales apportent à l'environnement, cet ouvrage.
- CNIEL. 2015. Lait biologique en France. Collecte, fabrications et commercialisation. Année 2014. Paris.
- COMERON, E.A., L.A. ROMERO, N.A.A. ANDREO y O.A. BRUNO, 1993. Sistema de pastoreo rotativo. Efecto del tiempo de permanencia. XIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, Santiago (Chile). Ciencia e Investigación Agraria, Vol.20 Nro 2, (Mayo-Agosto), 26.
- COMERON E.A., ROMERO L.A. 2007. Utilización de la alfalfa para vacas lecheras en pastoreo. In El cultivo de la Alfalfa en la Argentina. (2da Edición). Ed. Daniel Basigalup, Subprograma Alfalfa de INTA, EEA Manfredi, Ediciones INTA. Capítulo 14, 305-334.
- COMERON E.A., MORETTO M., MACIEL M., CUATRIN A.L. 2006^a. Desempeno de vacas Jersey y Holando paridas en invierno. 1- Alimentación y evolución de estado corporal. Revista Argentina de Produccion Animal Vol 26 Supl 1, 321-322
- COMERON E.A., MORETTO M., MACIEL M., CUATRIN A.L. 2006^b. Desempeno de vacas Jersey y Holando paridas en invierno. 2- Produccion de leche y reproduccion. Revista Argentina de Produccion Animal Vol 26 Supl 1, 322-323
- COMMISSARIAT GENERAL AU DEVELOPPEMENT DURABLE – CGDD. 2009. La relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine : Quels bénéfices environnementaux ?, Etudes et documents, 15, 43 pages.
- DELABY L., DOURMAD J.Y., BELINE F., LESCOAT P., FAVERDIN P., FIORELLI J.L., VERTES F., VEYSSET P., MORVAN T., PARNAUDEAU V., DURAND P., ROCHETTE P., PEYRAUD J.L. 2014. Origin, quantities and fate of nitrogen flows associated with animal production. Advances in Animal Biosciences, 5:s1, 28-48.
- DEVUN J., BRUNSCHWIG P., GUINOT C. 2012. Alimentation des bovins. Rations moyennes et autonomie alimentaire. Compte rendu final 00 12 39 005. Collection. Résultats, Institut de l'Élevage, Paris, 45 pages.
- EGAN M. 2015. Strategies to increase white clover in intensive dairy production systems. Thesis, Teagasc-University College Dublin, Ireland. 270 pages.
- EMILE J.C., COUTARD J.P., FOREL E., STEPHANY D. 2016. Développer les associations céréales-protéagineux dans les systèmes fourragers, cet ouvrage.
- EVANS D.R., WILLIAMS T.A., MASON S.A. 1992. Residual N effect of grazed white clover (*Trifolium repens*) / ryegrass (*Lolium perenne*) swards on subsequent yields of spring barley. Journal of Agricultural Science, Cambridge, 118, 175-178.
- FAIDHERBE L., HASNAOUI N., DEBORDE I., MORINEAU J., LUSSON J.M. 2007. Pistes d'adaptations à la sécheresse des systèmes d'élevage bovin économes basés sur le pâturage. Fourrages, 191, 297-310.
- FOREL E., MANTEAUX J.P. 2013. Témoignages d'adaptations aux évolutions climatiques. Intégrer des variétés méditerranéennes aux mélanges fourragers. Fourrages, 214, 135-138.
- FUSTEC J., GAYRAUD P., COUTARD J.P. 2008. Intérêts des mélanges et associations en agriculture biologique. Fourrages, 194, 175-188
- GUILLOU M., GUYOMARD H., HUYGHE C., PEYRAUD J.L. 2013. Vers des agricultures doublement performantes pour concilier compétitivité et respect de l'environnement. Propositions pour le Ministre, Agrenium-INRA, 163 pages.

- HODEN A., DELABY L., MARQUIS B. 1992. Pois protéagineux comme concentré unique pour vaches laitières. *INRA Productions Animales*, 5(1), 37-42.
- HUMPHREYS J., CASEY I.A., LAIDLAW A.S. 2009. Comparison of milk production from clover-based and fertilizer-N-based grassland on a clay-loam soil under moist temperate climatic conditions. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 48, 189-207.
- HUMPHREYS J., MIHAILESCU E., CASEY I. A. 2012. An economic comparison of systems of dairy production based on N fertilized grass and grass-white clover grassland in a moist maritime environment. *Grass and Forage Science*, 67, 519-525.
- HUYGHE C., DELABY L., (2013) : Prairies et systèmes fourragers. Ed La France Agricole, Paris, 530 pages
Innovations Agronomiques (2010) : Légumineuses et agriculture durable, 11, 204 pages.
<http://www6.inra.fr/ciag/Revue/Volumes-publies-en-2010/Volume-11-Decembre-2010>
- ITEB – EDE DE BRETAGNE (1987) : Des pâtures riches en trèfle blanc. Pourquoi ? Comment ? 32 pages.
- JUNCKER. E. (2016). "MASSAI" ou comment récolter et conserver la "crème" de la luzerne. Actes des Journées AFPP
- LEDGARD S. (1991) : Transfer of fixed nitrogen from white clover to associated grasses in swards grazed by dairy cows, estimated using 15N methods. *Plant and Soil*, 131, 215-223.
- LE GALL A., GUERNION J.M. (2004) : Associations Graminées – Trèfle blanc. Le pâturage gagnant. Collection Synthèse, Institut de l'Élevage et Chambres d'Agriculture de Bretagne et Pays de la Loire, Technipel, Paris, 64 pages.
- LIU Y., WU L., BADDELEY J.A., WATSON C. (2011) : Models of biological nitrogen fixation of legumes. A review. *Agronomy Sustainable Development*, 31(1), 155-172.
- LOISEAU P., SOUSSANA J.F., LOUAULT F., DELPY R. (2001) : Soil N contributes to the oscillations of the white clover content in mixed swards of perennial ryegrass under conditions that simulate grazing over five years. *Grass and Forage Science*, 56, 205-217
- LOUARN G., CORRE-HELOU G., FUSTEC J., LO-PELZER E., JULIER B., LITRICO L., HINSINGER P., LECOMTE C. 2010. Déterminants écologiques et physiologiques de la productivité et de la stabilité des associations graminées-légumineuses. *Innovations Agronomiques*, 11, 79-99.
- LOUARN G., PEREIRA-LOPÈS E., FUSTEC J., MARY B., VOISIN A.S., DE FACCIO CARVALHO P.C., GASTAL F. 2015. The amounts and dynamics of nitrogen transfer to grasses differ in alfalfa and white clover-based grass legumes mixtures as a result of rooting strategies and rhizodeposit quality. *Plant Soil*, 389, 289-305.
- LÜSCHER A., MUELLER-HARVEY I., SOUSSANA J.F., REES R.M., PEYRAUD J.L. 2014. Potential of legume-based grassland livestock system in Europe: a review. *Grass and Forage Science*, 69, 206-228.
- MCCARTHY B., DINEEN M., GUY C., COUGHLAN F. 2016. Incorporating white clover into spring calving pasture-based production systems to increase performance – the Clonakilty experience. In *Proceedings of the Positive Farmers Conference*, Cork, Ireland, 51-64.
- MCDONAGH J., MCEVOY M., GILILAND T., O'DONOVAN M. 2015. Perennial ryegrass variety ranking responses to inclusion of white clover and altered nitrogen fertility. In *Grassland in Europe*, Vol. 20, 18th EGF Symposium, Netherlands, 457-459.
- NYFELER D., HUGUENIN-ELIE O., SUTER M., FROSSARD E., CONNOLY J., LÜSCHER A. 2009. Strong mixture effects among four species in fertilized agricultural grassland led to persistent and consistent transgressive overyielding. *Journal of Applied Ecology*, 46, 683-691
- NYFELER D., HUGUENIN-ELIE O., SUTER M., FROSSARD E., CONNOLY J., LÜSCHER A. 2011. Grass-legume mixtures can yield more nitrogen than legume pure stands due to mutual stimulation of nitrogen uptake from symbiotic and non-symbiotic sources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 140, 155-163.

- ONU. 2014. 2016, Année internationale des légumineuses. Résolution 68/231. http://www.un.org/en/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/68/231&referer=http://www.un.org/en/events/observances/years.shtml&Lang=F
- PEOPLES M.B., HERRIDGE D.F., LADHA J.K. 1995. Biological nitrogen fixation: An efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant and Soil*, 174, 3-28.
- PEYRAUD J.L., DELABY L. (1994) : Utilisation de luzerne déshydratée de haute qualité dans les rations de vaches laitières. *INRA, Productions Animales*, 7(2), 125-134.
- PHELAN P., MOLONEY A.P., MCGEOUGH E.J., HUMPHREYS J., BERTILSSON J., O'RIORDAN E.G., O'KIELY P. 2015. Forage legumes for grazing and conserving in ruminant production systems. *Critical reviews in plant science*, 34, 1-3, 281-326.
- PFLIMLIN A. 1993. Conduite et utilisation des associations graminées-trèfle blanc. *Fourrages*, 135, 407-428.
- POCHON A. (2012) La prairie temporaire à base de trèfle blanc. 5ème Ed, CEDAPA, Plérin, 222 pages.
- RIBEIRO FILHO H.M.N., DELAGARDE R., PEYRAUD J.L. 2003. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. *Animal Science*, 77, 499-510.
- ROCHON J.J., DOYLE C.J., GREEF J.M., HOPKINS A., MOLLE G., SITZIA M., SCHOLEFIELD D., SMITH C.J. 2004. Grazing legumes in Europe: a review of their status, management, benefits, research needs and future prospects. *Grass and Forage Science*, 59, 197-217.
- ROUILLE B., DELABY L., DELAGARDE R., CAILLAUD D., DESARMENIEN D., DAVEAU B., GUIBERT S. 2016. Impact des légumineuses fourragères pâturées et/ou récoltées dans les systèmes bovins laitiers en France, cet ouvrage.
- SCHNEIDER A., HUYGHE C., COORD 2015. Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables, Ed QUAE, Versailles, 473 pages.
- SCHNEIDER A., HUYGHE C., MALEPLATE T., LABALETTE F., PEYRONNET C., CARROUEE B. 2015. Rôle des légumineuses dans l'agriculture française. In *Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables*, Ed QUAE, Versailles, 11-77.
- SIMON J.C., LECONTE D., VERTES F. LE MEUR D. 1997. Maîtrise de la pérennité du trèfle blanc dans les associations. *Fourrages*, 152, 483-498.
- THIEBAU P., PARNAUDEAU V., GUY P. 2003. Quel avenir pour la luzerne en France et en Europe ? *Courrier de l'environnement de l'INRA*, 49, 29-46.
- VERTES F., SIMON J.C., LE CORRE L., DECAU M.L. 1997. Les flux d'azote au pâturage. II Etude des flux et de leurs effets sur le lessivage. *Fourrages*, 151, 263-280.
- VERTES F., JEUFFROY M.H., LOUARN G., VOISIN A.S., JUSTES E. 2015. Légumineuses et prairies temporaires : des fournitures d'azote pour les rotations. *Fourrages*, 233, 221-232.
- VOISIN A.S., CELLIER P., JEUFFROY M.H. 2015. Fonctionnement de la symbiose fixatrice de N₂ des légumineuses à graines : Impacts Agronomiques et Environnementaux. *Innovations Agronomiques*, 43, 139-160.

NUTRICIÓN

SUPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE LINO PROTEGIDO COMO ESTRATEGIA PARA MEJORAR LA TASA DE CONCEPCIÓN EN VACAS LECHERAS

Iorio, J.D.¹; Maciel, M.G.²; Scandolo Lucini, D.E.²; Palladino, R.A.^{1,5}; González Moreno, Y.M.³;
Curletto, D.²; Olmeda, M.F.⁴; Salado, E.E.^{2*}

¹ Facultad de Agronomía, UBA.

² INTA, EEA Rafaela.

³ Escuela Graduados FAUBA.

⁴ Facultad Ciencias Agrarias, UNLZ.

⁵ INPA-CONICET-FAUBA.

* salado.elay@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La ineficiencia reproductiva es un problema económico relevante en los rodeos lecheros particularmente en períodos de balance energético negativo (BEN) (Ambrose *et al.*, 2006). En nuestros sistemas de producción de leche predominan vacas seleccionadas por alto mérito genético (Holstein americano) las que requieren alimentos de alta densidad energética sobre todo en inicio de lactancia. Una alternativa de rápida aplicación al alcance del productor es la suplementación con lípidos por su alta densidad energética y su efecto directo sobre la fertilidad independiente del BEN (Staples *et al.*, 1998). Diversos estudios han mostrado que la suplementación lipídica altera la dinámica de crecimiento del folículo ovárico y que este efecto es independiente de la energía (Mattos *et al.*, 2000). En este sentido, la suplementación con ácidos grasos (AG) poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) puede mejorar la performance reproductiva del ganado lechero (Palmquist y Jenkins, 2017).

Hay dos familias principales de PUFA esenciales llamados omega-3 y omega-6 que podrían afectar la fertilidad. La fuente principal de AG omega-6 es el ácido linoleico de la dieta (C18:2n-6) predominante en los aceites de girasol y soja, que puede ser convertido a ácido araquidónico (C20:4n-6), precursor de las prostaglandinas (PG) dienoicas (serie-2) tal como la PGF_{2α}. Las mismas enzimas elongasa y desaturasa también convierten el principal AG omega-3 de la dieta (ácido α-linolénico; C18:3n-3), abundante en el aceite de lino, a ácido eicosapentanoico (EPA, por sus siglas en inglés; C20:5n-3), precursor de las PG trienoicas (serie-3) tal como la PGF_{3α} (Abayasekara y Wathes, 1999). Esta competencia enzimática entre los AG omega-3 y omega-6 por desaturación y elongación, como también por el sitio de la PG sintetasa, tiene como consecuencia que, al aumentar el aporte de AG omega-3, disminuye la producción de PG dienoicas (Barnouin y Chassagne, 1991) lo que puede inducir una menor actividad luteolítica.

En muchos casos, las PG trienoicas tiene menor actividad biológica que las correspondientes PG dienoicas (Petit *et al.*, 2004), lo que puede afectar en forma directa y positiva a la fertilidad. Así, tratamientos que suprimen la secreción uterina de PGF_{2α} a expensas de PGF_{3α}, pueden facilitar la implantación del embrión y contribuir a una reducción en la mortalidad embrionaria (Mattos *et al.*, 2000 y 2004). A su vez, la alimentación con una dieta rica en ácido linoleico podría contribuir a un aumento en la secreción de PGF_{2α}, comparada con una dieta rica en ácido α-linolénico, lo cual podría ejercer efectos negativos sobre la reproducción. Esto último resulta interesante debido a que, la mayor parte de las pérdidas embrionarias en el ganado bovino ocurren entre los días 8 y 16 después de la inseminación artificial (Ortega Pérez *et al.*, 2012). Algunos embriones podrían no alcanzar un tamaño suficiente en ese momento para inhibir la síntesis de PGF_{2α} y sobreviene la luteolisis (Thatcher *et al.*, 1994). La pérdida de embriones en tales casos puede estar asociada con su incapacidad para inhibir la acción luteolítica de

la $PGF_{2\alpha}$ durante el periodo crítico del reconocimiento materno de la gestación (Childs *et al.*, 2008). En este contexto, la inhibición de la síntesis de $PGF_{2\alpha}$ podría incrementar las tasas de sobrevivencia embrionaria y preñez (Binelli *et al.*, 2001).

Si bien el aporte de AG omega-3 tiene un significativo efecto positivo sobre el comportamiento reproductivo de vacas lecheras en sistemas intensivos de producción de leche (dietas TMR 100 %), estudios referidos al efecto de los AG omega-3 sobre indicadores reproductivos y de fertilidad en sistemas de producción basados en pasturas son aún muy escasos (Otto *et al.*, 2014).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del suministro de aceite de lino (rico en C18:3n-3) protegido de la degradación ruminal (sal cálcica de aceite de lino) sobre parámetros asociados a la variación de reservas corporales, la concentración plasmática de metabolitos y hormonas y el comportamiento reproductivo de vacas lecheras de alta producción en pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 vacas Holando Argentino ($58,0 \pm 17,0$ días de lactancia, $594,1 \pm 92,4$ kg peso vivo, $2,6 \pm 1,5$ partos y $38,9 \pm 9,3$ kg leche día⁻¹) seleccionadas del tambo de la EEA Rafaela del INTA, en un ensayo de 12 semanas de duración (2 semanas de acostumbramiento a los lípidos y 10 semanas de toma de datos). Las mismas fueron bloqueadas (18 bloques) por fecha de parto, N° de lactancias, peso vivo (PV) y nivel de producción de leche y asignadas aleatoriamente dentro de cada bloque a los tratamientos: Omega-3 (O3): 5,2 kg MS de concentrado incluyendo 0,85 kg día⁻¹ de sal cálcica de aceite de lino (82,3% MS, 13,2% cenizas, 86,8% EE y 36,0 % de C18:3 n-3) suministrado en comederos individuales, en partes iguales durante cada turno de ordeño, 13,5 kg MS día⁻¹ de TMR (63,5% silaje de maíz, 18,0% harina de soja, 10,6% maíz molido y 7,9% heno de alfalfa) y asignación mediante pastoreo rotativo diario de 12 kg MS día⁻¹ de pastura de alfalfa (*Medicago sativa*); Control (C): la dieta fue similar a la ofrecida en O3 pero se reemplazó la suplementación lipídica por grano de maíz molido, de modo que las dietas fuesen isoenergéticas (equivalencia: 1 kg MS lípidos = 2 kg MS maíz). Las dietas fueron formuladas para cubrir los requerimientos de una vaca Holstein de 650 kg PV, con 40 días de lactancia, produciendo 40,0 kg leche día⁻¹ con 3,6% de grasa (NRC Dairy Cattle 2001). Durante las 3 semanas previas al comienzo del ensayo (covariable) las vacas recibieron la dieta C. La suplementación con O3 se inició 4 semanas antes del primer servicio y se extendió 8 semanas más a partir de la misma.

El consumo total de MS se estimó durante la semana 8 del período de toma de datos utilizando el NRC Dairy Cattle (2001). El consumo de MS de pastura se estimó descontando los consumos de MS de TMR y concentrado (determinados por el método de la diferencia) del consumo total de MS. Semanalmente, luego del ordeño de la mañana, se registraron el PV y la nota de condición corporal (CC, escala 1 = extremadamente flaca a 5 = extremadamente gorda; Wildman *et al.*, 1982) y cada 2 semanas se obtuvieron muestras de sangre por punción de vena coccígea para determinaciones de glucosa, urea, colesterol total, beta hidroxibutirato (β HB), insulina, hormona de crecimiento (GH) y somatomedina C o factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I). Todas las vacas fueron examinadas después del parto 1 vez por semana para verificar que estuvieran en óptimas condiciones al inicio del servicio. Se implementó una inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) precedida por un protocolo de sincronización de la ovulación PreSynch/OvSynch igual al descrito en Ambrose *et al.* (2006) para el primer servicio y, para el retorno, detección de celos e inseminación artificial (DC-IA) a. m./p. m. El diagnóstico y seguimiento de las preñeces (28, 32, 42, 60 y 70 días pos IA) se realizaron a través de ultrasonografía transrectal (ecógrafo Aquila Pro, Pie Medical, con transductor lineal de 8 MHz) a los 30, 42, 60 y 90 días pos IA. El comportamiento reproductivo se evaluó durante los dos primeros ciclos mediante los siguientes indicadores: tasa de concepción (TC, %), número de animales preñados en cada ciclo reproductivo (1° y 2° ciclo) sobre el total de animales inseminados; preñez acumulada (%), número de animales preñados

en los dos ciclos reproductivos sobre el total de animales experimentales; pérdidas embrionarias tardías (n°), aquellas que ocurren entre 17 y 45 días pos IA.

Los resultados referidos a parámetros de estado corporal, metabolitos y hormonas plasmáticas se analizaron según un diseño en bloques completos aleatorizados con medidas repetidas en el tiempo ajustado por covariable ($\alpha = 0,05$). Los resultados reproductivos fueron analizados mediante un test de Chi-cuadrado y las diferencias declaradas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de MS total resultó similar entre tratamientos ($22,4 \pm 0,80$ kg día⁻¹, $P = 0,61$). En el Cuadro 1 se muestra el efecto de las dietas sobre los parámetros asociados a la movilización de reservas corporales y la concentración plasmática de metabolitos y hormonas. No se detectó interacción tratamiento x semana para ninguna de las variables evaluadas.

Cuadro 1. Concentración plasmática de metabolitos en vacas lecheras suplementadas (O3) o no (C) con aceite de lino protegido (0,85 kg día⁻¹) durante 12 semanas.

| Variables | Tratamientos ¹ | | EEM | $P <^2$ |
|------------------------------------|---------------------------|-------|------|---------|
| | O3 | C | | |
| PV (kg) | 581,5 | 578,7 | 2,88 | 0,50 |
| CC | 2,74 | 2,66 | 0,04 | 0,24 |
| Glucosa (g l ⁻¹) | 0,60 | 0,60 | 0,01 | 0,62 |
| Urea (g l ⁻¹) | 0,42 | 0,40 | 0,01 | 0,01 |
| β HB (mmol l ⁻¹) | 0,59 | 0,57 | 0,02 | 0,53 |
| Colesterol (mg dl ⁻¹) | 177,6 | 159,4 | 5,33 | 0,04 |
| Insulina (ng ml ⁻¹) | 0,91 | 0,95 | 0,03 | 0,36 |
| GH (ng ml ⁻¹) | 2,42 | 2,40 | 0,20 | 0,94 |
| IGF-I (ng ml ⁻¹) | 109,4 | 109,8 | 9,09 | 0,49 |

¹Valores expresados a través de las medias mínimas cuadráticas (LSMeans) y el error estándar de las LSMs (EEM). ²Efecto de tratamiento. PV = peso vivo; CC = condición corporal; β HB= beta hidroxibutirato; GH = somatotrofina; IGF-I = somatomedina C.

La energía aportada bajo la forma de lípidos no resultaría eficaz a los fines de reducir la movilización de reservas corporales al inicio de la lactancia (Komaragiri *et al.*, 1998), observación que parece confirmarse con los resultados obtenidos en este estudio. En efecto, el PV, la CC y los niveles circulantes de β HB (parámetro indicador de lipomovilización) resultaron similares entre tratamientos (Cuadro 1). Komaragiri *et al.* (1998) sugirieron que el perfil hormonal desempeñaría un papel más importante que el tipo de dieta (grasa) en la regulación de la movilización de lípidos corporales en vacas lecheras en lactancia temprana. La suplementación lipídica incrementó significativamente los niveles circulantes de urea (Cuadro 1), resultado que podría explicarse por una menor disponibilidad de energía fermentescible a nivel ruminal en O3. No se observaron diferencias significativas en la concentración plasmática de glucosa, resultado compatible con los similares tenores plasmáticos de insulina (Cuadro 1). Los AG absorbidos a partir del aceite de lino protegido de la degradación ruminal podrían haber contribuido a mantener la glucemia al reducir la oxidación parcial (a NADPH2) o total (a CO2) de la glucosa (Chilliard, 1993). La concentración plasmática de colesterol es incrementada consistentemente

bajo regímenes de suplementación con lípidos (Gagliostro y Chilliard, 1992b). Khorasani y Kennelly (1998) propusieron que un aumento de los lípidos dietarios estimularía la síntesis intestinal de colesterol para cubrir la incrementada demanda de absorción y transporte de grasa, lo cual contribuiría a explicar la mayor concentración plasmática promedio de colesterol registrada en O3 (Cuadro 1). En el ganado bovino, la principal hormona estimulante de la producción de leche es la GH por mecanismos directos e indirectos, incluyendo la participación del sistema IGF y las interacciones con la insulina (Cohick, 1998). En este estudio, las concentraciones plasmáticas de GH no fueron afectadas por los tratamientos, resultado consistente con las similares producciones de leche observadas ($33,6 \pm 0,8 \text{ kg día}^{-1}$, $P = 0,72$). La producción hepática de IGF-I está positivamente correlacionada con los niveles plasmáticos de GH (McGuire *et al.*, 1998). La ausencia de efectos sobre la concentración plasmática de IGF-I (Cuadro 1) es consistente con los similares tenores plasmáticos de GH registrados en ambos tratamientos (Cuadro 1).

Los metabolitos plasmáticos como el β HB y la glucosa, y las hormonas reguladoras como la insulina, la GH y el IGF-I actúan como indicadores dinámicos o de corto plazo del balance energético (Chilliard *et al.*, 1998). Si el animal se encuentra en balance energético negativo, se observa una disminución en las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina e IGF-I y un aumento en los niveles de β HB y GH (Van Knegsel *et al.*, 2007). Tomados en conjunto, los resultados obtenidos en este estudio (similares concentraciones plasmáticas de β HB, glucosa, insulina, GH e IGF-I) sugieren que la suplementación con aceite de lino protegido en reemplazo de maíz como fuente de energía no tuvo efectos sobre el metabolismo energético de vacas lecheras en lactancia temprana.

En el Cuadro 2 se muestra el efecto de las dietas sobre parámetros reproductivos.

Cuadro 2. Comportamiento reproductivo en vacas lecheras suplementadas (O3) o no (C) con aceite de lino protegido ($0,85 \text{ kg día}^{-1}$) durante 12 semanas.

| Variables ¹ | Tratamientos | | Significancia ² |
|------------------------------------|--------------|------|----------------------------|
| | O3 | C | |
| TC 1 ^{er} ciclo (IATF), % | 61,0 | 45,0 | NS |
| TC 2 ^o ciclo (DC-IA), % | 50,0 | 20,0 | NS |
| Preñez acumulada, % | 77,8 | 52,6 | † |
| Pérdidas embrionarias | 1 | 3 | NS |

¹TC = Tasa de concepción; IATF = Inseminación a tiempo fijo; ²NS = no significativo; † = $P < 0,10$.

Si bien las TC al primer y segundo servicio fueron mayores en O3, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$). No obstante, la preñez acumulada (%) presentó una tendencia ($P = 0,09$) a ser mayor (25,2 puntos porcentuales) en O3 con respecto a C. Asimismo, las pérdidas embrionarias no difirieron entre tratamientos ($P > 0,05$) aunque los animales del tratamiento C tuvieron un mayor número de pérdidas. El incremento de los valores basales de colesterol circulante en el grupo de vacas O3 contribuiría a explicar este resultado, debido al rol de precursor del colesterol en la síntesis de progesterona por las células del cuerpo lúteo (Staples *et al.*, 1998). Estudios previos en sistemas intensivos de producción de leche presentaron resultados similares (Petit *et al.*, 2001; Ambrose *et al.*, 2006; Petit y Twagiramungu, 2006). De hecho, un análisis estadístico transversal de los resultados de estos estudios (en todos los casos con pocos animales por tratamiento) indica que existe una tendencia a mayor TC al primer servicio en animales que recibieron suplementación con alguna fuente de aceite de lino (60,3% vs 40,3% para suplementados con lino y control respectivamente, $P < 0,10$).

En tres de los cinco ensayos revisados por Santos *et al.* (2008), la suplementación con AG omega-3, 360 a 410 g día⁻¹ de ácido α -linolénico contenido en semilla de lino (Ambrose *et al.*, 2006; Petit y Twagiramungu, 2006) o EPA y ácido docosahexanoico (DHA, por sus siglas en inglés; C22:6n-3) presentes en importantes concentraciones en el aceite de pescado (Silvestre *et al.*, 2011), redujo las pérdidas de preñez post primera IA posparto en vacas lecheras. A su vez, en dos de los estudios mencionados (Ambrose *et al.*, 2006; Silvestre *et al.*, 2011) la suplementación con AG omega-3 también mejoró los porcentajes de preñez a primera o segunda IA posparto. Estos resultados coinciden con los de Petit *et al.* (2001), quienes reportaron tasas de concepción significativamente mayores en vacas suplementadas con semilla de lino tratada con formaldehído con respecto al grupo suplementado con sales de Ca de aceite de palma (87,5 vs. 50,0%).

CONCLUSIONES

La TC al primer y segundo ciclo de 21 días y las pérdidas embrionarias fueron similares entre tratamientos, mientras que la preñez acumulada (%) tendió a ser mayor (25,2 puntos porcentuales) en el grupo de vacas suplementadas con aceite de lino protegido de la degradación ruminal. Este resultado no estaría explicado por una mejora en el balance energético sino por efecto del ácido α -linolénico *per se*. El uso de este suplemento se presenta como promisorio, sin embargo, estudios adicionales con mayor número de animales son necesarios para confirmar los resultados reproductivos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Gabriel Schmidt, Ariel Plattner y Darío Arias por su asistencia en el trabajo de campo y a la Empresa Tecnuar SRL.

BIBLIOGRAFÍA

- ABAYASEKARA, D.R.E.; WATHES, D.C. 1999. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 61: 275–287.
- AMBROSE, D.K.; KASTELIC, J.P.; CORBETT, R.; PITNEY, P.A.; PETIT, H.V.; SMALL, J.A.; ZALKOVIC, P. 2006. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in α -linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 89: 3066–3074.
- BARNOUIN, J.; CHASSAGNE, M. 1991. An aetiological hypothesis for the nutrition-induced association between retained placenta and milk fever in the dairy cows. *Ann. Rech. Vet.* 22: 331–343.
- BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. 2001. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology* 56: 1451-1463.
- CHILDS, S.; HENNESSY, A.A.; SREENAN, J.M.; WATHES, C.; CHENG, Z.; STANTON, C.; DISKIN, M.G.; KENNY, D.A. 2008. Effect of level of dietary *n*-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology* 70: 595-611.
- CHILLIARD, Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76: 3897-3931.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38: 131-152.
- COHICK, W.S. 1998. Role of the insulin-like growth factors and their binding proteins in lactation. *J. Dairy Sci.* 81: 1769-1777.

- GAGLIOSTRO, G.A.; CHILLIARD, Y. 1992b. Revisión bibliográfica. Utilización de lípidos protegidos en nutrición de vacas lecheras. II. Efectos sobre la concentración plasmática de metabolitos y hormonas, movilización de lípidos corporales y actividad metabólica del tejido adiposo. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 12 (1): 17-32.
- KHORASANI, G.R.; KENNELLY, J.J. 1998. Effect of added dietary fat on performance, rumen characteristics, and plasma metabolites of midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81: 2459-2468.
- KOMARAGIRI, M.V.S.; CASPER, D.P.; ERDMAN, R.A. 1998. Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 2. Effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein. *J. Dairy Sci.* 81: 169-175.
- MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod.* 5: 38-45.
- MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; ARTECHE, A.; WILTBANK, M.C.; DIAZ, F.J.; JENKINS, T.C.; THATCHER, W.W. 2004. The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF 2α , milk composition and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 87: 921-932.
- MCGUIRE, M.A.; DWYER, D.A.; BAUMAN, D.E.; SMITH, D.F. 1998. Insulin-like growth factors in plasma and afferent mammary lymph of lactating cows deprived of feed or treated with bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 81: 950-957.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, USA.
- ORTEGA PÉREZ, R.; ESPINOZA VILLAVICENCIO, J.L.; PALACIOS ESPINOSA, A.; ARJONA LÓPEZ, O.; PALACIOS MECHETNOV, E. 2012. Los ácidos grasos de la dieta afectan la fisiología reproductiva en la hembra bovina: una Revisión. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 15: 153-163.
- OTTO, J.R.; FREEMAN, M.J.; MALAU-ADULI, B.S.; NICHOLS, P.D.; LANE, P.A.; MALAU-ADULI, A.E.O. 2014. Reproduction and fertility parameters of dairy cows supplemented with omega-3 fatty acid-rich canola oil. *Annual Research & Review in Biology* 4 (10): 1611-1636.
- PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. 2017. *A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows.* *J. Dairy Sci.* 100: 10061–10077.
- PETIT, H.V.; DEWHURST, R.J.; PROULX, J.G.; KHALID, M.; HARESIGN, W.; TWAGIRAMUNGU, H. 2001. Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Can. J. Anim. Sci.* 81: 263–271.
- PETIT, H.V.; GERMIQUET, C.; LEBEL, D. 2004. Effect of feeding whole unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 3889–3898.
- PETIT, H.V.; TWAGIRAMUNGU, H. 2006: Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology* 66: 1316-1324.
- SANTOS, J.E.P.; BILBY, T.R.; THATCHER, W.W.; STAPLES, C.R.; SILVESTRE, F.T. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 43 (Supp. 2): 23-30.
- SILVESTRE, F.T.; CARVALHO, T.S.M.; FRANCISCO, N.; SANTOS, J.E.P.; STAPLES, C.R.; JENKINS, T.C.; THATCHER, W.W. 2011. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: I. Uterine and metabolic responses, reproduction, and lactation. *J. Dairy Sci.* 94: 189–204.
- STAPLES, C.R.; BURKE, J.M.; THATCHER, W.W. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 856–871.
- THATCHER, W.W.; MACMILLAN, K.L.; HANSEN, P.J.; BAZER, F.W. 1994. Embryonic losses: causes and prevention. In: Fields, M.J.S. and Sand, R.S. (eds.). *Factors affecting calf crop.* CRC Press. USA. pp. 135-153.

- VAN KNEGSEL, A.T.M.; VAN DEN BRAND, H.; GRAAT, E.A.M.; DIJKSTRA, J.; JORRITSMA, R.; DECUYPERE, E.; TAMMINGA, S.; KEMP, B. 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: metabolites and metabolic hormones. *J. Dairy Sci.* 90: 1477–1485.
- WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E.; BOMAN, R.L.; TROUTT, H.F.; LESCH, T.N. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65: 495-501.

REPRODUCCIÓN

CANTIDAD DE PROGESTERONA RESIDUAL AL RETIRO DE DISPOSITIVOS INTRAVAGINALES APLICADOS EN DIESTRO TEMPRANO Y TARDÍO EN VAQUILLONAS HOLSTEIN

Scándolo, D. E.^{1*}; Scándolo, D.²; Cuatrín, A.L.³; Maciel, M.G.¹

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² Fac. Cs. Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral.

³ INTA EEA Paraná (Entre Ríos).

*scandololucini.d@inta.gob.ar

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue medir la cantidad de P4 residual en dispositivos intravaginales (DI) impregnados con 600 mg de P4, utilizados en vaquillonas Holstein en diferentes etapas del diestro con el fin de evaluar el efecto de la progesterona (P4) endógena sobre la liberada del DI. Las vaquillonas fueron sometidas a un protocolo de sincronización de la ovulación y divididas en dos grupos, diestro temprano (DTe, n= 19) y tardío (DTa, n=11). En éstas se determinó la P4 liberada calculando la diferencia entre la progesterona inicial y la progesterona residual. Se realizó estadística descriptiva y una prueba T para determinar diferencias de progesterona residual entre tratamientos. La progesterona residual promedio fue de $399,1 \pm 28,4$ mg por lo que la liberada de los dispositivos fue de $200,9 \pm 28,4$ mg. No se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la progesterona residual entre DTe y DTa. Se concluye que la etapa del diestro, a la inserción del DI, no altera la cantidad de progesterona residual. Los dispositivos de 600 mg, luego de un uso en esta categoría de hembras, podrían ser reutilizados debido a que la elevada progesterona residual (2/3) lo permitiría.

Palabras claves: dispositivos intravaginales, vaquillonas, diestro, progesterona residual

SUMMARY

In order to evaluate the effect of endogenous progesterone (P4) over the one released from P4 intravaginal devices (ID), the aim of this study was to measure the amount of residual P4 from ID impregnated with 600 mg, used in Holstein heifers at different stages of the diestrus. They were subjected to a protocol of synchronization of ovulation and divided in two groups, early (DTa, n = 19) and late (DTe, n = 11) diestrus. The released progesterone after the protocol, was determined by calculating the difference between the initial and residual progesterone. Descriptive statistics and Test T were conducted to determine residual progesterone differences between treatments. The average residual progesterone was 399.1 ± 28.4 mg and the released progesterone was 200.9 ± 28.4 mg. No significant difference ($P > 0.05$) was detected in residual progesterone between DTa and DTe. It is concluded that the amount of residual progesterone was similar during diestrus. The high level of residual progesterone (2/3) of the 600 mg device after one use in heifers, would allow them to be reused.

Key words: intravaginal devices; heifers, diestrus, residual progesterone.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes recientes indicarían que la concentración de progesterona endógena afectaría la tasa de liberación de los dispositivos intravaginales utilizados para sincronizar hembras bovinas (1, 2). Ésta sería mayor cuando la progesterona endógena es baja, resultando en una menor concentración residual en el dispositivo luego del primer uso (1). En dispositivos intravaginales conteniendo 1 g, la progesterona que permanece en la matriz del mismo luego de su empleo (progesterona residual) es de 478 mg, 349 mg y 257 mg en vaquillonas en diestro temprano, diestro tardío y anestro (sin cuerpo lúteo) respectivamente, lo que se traduciría en una liberación de progesterona de 522 mg, 651 mg y 743 mg. A su vez, en los grupos sin cuerpo lúteo (CL), pese a la alta liberación de los dispositivos, los valores plasmáticos de progesterona no son elevados al día 8 (1,5 a 1,6 ng/mL) (1), sino que son similares a los reportados en vaquillonas prepúberes con dispositivos usados (3). Por otra parte, otros autores reportaron que la liberación en dispositivos de silicona conteniendo 1 g de progesterona en vaquillonas es de 206 mg y en dispositivos de 1 g de progesterona pero con ethylene-vinyl acetate (EVA) es de 433 mg durante los 7 días que permanecieron insertados (4). Vacas lecheras en lactancia tratadas con dispositivos de 1,9 g durante 7 días presentan un amplio rango de liberación de progesterona variando de 271,9 a 955,6 mg totales (5). En vacas lecheras multíparas, la progesterona residual de un dispositivo intravaginal impregnado con 1,9 g de progesterona estaría afectada por la presencia o ausencia de cuerpo lúteo durante el protocolo (2). Las vacas que presentan un folículo (FOL) al momento de la inserción y un folículo al retiro del dispositivo (FOL-FOL) presentan una menor progesterona residual en relación a vacas que presentaron un cuerpo lúteo a la inserción y un cuerpo lúteo al retiro (CL-CL) o un cuerpo lúteo a la inserción y un folículo al retiro (CL-FOL). Sin embargo, la progesterona residual en el grupo CL-FOL, se comportó igual que el grupo CL-CL(2). Por otra parte, es evidente que luego de emplear dispositivos intravaginales existe un remanente de progesterona residual que varía entre 68,2 % para dispositivos de 1,9 g, 53,7 % para dispositivos de 1,34 g (6), 79,9 % y 58,1 % para dispositivos de 1 g de progesterona en matriz de EVA y de 1 g de progesterona en matriz de silicona respectivamente (4). Según lo expuesto, más del 50 % de la progesterona permanece en los dispositivos intravaginales luego de su uso, existiendo además un amplio rango entre hembras de una misma categoría productiva. Por ello es necesario evaluar si estas diferencias están asociadas a la progesterona endógena, determinada por la etapa del ciclo estral, que tienen las hembras durante el protocolo de sincronización. El objetivo del presente trabajo fue medir la cantidad de progesterona residual en dispositivos intravaginales impregnados con 600 mg de progesterona, utilizados en vaquillonas Holstein en diferentes etapas del diestro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 vaquillonas Holstein, pertenecientes a un tambo de la EEA INTA (LS 31°12', LO 61°30', 99 msnm) Rafaela, Santa Fe con promedios de edad de $17,4 \pm 1,8$ meses, de peso de 360 ± 25 kg y de condición corporal de $3,2 \pm 0,2$ (escala 1 a 5) (7). Éstas fueron sometidas a un protocolo de inseminación a tiempo fijo (IATF) que consistió en la inserción de un dispositivo intravaginal (DI) con 600 mg progesterona (EMEFUR® dispositivo intravaginal (0,6 g) monouso, Merial, Argentina) (P4) y 2 mg benzoato de estradiol (EMEFUR® Benzoato de Estradiol, Merial, Argentina) intramuscular (IM). A los 8 días se procedió a la remoción del DI + 0,150 mg D(+) Cloprostenol (EMEFUR® Prostaglandina, Merial, Argentina) IM + 0,5 mg cipionato de Estradiol (CIPIOSYN®, Syntex, Argentina) IM. Las hembras fueron divididas en 2 grupos: diestro temprano (DTe, n= 19) y diestro tardío (DTa, n=11) según tuvieran o no un cuerpo lúteo (CL) al momento del retiro del dispositivo intravaginal (DI). Si las vaquillonas presentaban un CL en el mismo ovario al momento de la inserción y al retiro del DI, se las clasificó como DTe, mientras que si el CL estaba presente al inicio del tratamiento y ausente al retiro del DI, se las consideró en DTa. Las ecografías (Aquila, Pie Medical, Holanda) realizadas previamente a la inserción del dispositivo y al

retiro de los mismos al día 8, se utilizaron para clasificar a las hembras en estudio. Al día siguiente del retiro DI (día 9) se realizó una tercera ecografía para determinar el tamaño del folículo dominante y corroborar las diferencias entre grupos. Luego de removidos, los DI se lavaron con agua e identificaron con el RP de cada vaquillona y se colocaron en bolsas plásticas negras para la posterior determinación de P4 residual. La cantidad de progesterona residual se determinó cortando la matriz de silicona de cada dispositivo en tiras de aproximadamente 1 cm de longitud para colocarlas en un extractor Soxhlet y etanol a reflujo durante 48 horas (8). Las soluciones se diluyeron con etanol a volumen y la absorbancia se midió a una longitud de onda óptima (240 nm) usando un Espectrofotómetro UV-vis (Shimadzu modelo 2401 PC).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva y la prueba de Shapiro-Wilks (modificado) para determinar la normalidad de los datos. Se utilizó una prueba T de comparación de medias para determinar diferencias de folículo dominante y progesterona residual entre tratamientos (9).

RESULTADOS

El tamaño del folículo dominante en las vaquillonas en DTe fue de $11,1 \pm 2,0$ mm, mientras que en las vaquillonas DTa fue $13,0 \pm 2,8$ mm de ($P < 0,05$). En la Tabla 1 se presentan los valores de progesterona inicial, residual y porcentaje de residual de los dispositivos intravaginales utilizados en vaquillonas Holando.

Tabla 1. Promedio (\pm DE) de progesterona inicial, residual y porcentaje residual en dispositivos intravaginales utilizados en vaquillonas en diestro temprano y tardío.

| Diestro | n | P4 inicial (mg) | P4 residual (mg) | Residual (%) |
|----------|----|-----------------|------------------|----------------|
| Temprano | 19 | 600 | $403,2 \pm 31,0$ | $67,2 \pm 5,2$ |
| Tardío | 11 | 600 | $392,1 \pm 23,0$ | $56,3 \pm 3,8$ |

No se detectaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la P4 residual entre grupos, por lo que la cantidad de P4 liberada y el porcentaje de residual de P4 de los dispositivos intravaginales es similar en vaquillonas que se encuentran en diferentes etapas del diestro. La P4 residual promedio fue de $399,1 \pm 28,4$ mg (rango: 342,2 a 456,6 mg), por lo que la P4 liberada de los DI fue de $200,9 \pm 28,4$ mg (rango: 143,4 a 257,8). En la Figura 1 se presenta la frecuencia relativa de progesterona liberada por los dispositivos intravaginales en todas las vaquillonas tratadas.

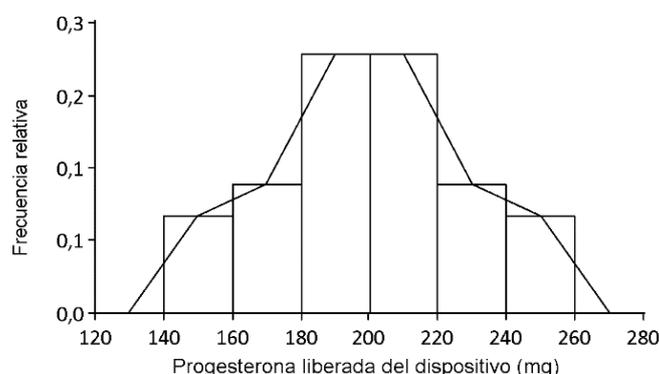


Figura 1. Frecuencia relativa de progesterona liberada por los dispositivos intravaginales utilizados en vaquillonas Holando en diestro.

Como se observa en la Figura 1, la progesterona liberada por los dispositivos presenta una distribución normal, donde aproximadamente la mitad de las hembras liberan menos de 200 mg de P4 durante los 7 días en que permanecieron en el animal.

DISCUSIÓN

El estudio fue diseñado para evaluar la progesterona residual de dispositivos intravaginales impregnados con 600 mg de progesterona y colocados durante 8 días en vaquillonas en diestro temprano y tardío. La presencia o ausencia de un CL al momento del retiro del dispositivo y el mayor tamaño folicular de las vaquillonas de DTa indica que las hembras se encontraban en diferentes etapas del diestro. Vacas en producción (10) y vaquillonas (11) sin CL al momento del retiro del dispositivo presentan un tamaño folicular mayor que hembras en diestro, asociado a una mayor tasa de crecimiento folicular diario y a la menor concentración de progesterona plasmática circulante (11).

La P4 residual de las vaquillonas en DTe y DTa fue similar ($P>0,05$), siendo el porcentaje residual promedio de progesterona similar a los reportados por otros autores (6) pero difieren a los reportados recientemente en vaquillonas cruza Holstein-Zebú (1). Éstos autores señalan que la liberación de progesterona del dispositivo intravaginal estaría asociada a la concentración endógena de la hormona; siendo mayor en hembras sin CL, seguida por hembras en diestro tardío y por último en hembras en diestro temprano, situación que no se vio reflejada en las vaquillonas del presente trabajo. En vacas en lactancia, se observó menor progesterona residual de los dispositivos en aquellas de mayor producción de leche diaria (5), probablemente relacionado al elevado flujo sanguíneo hepático que produce un incremento en el metabolismo esteroide en relación a vacas secas (12).

Si la tasa de liberación de progesterona de los dispositivos estuviera solamente asociada a la cantidad de progesterona endógena, se podría pensar que en vacas en anestro u ovariectomizadas, la liberación sería elevada y estaría reflejada en las concentraciones de progesterona sérica. En general, los animales utilizados para hacer las cinéticas plasmáticas de dispositivos intravaginales son hembras ovariectomizadas (6) cuyo tratamiento previo permite evaluar progesterona exógena ya que no contienen endógena (1, 4). Hace más de 10 años que se publicó un trabajo en vacas ovariectomizadas donde concluye que es factible la reutilización de dispositivos de 1 g en vacas secas, mientras que no estaría recomendado un segundo uso de dispositivos de 0,5 g, ya que no es capaz de aportar niveles superiores a 1 ng/mL durante el tratamiento (13). Este modelo permite determinar claramente, la liberación de progesterona por parte del dispositivo sin interferencia endógena, sin embargo, en la práctica se sincronizan animales no ovariectomizados. No obstante, el porcentaje residual en hembras ovariectomizadas (6) y en vacas en producción (5) rondan en valores cercanos al 60 %, similares a los obtenidos en este trabajo. En un trabajo que evaluó un mismo dispositivo intravaginal (14) o una misma esponja (15) con contenidos crecientes de progesterona, se observó que a medida que se incrementa la concentración de P4 inicial, aumenta la P4 plasmática de manera cuadrática y el porcentaje de progesterona residual (14). La tasa de liberación de progesterona de un dispositivo intravaginal es un proceso biofísico controlado, en mayor medida, por el contenido de progesterona y la concentración de silicona que por las posibles variaciones entre animales en la capacidad para absorber la progesterona liberada (14).

El uso de los dispositivos intravaginales durante el protocolo de sincronización se fundamenta en sostener niveles adecuados de progesterona que permitan mantener el feedback negativo sobre las neuronas de GnRH del hipotálamo (16), simulando que todas las hembras se encuentren en diestro para evitar ovulaciones durante los 7 u 8 días que permanecen insertados. En Argentina no se utiliza como práctica rutinaria pre sincronizar los rodeos de leche y carne. Frete a esta situación, es esperable que el día de inicio de la sincronización, las hembras se encuentren en diferentes días del ciclo estral. Si consideramos que el ciclo es de 21 días, deberíamos esperar que al menos un 5 % de las hembras estén en celo (1 día), un 15 % se encuentren en metaestro (3 días), un 70 % en diestro (15 días) y un 10 % en

proestro (2 días). Estas proporciones son dinámicas y van cambiando durante el protocolo de sincronización (17). Por lo tanto, alrededor de un 50 % a 70 % de las hembras sincronizadas presentarían progesterona endógena aportada por un cuerpo lúteo. Esto hace factible el empleo de dispositivos usados (17, 18). Existen diversas alternativas para reacondicionar los dispositivos intravaginales luego de su empleo para poder reutilizarlos (3), no obstante, la alternativa de esterilización con autoclave parecería ser la más adecuada (3, 19-21). Esta reutilización permitiría optimizar el empleo de los dispositivos intravaginales ya que alrededor del 50 % de los DI utilizados en las vaquillonas presentaron más de 400 mg de progesterona residual, donde lo liberado es solo 1/3 en promedio de la cantidad inicial. El empleo de dispositivos para sincronizar celo en vacas de producción de carne o leche no presentaría impacto negativo sobre el ambiente ya que las cantidades residuales aportadas son ínfimas en relación a lo excretado por hembras cíclicas (22).

CONCLUSIÓN

La liberación de progesterona de un dispositivo intravaginal impregnado con 600 mg de P4, no estaría afectada por la etapa del diestro en que se encuentren las vaquillonas, ya que la tasa de liberación de la hormona durante ocho días de tratamiento fue similar. Por otra parte, la elevada cantidad de progesterona residual de los dispositivos luego de su uso, permitiría que sean reutilizados en esta categoría de animales luego de un proceso de reacondicionamiento adecuado.

BIBLIOGRAFIA

1. NERI HL, PALHAO MP, S CD, VIANA JHM, FERNANDES CAC. Endogenous Progesterone Concentrations Affect Progesterone Release from Intravaginal Devices Used for Oestrous Synchronization in Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 2015;50(4):692-5.
2. SCÁNDOLO D, SCÁNDOLO DG, CUATRÍN A, MACIEL M. Influencia del cuerpo lúteo sobre la progesterona residual de dispositivos intravaginales en vacas lecheras multíparas. 39° Congreso Argentino de Producción Animal Revista Argentina de Producción Animal 36 Supl 1: 1-32 (2016) pp 18; Tandil, Buenos Aires. Argentina.
3. DAHLEN CR, KLEIN SI, LAMB GC, MERCADANTE VRG, STEICHEN PL. Technical note: Physiological response of beef heifers after receiving a reused controlled internal drug release insert processed with different heat-treating methods. *Journal of Animal Science*. 2014;92:2275-9.
4. CAPPADORO AJ, LUNA JA. Development of an injection molded ethylene-vinyl acetate copolymer (EVA) intravaginal insert for the delivery of progesterone to cattle. *Animal Reproduction Science*. 2015;158:104-8.
5. SCÁNDOLO DE, SCÁNDOLO D, CUATRÍN A, MACIEL M. Effect of milk yield on residual progesterone on residual progesterone concentration of intravaginal releasing devices in dairy cows. XXVI World Buiatrics Congress; Santiago, Chile, Noviembre 14-18. 2010.
6. RATHBONE MJ, CRAIG R, BUNTA, COLIN R, OGLEA, SHANE BURGGRAAFA, KEITH L, MACMILLAN, CHRISTOPHER R, BURKE, ET AL. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. *Journal of Controlled Release*. 2002;85:105-15.
7. FERGUSON JD, GALLIGAN D, THOMSEN N. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 1994;77(9):2695-703.
8. MARIANO RN, TURINO LN, CABRERA MI, Scándolo DE, Maciel MG, Grau RJA. A simple pharmacokinetic model linking plasma progesterone concentrations with the hormone released from bovine intravaginal inserts. *Research in Veterinary Science*. 2010;89(2):250-6.
9. DI RIENZO JA, CASANOVES F, BALZARINI MG, GONZALEZ L, TABLADA M, ROBLEDO CW. InfoStat. 24-03-2011 ed. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba; 2011.

10. SCÁNDOLO D, SCÁNDOLO DG, CUATRÍN A, VANZETTI L, LOPEZ DE CERRO P, MACIEL M. Influencia del cuerpo lúteo al retiro del dispositivo sobre el tamaño folicular y la expresión de celo en vacas Holando. 37° Congreso Argentino de Producción Animal - 2nt Joint Meeting ASAS-AAPA - XXXIX Congreso de la Sociedad Chilena - SOCHIPA Revista Argentina de Producción Animal Supl 1: 1-35 (2014) pp 29; Buenos Aires. Argentina.
11. CARVALHO JBP, N.A.T. CARVALHO, E.L. REIS, M. NICHI, A.H. SOUZA, BARUSELLI PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
12. SANGSRITAVONG S, COMBS DK, SARTORI R, ARMENTANO LE, WILTBANK MC. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17B in dairy cattle *Journal of Dairy Science*. 2002;85:2831-42.
13. AVILÉS M, CUTAIA L, VIDELA DORNA I, ABA M, BO GA. Concentraciones plasmáticas de progesterona en vacas ovariectomizadas tratadas con dispositivos intravaginales con 0,5 y 1 g de progesterona y previamente utilizados. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal 2006; Córdoba. Argentina.
14. MACMILLAN KL, WASHBURN SP, HENDERSON HV, PETCH SF. Effects of varying the progesterone content of CIDR intravaginal devices and multiple CIDR treatments on plasma hormone concentrations and residual hormone content. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 1990;50:471.
15. MAC DONNELL HF, CROWLEY JP. The effect of progesterone impregnated sponges on fertility in anoestrous ewes. *Veterinary Science Communications*. 1978;2(1):115-30.
16. BERGFELD EGM, KOJIMA FN, CUPP AS, WEHRMAN ME, PETERS KE, MARISCAL V, ET AL. Changing Dose of Progesterone Results in Sudden Changes in Frequency of Luteinizing Hormone Pulses and Secretion of 17b-Estradiol in Bovine Females. *BIOLOGY OF REPRODUCTION*. 1996;54:546-53.
17. MELO LF, MONTEIRO PLJJ, NASCIMENTO AB, DRUM JN, SPIES C, PRATA AB, ET AL. Follicular dynamics, circulating progesterone, and fertility in Holstein cows synchronized with reused intravaginal progesterone implants that were sanitized by autoclave or chemical disinfection. *Journal of Dairy Science*. 2018 a;101:1-14.
18. MELO LF, MONTEIRO PLJJ, OLIVEIRA LH, GUARDIEIRO MM, DRUM JN, WILTBANK M, ET AL. Circulating progesterone concentrations in nonlactating Holstein cows during reuse of intravaginal progesterone implants sanitized by autoclave or chemical disinfection. *Journal of Dairy Science*. 2018 b;101(4):3537-44.
19. ZULUAGA JF, WILLIAMS GL. High-pressure steam sterilization of previously used CIDR inserts enhances the magnitude of the acute increase in circulating progesterone after insertion in cows. *Animal Reproduction Science*. 2008;107(1-2):30-5.
20. CERRI RLA, RUTIGLIANO HM, BRUNO RGS, SANTOS JEP. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Animal Reproduction Science*. 2009;110:56-70.
21. LONG S, YOSHIDA C, NAKAO T. Plasma Progesterone Profile in Ovariectomized Beef Cows after Intravaginal Insertion of New, Once-used or Twice-used CIDR. *Reprod Dom Anim*. 2009;44: 80-2.
22. HAFK HD, LINDSEY GD. Intravaginal Progesterone Inserts. Environmental assessment: DEC International Inc. 1919 S. Stoughton Road PO Box 8050. Madison WI 53708-80502001.

SANIDAD

TRYPANOSOMA VIVAX EN UN RODEO LECHERO: SEGUIMIENTO Y ESTUDIO DE UN CASO

Abdala, A.^{1}; Suárez Archilla, G.¹; Welschen, N.¹; Camussone, C.²*

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

**abdala.alejandro@inta.gob.ar*

INTRODUCCIÓN

El *Trypanosoma vivax* es un hemoparásito que afecta animales ungulados domésticos y silvestres en África, Centro y Sud América, causando importantes pérdidas económicas (Dávila *et al.* 1998). El parásito es principalmente transmitido por la mosca tsetse y otros insectos hematófagos en África. En el nuevo mundo la mosca brava (*Stomoxys calcitrans*) y los tábanos (*Tabanidae*) serían los responsables de la transmisión mecánica entre animales infectados y sanos. La enfermedad cursa con anemia, emaciación y puede causar la muerte de los animales. El primer reporte en Argentina de *T. vivax* fue en el año 2006, en bovinos de carne de la provincia de Formosa (Monzón *et al.* 2008). Durante el verano 2016/17 se produjeron varios brotes en tambos del departamento Castellanos de la provincia de Santa Fe. Los mismos se caracterizaron por producir abortos, diarreas, disminución de la producción, muerte y descarte prematuro de vacas. El objetivo de este trabajo fue realizar un seguimiento epidemiológico de un brote de *T. vivax* en un rodeo lechero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con un rodeo lechero de 200 vacas totales del distrito de Ataliva (S. Fe), donde *T. vivax* (diagnosticado por observación de frotis y confirmado por PCR) produjo un brote en el otoño de 2017. Durante el mismo se registró la muerte de 17 animales, igual cantidad de abortos, disminución de la producción láctea del 37% respecto al mismo mes del año anterior, descarte prematuro de 20 vacas por mala condición general y gastos de tratamiento de 20 US\$ por animal. Como medida de control se aplicó diaceturato de diaminazene a la totalidad de las vacas. Pasado el brote y antes del inicio del verano siguiente, se seleccionó un grupo de 15 vacas sin registro de signos clínicos de tripanosomosis y que, al igual que el resto del rodeo, habían recibido tratamiento. A este grupo de animales (centinela) se lo evaluó quincenalmente entre el 13/11/17 y el 1/6/18. Se registró la temperatura rectal y se obtuvo una muestra de sangre con anticoagulante. Durante dicho período, ante la sospecha de signos clínicos de enfermedad en el resto de los animales del rodeo, se aplicó tratamiento, previa extracción de sangre con anticoagulante para observación microscópica de la presencia de *T. vivax*.

Las muestras de sangre se procesaron en laboratorio dentro de las 3 horas de extraídas. Se realizó observación de frotis finos (FF) coloreados con Giemsa y se determinó el volumen del paquete celular (PCV) a través de la técnica de microhematocrito. Sobre el mismo tubo de microhematocrito se realizó la búsqueda de tripanosomas por observación de movilidad en la interfase glóbulos blancos-plasma (buffy coat) descrita por Woo (1974). La presencia de *T. vivax* se confirmó mediante técnica de PCR (Cortez *et al.*, 2009)

RESULTADOS

Se realizaron 14 observaciones sobre el grupo centinela. En solo una de ellas (1/6/18) se detectó *T. vivax* en una vaca, presentando este animal temperatura corporal (38,7°C) y PCV (30%) normales. El mismo se encontraba próximo al parto y no había presentado signos clínicos en el día del muestreo, ni en los previos. Se indicó su tratamiento, a fin de evitar un posible aborto o el desencadenamiento de signos clínicos de la enfermedad. El resto de los animales centinela no manifestó signos clínicos de enfermedad durante todo el período, ni se observaron parásitos, comportándose sus parámetros de temperatura y PCV dentro de rangos normales.

Dos animales pertenecientes al rodeo lechero, fuera del grupo centinela, presentaron durante la primera semana de enero de 2018, decaimiento y disminución de la producción láctea. A ambos se les midió la temperatura rectal, se les extrajo sangre para PCV y FF, y se los trató con diaceturato de diaminazene. En solo uno de ellos se observó hipertermia (40°C), PVC de 24% y se detectó una alta parasitemia de tripanosomas, por microscopía. A pesar de haber recibido tratamiento, dicho animal no recuperó su nivel de producción láctea ni su condición corporal, por lo cual fue descartado.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La detección de *T. vivax* en solo un animal del grupo centinela y la presencia de solo un caso clínico de tripanosomosis en el resto del rodeo podría deberse a diversos factores: 1- La baja circulación del parásito en el rodeo. Esto puede atribuirse a una elevada inmunidad en los animales como consecuencia del brote sufrido el año anterior. Por otra parte, se detectó una importante sequía durante los meses de diciembre a marzo, con la consiguiente baja en la población de tábanos y mosca brava durante el período de observación. 2- La baja sensibilidad de las técnicas utilizadas para el diagnóstico de *T. vivax*, en casos de parasitemias muy bajas (Nantulya, 1990). Esto pudo haber sido una limitante para la detección de animales portadores o nuevas infecciones, que no evidenciaron signos clínicos. Sin embargo, estas técnicas son las únicas disponibles actualmente en Argentina. En este estudio, su aplicación unida a la habilidad del personal del establecimiento en reconocer signos clínicos permitió detectar tempranamente un caso clínico fuera del lote centinela.

A pesar del poco tiempo transcurrido desde su aparición en la zona central de Santa Fe, el comportamiento de la enfermedad coincidiría con lo descrito por varios investigadores (Osorio *et al.* 2008). Luego de su aparición como "ola epizootica" caracterizada por brotes con severas pérdidas, la incidencia de casos clínicos tiende a decrecer en los meses subsiguientes, debido a los tratamientos y al aumento de la inmunidad en los bovinos. Esto daría lugar a períodos "inter epizootias" caracterizados por baja cantidad de parásitos en sangre, durante los cuales se hace difícil su detección por las técnicas directas de observación. Sin embargo, la existencia del parásito en la población bovina podría ser monitoreada por la presencia de anticuerpos que perduran varios años (Osorio *et al.* 2008). Transcurrido el tiempo, esta seroprevalencia puede caer por debajo del 20%-30%. Esto, sumado a un aumento de la población de vectores, inmunosupresión en la población bovina por factores estacionales y presencia de portadores, podría desencadenar una nueva "ola epizootica".

Frente a esta situación se hace indispensable contar con una herramienta de diagnóstico serológico, que permita monitorear la prevalencia de infección en los rodeos afectados y su evolución en el tiempo. También podría ser utilizada para detectar reproductores portadores que sean comercializados, evitando su difusión a otros rodeos o zonas no afectadas del país.

BIBLIOGRAFÍA

- CORTEZ AP. 2009. Mol Cell Probes. 23:44-51.
DÁVILA A M R. 1998. Revue Élev. Méd. Pays. Trop. 51:1-7
NANTULYA V M. 1990. Rev. Sci. Tech. Jun ,9: 357-367.
MONZÓN C M. 2008. Vet. Arg. XXV 247: 492-498.
OSORIO *ET AL.* 2008. A review. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 103 (1): 1-20.
WOO P T K. 1974. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 58:319-326.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA EN TAMBOS DE LA CUENCA LECHERA CENTRAL DE ARGENTINA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS

Costamagna, D.^{1*}; Neder, V.¹; Gaggiotti, M.¹; Taverna, M.¹; Signorini, M.^{1,2}

¹ INTA EEA Rafaela; (Santa Fe).

² CONICET.

*costamagna.dianela@inta.gob.ar

1. INTRODUCCIÓN

En los establecimientos dedicados a la producción de leche, considerar la importancia del agua es indispensable. Su importancia está relacionada a tres aspectos fundamentales: el agua como nutriente más consumido por los animales, como medio para la higiene en las instalaciones del tambo y como factor en la salud de la población rural involucrada. El agua extraída generalmente no se somete a procesos de potabilización ni a monitoreos sistemáticos de su calidad. (Bettera *et al.*, 2011) Por consiguiente, el objetivo del trabajo fue evaluar la calidad microbiológica del agua utilizada para consumo humano y animal en establecimientos tamberos localizados en el centro-oeste de la provincia de Santa Fe y noreste de Córdoba.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección de tambos

Las muestras fueron tomadas en 34 tambos ubicados en la principal cuenca lechera de nuestro país. El área de estudio involucró a departamentos del centro-oeste de la provincia de Santa Fe y noreste de la provincia de Córdoba. Para la selección de estos tambos se consideraron tres tipos de sistemas productivos representativos de los sistemas de producción predominantes en la zona bajo estudio: pastoril con suplementación, pastoril con encierre estratégico y estabulados.

2.2. Muestras

En cada establecimiento se tomaron muestras durante dos estaciones contrastantes desde el punto de vista climático y del tipo de alimentación recibida por el rodeo lechero (otoño-invierno 2016 y primavera 2016-verano 2017).

El muestreo se realizó sobre las fuentes de agua de mayor utilización en el establecimiento y las más representativas de la calidad del agua del predio. En casi la totalidad de los casos, la fuente de agua más muestreada fue la perforación de las instalaciones de ordeño, considerando su importancia en la producción de leche (bebida animal e higiene de instalaciones) y además porque es la que se utiliza para bebida del personal (Pedraza, 1998; Herrero *et al.*, 2000). Además, se tomaron muestras provenientes del bombeo de agua de molinos de viento y bombas sumergibles que generalmente abastecían tanques de almacenamiento y piletas para abrevado animal.

Un total de 90 muestras de agua fueron recolectadas teniendo en cuenta los períodos húmedos y secos de la región en estudio. Para ello se aplicó un protocolo de muestreo, transporte y conservación de muestras de agua con fines múltiples (INTA, 2011).

2.3. Análisis

Los análisis microbiológicos y criterios de aceptabilidad considerados fueron los establecidos para agua potable en el Código Alimentario Argentino (art. 982): investigación de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en 100 ml, recuento de coliformes en 100 ml (NMP) y de bacterias aerobias mesófilas (BAM) por mililitro. Se empleó la metodología recomendada por Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012).

2.4. Análisis estadístico

En el momento de la toma de muestras, se recogieron datos relacionados con las posibles fuentes de contaminación del agua con bacterias: profundidad del nivel freático, profundidad y edad de los pozos, y características de la construcción del pozo: presencia de revestimiento protector, pendiente a su alrededor, posibles fuentes de contaminación dentro de los 100 m y su distancia a la boca del pozo, y ubicación en relación con el pozo (aguas arriba, a nivel o aguas abajo). Entre las posibles fuentes de contaminación tomadas en consideración en esta encuesta se encuentran los sistemas sépticos domésticos, corrales permanentes o temporarios para animales y lagunas de efluentes.

Se realizó un análisis univariado con tambo como efecto aleatorio para seleccionar las variables explicativas potencialmente asociadas con la concentración de contaminantes en la leche. Las variables con un valor de $P \leq 0,15$ se seleccionaron para un análisis multivariable posterior. Los análisis de regresión logística multivariable con tambo como efecto aleatorio se realizó utilizando un modelo mixto lineal generalizado (GLMM) para evaluar el efecto de las variables explicativas seleccionadas. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la evaluación microbiológica de las muestras de agua utilizadas en los establecimientos y los valores considerados aptos para uso humano e higiene de las instalaciones de ordeño se presentan en la Tabla 1.

El recuento de coliformes totales superó el valor límite para consumo humano según la normativa vigente del Código Alimentario Argentino (CAA) (>3 NMP/100ml) en el 64% de las muestras. En el caso del recuento de bacterias aerobias mesófilas, el 23% de las muestras superaron el valor establecido por el CAA (>500 UFC/ml). El 21% de las muestras presentaron valores de *E. coli* por encima de lo establecido, sucediendo lo contrario para *Pseudomonas*, donde casi la totalidad de las muestras presentó ausencia. De igual modo, no se evidenció contaminación con *Salmonella* en agua.

Tabla 1: Calidad microbiológica del agua proveniente de tambos de la cuenca lechera central de Argentina y porcentaje de muestras aptas

| Análisis | M ± DE ^a | Límite ^b | % aptas |
|---|---------------------|---------------------|---------|
| Bacterias aerobias mesófilas (UFC/ml) | 900 ± 2780 | <500 UFC/ml | 77 |
| Coliformes totales (NMP/100ml) | 219 ± 430 | <3 /100 ml | 36 |
| | % muestras | | |
| <i>Escherichia coli</i> (Presencia/100ml) | 19 | Ausencia/100 ml | 79 |
| <i>Salmonella</i> (Presencia/100ml) | 0 | Ausencia/100 ml | 100 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Presencia/100ml) | 1 | Ausencia/100 ml | 99 |

Referencias: ^a M: Media, DE: desvío estándar. ^b Según Código Alimentario Argentino para agua potable (CAA, 2007).

Un estudio realizado sobre las fuentes de agua de 10 tambos representativos ubicados en noreste de la provincia de Santa Fe, demostró que el 60% de los tambos presentaron recuentos de bacterias coliformes totales superiores al límite (>3/100ml) y en un 20% y 40 % de los casos se detectaron *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente (Ramos *et al.*, 2016). Estos resultados son coincidentes con los hallados en este estudio, con excepción de *Pseudomonas*.

EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE BACTERIAS COLIFORMES EN AGUA Y SU RELACIÓN CON PRÁCTICAS DE MANEJO EN LOS ESTABLECIMIENTOS

Como se puede observar en la Tabla 1, las mayores contaminaciones ocurrieron por la presencia de bacterias coliformes, indicando una probable contaminación con materia fecal. Para ello, se analizó su relación con variables de manejo que pudieran estar relacionadas. Las siguientes variables, profundidad del pozo ($P=0,276$), profundidad de la napa freática ($P=0,410$), la distancia de la perforación al tampo ($P=0,349$) y a la laguna de los efluentes ($P=0,400$), no estuvieron asociadas con la presencia de bacterias coliformes en el agua, mientras que el tipo de construcción del pozo ($P=0,001$), la edad de la construcción del pozo ($P=0,005$), la distancia de la perforación a los corrales de alimentación de las vacas lecheras ($P=0,055$) y al pozo ciego de la casa habitación ($P=0,012$) estuvieron asociadas con la presencia de estas bacterias en el agua (Tabla 2). Estos resultados son coincidentes con los reportados por Picone *et al.* (2003), en un estudio realizado en el área rural de la cuenca alta del arroyo Pantanoso en la provincia de Buenos Aires.

Tabla 2. Modelo de regresión logística multivariable final (selección hacia atrás) para la contaminación de bacterias coliformes en agua proveniente de tambos de la cuenca central de Argentina ($n= 90$ muestras de agua).

| VARIABLES PREDICTIVAS | P | OR | OR IC 95% |
|--|-------|------|----------------|
| Tipo de construcción | 0,011 | 4,17 | 2,462 – 33,627 |
| Edad de la construcción | 0,082 | 1,68 | 2,327 – 3,520 |
| Distancia de la perforación a los corrales de encierre | 0,027 | 3,28 | 2,875 – 7,057 |
| Distancia de la perforación a pozos ciegos | 0,059 | 1,23 | 2,235 – 4,553 |

Referencias: OR= Odds Ratio; IC= Intervalo de Confianza

Todo lo antes mencionado nos permite concluir que la contaminación del agua con bacterias coliformes depende de las condiciones de sitio específicas, que condicionan la calidad del agua y que podrían ser un riesgo tanto para la salud humana como animal.

4. CONCLUSIONES

Las causas de contaminación estuvieron ligadas a características constructivas de los pozos de abastecimiento de agua, a la distancia y ubicación de los mismos respecto a posibles fuentes de contaminación. Este factor podría ser un indicio para comenzar a considerar leyes y regulaciones relativas a la ubicación y construcción de los pozos futuros.

La mayoría de las muestras estuvieron contaminadas con bacterias del grupo coliformes, representando un alto riesgo sanitario. La planificación del uso racional del suelo para proteger las fuentes de agua, evitando en lo posible la localización cercana a fuentes potenciales de contaminación, sería una medida adecuada a fin de evitar la contaminación del agua.

Para promover la inocuidad de los alimentos y la protección a los consumidores, es necesario implementar programas de buenas prácticas de manejo y promover acciones preventivas para minimizar los riesgos para la salud humana y animal.

5. BIBLIOGRAFÍA

- APHA (American Public Health Association). 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Ed. Washington DC, USA: American Public Health Association.
- BETTERA, S; DIESER S; VIZZIO C; GEUNA G; DIAZ C; LARRIESTRA A, ODIERNO L; FRIGERIO C. 2011. Calidad microbiológica del agua utilizada en establecimientos lecheros de la zona de Villa Maria (Córdoba) Revista Argentina de Microbiología (2011) 43: 111-114SSN 0325-7541.
- CAA (Código Alimentario Argentino). 2007. Bebidas Hidricas, Agua y Agua Gasificada. Capitulo XII. Agua Potable. Artículo 982 (Res. Conj. SPRyRS y SAGPyA N° 68/2007 y N° 196/2007). http://www.anmat.gov.ar/codigoa/Capitulo_XII_Agua_2007-05.pdf
- DI RIENZO, J. A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., Y ROBLEDO, C. W. 2012. InfoStat version 2012. InfoStat group, FCA, Cordoba National University, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- HERRERO, M.A., MALDONADO MAY, V., SARDI, G., FLORES, M., ORLANDO, A. Y CARBÓ, L. 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), 237–245.
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2011. Protocolo de Muestreo, Transporte y Conservación de Muestras de Agua con Fines Múltiples (consumo humano, abrevado animal y riego). Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-protocolo_de_muestreo_de_aguas_inta.pdf
- PEDRAZA, C. 1998. Calidad de agua en Chile para uso en lechería. Trabajo presentado en el Seminario Internacional Calidad de Agua en predios lecheros y su impacto en la cadena agroindustrial. FEPALE- INIA-Universidad de la Republica, Montevideo, p.12.
- PICONE, L.I., ANDREOLI, Y.E, COSTA, J.L., APARICIO, V., CRESPO, L., NANNINI, J., TAMBASCIO, W. 2003. Evaluación de nitratos y bacterias coliformes en pozos de la cuenca alta del Arroyo Pantanoso (BS. AS). Revista RIA, 32 (1), 99-110.
- RAMOS, E., BADINO, O., THOMAS, J., SCHMIDT, E., WEIDMANN, R., Y JAUREGUI, J. 2016. Estudian la calidad de agua en tambos. Lácteos Informa, 13, 7.

MASTITIS AMBIENTALES: ASPECTOS DEL DIAGNÓSTICO, CONTROL Y TRATAMIENTO

Calvinho, L.¹; Neder, V.¹; Molineri, A.^{1,2}; Camussone, C.^{1,2}; Suárez Archilla, G.¹

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

calvinho.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Los patógenos ambientales de mastitis son aquellos cuyo reservorio primario es el lugar donde viven las vacas. Estos organismos constituyen un grupo heterogéneo, siendo los más prevalentes los estreptococos ambientales (EA), entre los cuales las especies más prevalentes son *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*, y los organismos coliformes. Los programas actuales de control de mastitis bovina basados en higiene durante el ordeño y terapia antibiótica de mastitis clínicas y de vaca seca fueron desarrollados en la década del 60. La aplicación de estas medidas clásicas ha conducido a un progreso considerable en el control de los patógenos contagiosos, cuyo reservorio principal son las glándulas mamarias (GM) infectadas. Sin embargo, son menos efectivos para controlar patógenos ambientales ya que no afectan el reservorio primario de estos organismos. Por lo tanto, las mastitis de tipo ambiental se han convertido en un problema significativo en muchos establecimientos que a través de un buen manejo sanitario lograron controlar mastitis causadas por organismos contagiosos (Todhunter et al., 1995; Hogan & Smith 2003). Paralelamente, a partir de la década de 2000 en Argentina, se han intensificado los sistemas de producción de leche con aumentos de la carga animal (Chimicz & Gambuzzi. 2007). Esto ha implicado en la mayoría de los casos la concentración de animales en áreas reducidas, con diseños de instalaciones adaptados de sistemas aplicados en otros países, que en ocasiones distan de ser adecuados para la alimentación y confort de los animales. De esta forma, se ha incrementado la exposición de los animales a los patógenos ambientales, generándose condiciones de estrés que favorecen la aparición de infecciones intramamarias (IIM).

CONCEPTOS SOBRE EPIDEMIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

Estreptococos ambientales

Se considera que las IIM subclínicas por EA son de corta duración, aunque algunas pueden convertirse en crónicas. En general, la duración promedio es de 12 días, con un rango de 1 a 370 días. En estudios realizados en vacas en pastoreo, se observó una duración promedio de 38 días de las infecciones por *S. uberis*, con una eliminación espontánea de las IIM entre un 45 a un 78%. Aproximadamente un 50% de las IIM por EA dan signos clínicos. Más del 90% de los casos clínicos se manifiestan por la presencia de leche anormal con o sin inflamación local, mientras que un bajo porcentaje puede cursar con signos sistémicos como fiebre y anorexia. El índice de nuevas IIM durante la lactancia no es constante, pero es mayor al principio de la lactancia y disminuye al avanzar la misma (Todhunter et al., 1995).

Coliformes

Las IIM causadas por organismos coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp.) tienen frecuentemente una corta duración en comparación con aquellas causadas por organismos patógenos contagiosos, entre los cuales los más prevalentes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma* spp. Aproximadamente el 80 a 90% de las IIM por coliformes que se presentan durante la lactancia pueden dar signos clínicos, con una alta proporción de casos agudos y un 10% de casos peragudos. Además, las infecciones se presentan generalmente al periparto, coincidiendo con la inmunosupresión que tiene lugar durante este periodo. La incidencia y prevalencia de IIM por coliformes es mayor en vacas en estabulación que en pastoreo. Sin embargo, la presencia de barro y las áreas de sombra donde se agrupan las vacas durante el verano, pueden contribuir a la aparición de mastitis por estos organismos en cualquier sistema productivo (Hogan & Smith, 2003; Lacy-Hubert, 2006).

El diagnóstico de IIM por EA no presenta grandes dificultades utilizando la metodología clásica de cultivo. Sin embargo, la dinámica de las IIM por coliformes durante la lactancia determina que, al tomar la muestra, es posible que la respuesta inflamatoria de la vaca haya sido adecuada para eliminar al microorganismo causante y por lo tanto, no se obtenga aislamiento bacteriano tras el cultivo. Por otra parte, cuando las mastitis por coliformes ocurren al periparto, es posible que la afección sistémica sea marcada, lo cual lleva a diagnósticos presuntivos que no contemplan la infección mamaria como inicio del cuadro y por lo tanto, no se obtengan muestras de leche hasta una etapa avanzada del proceso, lo cual conspira contra el aislamiento bacteriano (Shuster et al., 1996; Hogan & Smith, 2003).

CONTROL DE PATÓGENOS AMBIENTALES

Las medidas de control contra patógenos ambientales se deben dirigir a disminuir la exposición de los pezones a las fuentes de contaminación bacteriana y/o aumentar la resistencia de la vaca a las IIM causadas por estos organismos. La disminución de la exposición de los pezones durante el intervalo entre ordeños está íntimamente asociada al sistema de producción y la infraestructura del establecimiento, cuyo análisis escapa al objetivo de esta discusión. A continuación, se reseñarán prácticas de control tendientes a disminuir la carga de patógenos ambientales durante el ordeño, así como medidas para prevenir IIM al secado y aumentar la resistencia de la vaca, fundamentalmente en períodos en los cuales aumenta la susceptibilidad a estas infecciones. Asimismo, se describirán los aspectos básicos del tratamiento de mastitis por organismos ambientales.

Higiene pre ordeño

Considerando que los organismos que llegan a los pezones en el intervalo entre ordeños pueden ganar acceso a la glándula mamaria durante el ordeño, la antisepsia de los pezones pre ordeño (*predipping*) ha demostrado ser efectiva en reducir el número de bacterias y consecuentemente disminuir el riesgo de IIM por patógenos ambientales. El *predipping* seguido del secado de pezones, reduce la cantidad de cuartos infectados por exposición natural al compararlo con solamente lavado y secado de los pezones (Galton et al., 1986). Asimismo, en sistemas pastoriles un *predipping* de probada eficacia redujo significativamente los recuentos de EA comparado con un producto control (Goldberg et al, 1992). El *predipping* es además responsable de mantener una buena condición del pezón; por tanto el principio activo y la formulación del producto son determinantes en el mantenimiento de una piel sana y suave en cualquier situación climática, lo cual está asociado a un menor riesgo de IIM. Se deber tener en cuenta que si se utiliza *predipping*, es necesario secar los pezones para evitar deslizamientos de pezoneras, estimular mejor a las vacas y disminuir el riesgo de residuos químicos en la leche (Rasmussen et al, 1991).

Desinfección de pezones post ordeño

La desinfección de pezones post ordeño es una práctica dirigida fundamentalmente a la prevención de IIM por patógenos contagiosos; sin embargo, la incidencia de nuevas IIM por patógenos ambientales, que llegan a la piel del pezón en el intervalo entre ordeños, cuando el poder germicida de los antisépticos disminuye, es poco influenciada por esta práctica (Pankey, 1984). Desde el punto de vista práctico, debe tenerse en cuenta que luego del ordeño, el canal del pezón puede estar dilatado por aproximadamente 2 h (Neijenhuis et al., 2001). Durante este período, es crítico que el animal no se eche para evitar la contaminación de los pezones con materia orgánica, la cual inactiva el antiséptico. Si bien existen antisépticos con componentes para formar una barrera física entre el pezón y el ambiente en el intervalo entre ordeños, se considera que no han mostrado eficacia para reducir en forma significativa las nuevas infecciones mamarias por organismos ambientales (Hogan & Smith, 2003).

Uso de selladores internos de pezones al secado

Durante el período de secado se forma un tapón de queratina en el canal del pezón y en la base de la cisterna del pezón, que genera una barrera física natural para los organismos patógenos. Sin embargo, se demostró que entre un 5 a un 23% de los pezones no formaban un tapón luego de 50 días de la interrupción de la lactancia y que esos cuartos tenían un riesgo 1,8 veces mayor de contraer nuevas IIM (Dingwell et al., 2004). Para evitar nuevas IIM durante los períodos críticos, se desarrollaron en Irlanda en la década del 70, los selladores internos de pezones a base de subnitrito de bismuto, que forman un tapón artificial análogo al tapón de queratina que se forma durante el período seco, demostrándose su eficacia para prevenir el ingreso de patógenos mayores a la GM (Meaney, 1977; Crispie et al., 2004). El concepto fue retomado en la década de 2000, desarrollándose una preparación comercial a base de subnitrito de bismuto y parafina que fue evaluada en estudios de campo en Nueva Zelanda (Woolford et al., 1998) y el Reino Unido (Berry & Hillerton, 2002). En ambos estudios se determinó que, bajo las condiciones de campo de estos países, los selladores internos redujeron las nuevas IIM causadas fundamentalmente por *S. uberis* y *E. coli*. Debe tenerse en cuenta que esta práctica no va dirigida a eliminar IIM presentes al momento del secado, sino a prevenir nuevas. En rodeos con alta prevalencia de IIM al secado, se indica el uso de selladores internos en forma combinada con antibióticos para vaca seca a los efectos de mantener la capacidad de eliminar IIM que brinda el antibiótico y obtener el efecto preventivo del sellador durante el parto. Se ha demostrado que el uso combinado del sellador interno con cloxacilina para vaca seca, uno de los antimicrobianos más difundidos en nuestro país para el tratamiento al secado, logró una mayor protección contra nuevas IIM que el uso de la cloxacilina sola (Sanford et al., 2006).

Vacunas para organismos coliformes (*Escherichia coli*).

A fines de la década del 80 se llevaron a cabo estudios pioneros de vacunación en bovinos utilizando una cepa mutante rugosa de *E. coli* (cepa J5) inactivada, la cual genera protección cruzada contra infecciones causadas por muchos géneros de organismos Gram negativos que comparten antígenos comunes presentes en la cepa vacunal (González et al., 1989).

Está ampliamente establecido que la vacunación con *E. coli* J5 reduce la incidencia y la severidad de las mastitis clínicas causadas por bacterias coliformes aunque no previene las IIM. Las mastitis por coliformes más severas son las que se presentan durante el parto; siendo la migración demorada de los polimorfonucleares (PMN) neutrófilos desde la sangre hacia la GM y la disminución de su capacidad fagocítica el principal factor de riesgo asociado a la severidad de estas mastitis (Wilson & González, 2003; Hogan & Smith, 2003). Luego del desafío experimental el uso de la vacuna *E. coli* J5 bajo los protocolos usuales, produce un aumento en la velocidad de eliminación de las bacterias de la leche, un aumento moderado del recuento de células somáticas en leche (compuesto básicamente por PMN) y menor pérdida de producción de leche (Dosogne et al., 2002b; Wilson & González, 2003).

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. En muchos estudios se ha utilizado un esquema que comprende solamente las dos primeras dosis por adecuación a las prácticas de manejo más usuales de los establecimientos lecheros. Sin embargo, aunque ambos esquemas de aplicación se mostraron eficaces para reducir en forma significativa el porcentaje de mastitis clínicas por coliformes, los mayores porcentajes de reducción se observaron tras la aplicación del esquema de tres dosis (Wilson et al., 2007). Se ha estimado que cuando más del 1% de las vacas en lactancia son afectadas por mastitis clínica por coliformes, el uso de la vacunación con *E. coli* J5 arrojará un costo-beneficio positivo (DeGraves y Fetrow, 1991). Además, animales vacunados con un régimen de dos aplicaciones de *E. coli* J5 tuvieron menos del 75% de pérdida de producción de leche al presentar mastitis por *E. coli* que animales controles sin vacunar (Wilson et al., 2009). En Argentina, 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).

Otros modificadores de la respuesta inmune

Los modificadores de la respuesta o inmunomoduladores son agentes estimuladores de la respuesta inmune innata que se han utilizado individualmente o para potenciar regímenes de terapia antibiótica o de inmunización específica (vacunas) y pueden convertirse en una alternativa eficaz para complementar los métodos tradicionales de control de las enfermedades. Se han evaluado en forma experimental diversos compuestos para estimular la respuesta inmune en la etapa de involución temprana de la GM luego de la interrupción de la lactancia y durante el periparto, período en el cual la función inmune se encuentra deprimida. Dentro de estos compuestos, las citoquinas, proteínas de bajo peso molecular que actúan mediando interacciones complejas entre células del sistema inmune, han sido intensamente estudiadas (Zecconi, 2000). Recientemente, se ha evaluado el efecto de la aplicación de una citoquina regulatoria, el factor estimulante de las colonias de granulocitos, obtenida por tecnología recombinante y formulada con polietilenglicol (PEG rbG-CSF) aplicada aproximadamente 6 días antes del parto (Kimura et al., 2014). Esta citoquina genera un aumento significativo del número de PMN circulantes con un incremento de actividad de la mieloperoxidasa, permitiendo que estén disponibles para movilizarse durante la respuesta inflamatoria que se genera como respuesta a una infección. Estudios posteriores demostraron que vacas tratadas con PEG–rbG-CSF en concentración de 10 y 20 µg/kg 7 días antes de la fecha probable de parto, tuvieron un número significativamente menor de casos de mastitis clínicas post parto que los controles no tratados, sin afectar la composición y la producción de leche (Hassfurther et al., 2015).

TRATAMIENTO DE CASOS CLÍNICOS

Para instaurar un protocolo de terapia antibiótica acorde con los microorganismos prevalentes en un rodeo lechero, es necesario realizar un diagnóstico microbiológico sobre casos previos o contar con metodología de cultivo en tambo para tal efecto. En aquellos casos en los cuales los EA son los organismos prevalentes, la terapia intramamaria es de elección, ya que estos organismos se localizan principalmente en el compartimiento central de la GM y los conductos durante una IIM. Por lo tanto, administrando el antibiótico por esta vía es posible obtener altas concentraciones de la droga en leche. Las drogas de primera elección para tratar mastitis clínicas por EA son los antibióticos beta-lactámicos; prefiriéndose la penicilina si los organismos aislados son susceptibles a la misma o cefalosporinas de

primera generación. No se recomienda para estos casos el uso de cefalosporinas de tercera y cuarta generación como primera alternativa, ya que pueden favorecer la emergencia de resistencia de espectro extendido contra beta-lactámicos (Pyyrälä, 2009).

La mayoría de las mastitis por coliformes que ocurren promediando la lactancia son controladas por la respuesta inmune del hospedador, lo que ha llevado a cuestionar la eficacia de la terapia antibiótica en estos casos (Hogan & Smith, 2003; Pyyrälä, 2009). Sin embargo, en el caso de mastitis por coliformes al periparto es necesario instaurar terapia antimicrobiana sistémica para inhibir el desarrollo bacteriano en la GM. Las drogas de elección para estos casos son las fluoroquinolonas y la cefquinoma; habiéndose establecido que el uso de terapia antibiótica en estos casos no causa la liberación masiva de endotoxina que teóricamente podría contribuir al agravamiento de los cuadros clínicos (Dosogne et al., 2002a). Considerando que en estos casos se pueden desarrollar estados de shock endotóxico, será necesario hidratar al animal por la vía más adecuada de acuerdo con el estado clínico (Suojala et al., 2013). Además de la terapia antibiótica, tanto para IIM por EA como de coliformes, se recomienda la administración de antiinflamatorios no esteroides como terapia de sostén.

CONCLUSIONES

Las medidas de control de mastitis por organismos ambientales deben estar dirigidas a disminuir la exposición de los pezones a las fuentes de estos organismos y/o aumentar la resistencia de la vaca a las IIM causadas por estos organismos. La terapia antibiótica de los casos clínicos debe ser administrada sobre bases racionales para lograr tasas de curación adecuadas. Por último, las medidas complementarias destinadas a modular la respuesta inmune de los animales pueden atenuar los efectos de estas infecciones sobre todo durante la etapa crítica del periparto.

BIBLIOGRAFÍA

- BERRY EA, HILLERTON JE. 2002. The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. *J Dairy Sci.* 85:2512–2520.
- 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.
- CRISPIE F, FLYNN J, ROSS RP, HILL C, MEANEY WJ. 2004. Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal - a review. *Irish Vet. J.* 57:412-418.
- 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.
- DINGWELL RT, LESLIE KE, SCHUKKEN YH, SARGEANT JM, TIMMS LL, DUFFIELD TF, KEEFE GP, KELTON DF, LISSEMORE KD, CONKLIN J. 2004. Association of cow and quarter-level factors at drying off with new intramammary infections during the dry period. *Prev. Vet. Med.* 63:75-89.
- DOSOGNE H, MEYER E, STURK A, VAN LOON J, MASSART-LEËN AM, BURVENICH C. 2002a. Effect of enrofloxacin treatment on plasma endotoxin during bovine *Escherichia coli* mastitis. *Inflamm Res* 51, 201-205.
- DOSOGNE H, VANGROENWEGHE F, BURVENICH C. 2002b. Potential mechanism of action of J5 vaccine in protection against severe bovine coliform mastitis. *Vet. Res.* 33:1-12.
- GALTON DM, PETERSSON LG, MERRILL WG. 1986. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. *J. Dairy Sci.* 69:260-266
- GOLDBERG, J.J., WILDMAN, E.E., PANKEY, J.W., KUNKEL, J.R., HOWARD, D.E., MURPHY, B.M. 1992. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. *J Dairy Sci* 75:96-104.

- 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.
- HASSFURTHER RL, TERHUNE TN, CANNING PC. 2015. Efficacy of polyethylene glycol-conjugated bovine granulocyte colony-stimulating factor for reducing the incidence of naturally occurring clinical mastitis in periparturient dairy cows and heifers. *Am. J. Vet. Res.* 76:231-238.
- HOGAN J & SMITH KL. 2003. Coliform mastitis. *Vet. Res.* 34:507-519.
- KIMURA K, GOFF JP, CANNING P, WANG C, ROTH JA. 2014. Effect of recombinant bovine granulocyte colony-stimulating factor covalently bound to polyethylene glycol injection on neutrophil number and function in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:4842-4851.
- LACY-HUBERT, J. 2006. Ecology of *Streptococcus uberis* in a pasture-based dairying system. NMC 45th Annual Meeting Proceedings, January 22-25, 2006. Tampa, Florida
- MEANEY WJ. Effect of a dry period teat seal on bovine udder infection. 1977. *Irish J Agric Res* 16:293–299.
- NEIJENHUIS F, KLUNDEL GH, HOGEVEEN H. 2001. Recovery of cow teats after milking as determined by ultrasonographic scanning. *J. Dairy Sci.* 84:2599–2606
- PANKEY J.W. 1984. Postmilking teat antisepsis. *Vet. Clin. North Am.: Large Anim. Pract.* 6:335-348.
- POL M, CHAVES CJ, MAITO J, TIRANTE LI, VENA MM, LAGIOIA G, VIANO D, FANDINO F, BARRA F, TARABLA HD, CALVINHO LF. 2008. Eficacia de una vacuna polivalente conteniendo *Escherichia coli* J5. *Vet. Arg.* 245:331-342.
- PYÖRÄLÄ S. 2009. Treatment of mastitis during lactation. *Irish Vet. J.* 62 Supplement:40-44.
- SANFORD CJ, KEEFE GP, DOHOO IR, LESLIE KE, DINGWELL RT, DESCÔTEAUX L, BARKEMA H. 2006. Efficacy of using an internal teat sealer to prevent new intramammary infections in nonlactating dairy cattle. *JAVMA* 228:1565-1573.
- RASMUSSEN MD, GALTON DM, PETERSON LG. 1991. Effects of premilking teat preparation on spores of anaerobes, bacteria, and iodine residues in milk. *J Dairy Sci.*74:2472-2478.
- SHUSTER DE, LEE EK, KEHRLI ME. 1996. Bacterial growth, inflammatory cytokine production, and neutrophil recruitment during coliform mastitis in cows within ten days after calving, compared with cows at midlactation. *Am. J. Vet. Res.* 57:1569-1575.
- SUOJALA L, KAARTINEN L, PYÖRÄLÄ S. 2013. Treatment for bovine *Escherichia coli* mastitis – an evidence-based approach. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 36:521-531
- TODHUNTER, D.A., K.L. SMITH, AND J.S. HOGAN. 1995. Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 78:2366-2374.
- WILSON DJ, GONZÁLEZ RN. 2003. Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis. *Vet. Clin. Food Anim.* 19:187-197.
- WILSON DJ, MALLARD BA, BURTON JL, SCHUKKEN YH, GRÖHN YT. 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 DJ, MALLARD BA, BURTON JL, SCHUKKEN YH, GRÖHN YT. 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.
- WOOLFORD MW, WILLIAMSON JH, DAY AM, COPEMAN PJA. 1998. The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Vet* 46:12–19.
- ZECCONI, A., 2000. Present and future of modulation of mammary gland immunity. In: Zeconi, A. (Ed.), *Proc. IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland.* pp. 397–402.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN GANADO LECHERO DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

Vanzini, V.^{1*}; Bergamasco M.²; Aguirre N.¹; Torioni de Echaide, S.¹; Muñoz P.²; Caraccia O.²

¹ INTA EEA Rafaela. CC 22, CP 2300, Rafaela (Sta. Fe), Argentina.

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

*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, retenciones de placenta luego del aborto o parto, con el consecuente gasto en medicamentos y atención profesional y aumento de la tasa de reposición por venta anticipada

En nuestro país, el control de la brucelosis bovina tiene como pilares la vacunación sistemática de las hembras jóvenes con *Brucella abortus* cepa 19 y el diagnóstico serológico y 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 - 60 años. En el año 2002, se comenzó a implementar el "Plan superador de control y erradicación de la brucelosis bovina" (SENASA, Res. 497/02) el cual estuvo vigente hasta que, a partir de abril de 2019, entró en vigencia el "Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina", (SENASA, Res. 67/2019).

En el año 2015, luego de un trabajo conjunto entre el INTA de Rafaela y el Ministerio de la Producción, 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. En el año 2017 se realizó una actualización hasta el año 2016, sistematizando los resultados derivados de la vigilancia epidemiológica en ganado lechero (Vanzini et al., 2017). El objetivo de este trabajo es actualizar la información sobre vigilancia epidemiológica en ganado lechero originada durante la vigencia de la Res. 497/02, incorporando resultados hasta el año 2018. Esta información podrá ser utilizada para la evaluación futura del nuevo plan de control y erradicación (SENASA, Res. 67/2019).

MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Origen y conservación de las muestras

Las Muestras de Leche del Total de un Ordeño (MLTO) fueron obtenidas, por las empresas lácteas, del tanque de frío de cada establecimiento evaluado, cada cuatro meses. Se obtuvieron 1-3 ml de leche por tambo y se conservaron congeladas hasta su procesamiento. En la mayoría de los casos no se agregaron conservantes y sólo algunas empresas adicionaron azidiol (azida sódica 3,6% + cloranfenicol 0,15%) a la muestra para preservar la composición físico-química de la leche a una concentración final del 0,02%, que no interfiere con la prueba (Vanzini et al., 2012)

2.- 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 mayor a 22 (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, se volvieron a muestrear dentro de los 15 días y sometidos a un nuevo análisis. Aquellas MLTO que resultaron nuevamente positivas, fueron consideradas como tal e informadas.

Se consideraron infectados aquellos establecimientos que tuvieron muestras con resultados positivos en dos de los tres muestreos anuales o cuando al analizar muestras de suero sanguíneo individuales se detectaron 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) se analizaron 905/2050 (44,1%) y 1430/2050 (69,8%) de los tambos durante 2017 y 2018, respectivamente. La proporción de tambos positivos fue de 0,3 % (3/905) para el año 2017 y 0,1% (1/1430) para 2018 (Tabla 1).

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% (Vanzini et al., 2017).

Tabla 1. Distribución anual de los resultados con la prueba ELISA-i durante el período 2014-2018, agrupados por zonas y departamentos.

| Departamentos | 2014 | | | | | | 2015 | | | | | | 2016 | | | | | | 2017 | | | | | | 2018 | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|------------|-----|----|------|-----|-----|-----|
| | N | N | % | Pos | % | % | N | n | % | Pos | % | % | N | n | % | Pos | % | % | N* | n | % | Pos | % | % | N* | n | % | Pos | % | % | N* | n | % | Pos | % | % |
| Belgrano | 24 | 11 | 45,8 | 1 | 9,1 | 7,1 | 24 | 14 | 58,3 | 1 | 7,1 | 0,0 | 18 | 9 | 50 | 0 | 0,0 | 0,0 | 17 | 11 | 64,7 | 1 | 9,1 | 9,1 | 17 | 13 | 76,5 | 0 | 0,0 | 0,0 | 17 | 13 | 76,5 | 0 | 0,0 | 0,0 |
| Caseros | 23 | 5 | 21,7 | 0 | 0,0 | 0,0 | 20 | 4 | 20 | 0 | 0,0 | 0,0 | 17 | 4 | 23,5 | 0 | 0,0 | 0,0 | 18 | 4 | 22,2 | 0 | 0,0 | 0,0 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Constitución | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gral. López | 135 | 5 | 3,7 | 0 | 0,0 | 0,0 | 120 | 14 | 11,7 | 0 | 0,0 | 0,0 | 111 | 7 | 6,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | 100 | 13 | 13 | 0 | 0,0 | 0,0 | 100 | 22 | 22 | 2 | 2,0 | 2,0 | 100 | 22 | 22 | 2 | 2,0 | 2,0 |
| Iriondo | 145 | 93 | 64,1 | 2 | 2,2 | 4,8 | 146 | 105 | 71,9 | 5 | 4,8 | 2,2 | 133 | 92 | 69,2 | 2 | 2,2 | 2,2 | 113 | 85 | 75,2 | 0 | 0,0 | 0,0 | 113 | 93 | 82,3 | 3 | 3,2 | 3,2 | 113 | 93 | 82,3 | 3 | 3,2 | 3,2 |
| La Capital | 128 | 72 | 56,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | 126 | 69 | 54,8 | 0 | 0,0 | 0,0 | 106 | 58 | 54,7 | 0 | 0,0 | 0,0 | 105 | 52 | 49,5 | 0 | 0,0 | 0,0 | 105 | 62 | 59 | 0 | 0,0 | 0,0 | 105 | 62 | 59 | 0 | 0,0 | 0,0 |
| Rosario | 21 | 12 | 57,1 | 1 | 8,3 | 0,0 | 17 | 8 | 47,1 | 0 | 0,0 | 0,0 | 19 | 7 | 36,8 | 0 | 0,0 | 0,0 | 15 | 3 | 20 | 0 | 0,0 | 0,0 | 15 | 4 | 26,7 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| San Cristóbal | 820 | 376 | 45,9 | 1 | 0,3 | 1,3 | 796 | 377 | 47,4 | 5 | 1,3 | 2,3 | 717 | 348 | 48,5 | 8 | 2,3 | 2,3 | 687 | 279 | 40,6 | 6 | 2,2 | 2,2 | 687 | 550 | 80,1 | 8 | 1,5 | 1,5 | | | | | | |
| San Jerónimo | 138 | 75 | 54,3 | 5 | 6,7 | 5,1 | 129 | 78 | 60,5 | 4 | 5,1 | 4,1 | 123 | 73 | 59,3 | 3 | 4,1 | 4,1 | 112 | 72 | 64,3 | 3 | 4,2 | 4,2 | 112 | 85 | 75,9 | 2 | 2,4 | 2,4 | | | | | | |
| San Justo | 96 | 71 | 74 | 1 | 1,4 | 3,2 | 90 | 63 | 70 | 2 | 3,2 | 1,9 | 77 | 52 | 67,5 | 1 | 1,9 | 1,9 | 50 | 43 | 86 | 1 | 2,3 | 2,3 | 50 | 43 | 86 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| San Lorenzo | 35 | 11 | 31,4 | 2 | 18,2 | 0,0 | 34 | 10 | 29,4 | 0 | 0,0 | 0,0 | 36 | 7 | 19,4 | 0 | 0,0 | 0,0 | 34 | 7 | 20,6 | 0 | 0,0 | 0,0 | 34 | 7 | 20,6 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| San Martín | 306 | 72 | 23,5 | 7 | 9,7 | 7,8 | 308 | 77 | 25 | 6 | 7,8 | 3,1 | 293 | 65 | 22,2 | 2 | 3,1 | 3,1 | 293 | 77 | 26,3 | 2 | 2,6 | 2,6 | 293 | 169 | 57,7 | 3 | 1,8 | 1,8 | | | | | | |
| Totales Zona 1 | 1873 | 803 | 42,9 | 20 | 2,5 | 2,8 | 1812 | 819 | 45,2 | 23 | 2,8 | 2,2 | 1652 | 722 | 43,7 | 16 | 2,2 | 2,2 | 1546 | 646 | 41,8 | 13 | 2,0 | 2,0 | 1546 | 1048 | 67,8 | 18 | 1,7 | 1,7 | | | | | | |
| Castellanos | 1366 | 552 | 40,4 | 3 | 0,5 | 0,7 | 1253 | 555 | 44,3 | 4 | 0,7 | 0,2 | 1194 | 515 | 43,1 | 1 | 0,2 | 0,2 | 1113 | 421 | 37,8 | 2 | 0,5 | 0,5 | 1113 | 811 | 72,9 | 1 | 0,1 | 0,1 | | | | | | |
| Las Colonias | 1017 | 569 | 55,9 | 3 | 0,5 | 0,2 | 1031 | 566 | 54,9 | 1 | 0,2 | 0,2 | 973 | 509 | 52,3 | 1 | 0,2 | 0,2 | 937 | 484 | 51,7 | 1 | 0,2 | 0,2 | 937 | 619 | 66,1 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| Totales Zona 2 | 2383 | 1121 | 47 | 6 | 0,5 | 0,4 | 2284 | 1121 | 49,1 | 5 | 0,4 | 0,2 | 2167 | 1024 | 47,3 | 2 | 0,2 | 0,2 | 2050 | 905 | 44,1 | 3 | 0,3 | 0,3 | 2050 | 1430 | 69,8 | 1 | 0,1 | 0,1 | | | | | | |
| 9 de Julio | 19 | 15 | 78,9 | 2 | 13,3 | 18,8 | 16 | 16 | 100 | 3 | 18,8 | 11,8 | 17 | 17 | 100 | 2 | 11,8 | 11,8 | 17 | 9 | 52,9 | 0 | 0,0 | 0,0 | 17 | 13 | 76,5 | 2 | 15,4 | 15,4 | | | | | | |
| Gral. Obligado | 31 | 24 | 77,4 | 0 | 0,0 | 7,1 | 30 | 14 | 46,7 | 1 | 7,1 | 0,0 | 29 | 11 | 37,9 | 0 | 0,0 | 0,0 | 26 | 5 | 19,2 | 0 | 0,0 | 0,0 | 26 | 7 | 26,9 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| San Javier | 22 | 10 | 45,5 | 0 | 0,0 | 0,0 | 19 | 1 | 5,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | 17 | 8 | 47,1 | 0 | 0,0 | 0,0 | 15 | 6 | 40 | 0 | 0,0 | 0,0 | 15 | 5 | 33,3 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| Vera | 22 | 22 | 100 | 0 | 0,0 | 0,0 | 19 | 19 | 100 | 0 | 0,0 | 0,0 | 13 | 13 | 100 | 0 | 0,0 | 0,0 | 13 | 13 | 100 | 0 | 0,0 | 0,0 | 13 | 13 | 100 | 0 | 0,0 | 0,0 | | | | | | |
| Totales Zona 3 | 94 | 71 | 75,5 | 2 | 2,8 | 8,0 | 85 | 50 | 58,8 | 4 | 8,0 | 4,1 | 76 | 49 | 64,5 | 2 | 4,1 | 4,1 | 71 | 33 | 46,5 | 0 | 0,0 | 0,0 | 71 | 38 | 53,5 | 2 | 5,3 | 5,3 | | | | | | |
| Totales Provincia | 4350 | 1995 | 45,9 | 28 | 1,4 | 1,6 | 4181 | 1990 | 47,6 | 32 | 1,6 | 1,1 | 3895 | 1795 | 46,1 | 20 | 1,1 | 1,1 | 3667 | 1584 | 43,2 | 16 | 1,0 | 1,0 | 3667 | 2516 | 68,6 | 21 | 0,8 | 0,8 | | | | | | |

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

En la Figura 1 puede observarse la evolución de la proporción de MLTO positivas a la prueba ELISA-i aplicada a la vigilancia epidemiológica en ganado lechero, en los cinco departamentos donde se concentra aproximadamente el 90% de la producción provincial, durante el período 2000 – 2018.

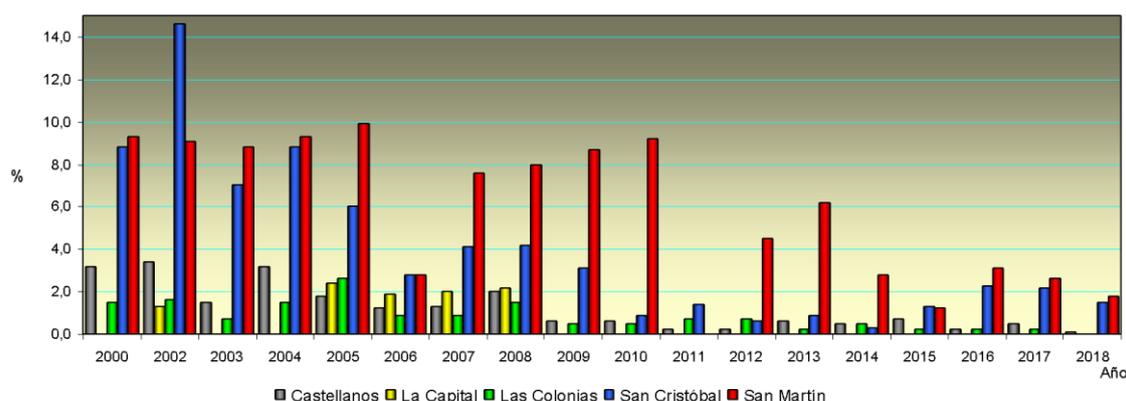


Figura 1. Evolución de la proporción de muestras de leche total de un ordeño (MLTO) positivas a *B. abortus* mediante ELISA-i durante el período 2000 – 2018, en cinco departamentos de la provincia de Santa Fe.

En el departamento San Cristóbal se observó una declinación sostenida de la proporción de muestras positivas hasta el año 2014, incrementándose levemente en el período 2015-2017, para nuevamente comenzar a declinar.

En el departamento San Martín, la producción agrícola compite fuertemente con la lechera en virtud de la calidad de suelos, por lo tanto, la migración hacia la agricultura es frecuente. La cantidad de tambos se redujo de 349 tambos en 2006 a 293 en 2016. En la interpretación epidemiológica de los resultados es preciso considerar que entre los años 2013 a 2015 varios de los tambos positivos pertenecían al mismo dueño y si bien poseen números de RENSPA diferentes, las unidades productivas están cercas entre sí e intercambian animales, por lo tanto, se los consideró como una sola unidad productiva (Figura 1).

CONSIDERACIONES FINALES

En los departamentos Castellanos y Las Colonias, en los últimos diez años, se observa una situación consolidada con menos del 1% de establecimientos positivos a la prueba ELISA-i. Esto indica que se alcanzó el límite máximo utilizando la estrategia propuesta para la zona 2 en el plan de control y erradicación (SENASA, Res. 497/02). Por otra parte, en función de la proporción de tambos evaluados que en el año 2018 estuvo próximo al 70%, se observa que están dadas las condiciones para iniciar la etapa de erradicación de la enfermedad.

Para los establecimientos lecheros, el nuevo Plan nacional de control y erradicación de la brucelosis de los bovinos" (SENASA, res. 67/2019), establece la realización de 4 muestreos anuales de leche obtenida del tanque, las muestras se analizan en laboratorios de la red de SENASA y los resultados se cargan *on line* al Sistema Integrado de Gestión de Laboratorios (SIGLAB) donde se centraliza la información de la vigilancia epidemiológica en ganado lechero, lo cual representa una evolución respecto al sistema anterior. Para completar la vigilancia epidemiológica, se deberían consolidar muestreos sistemáticos en lugares donde se concentran animales (remates ferias, exposiciones) e industrias frigoríficas y, de esta manera, incluir al ganado de cría. Una vez conocido el estatus de los

establecimientos de cría, se debería considerar una reformulación de la estrategia de intervención y de ser posible, considerar la erradicación incluyendo al departamento La Capital.

En el Código Zoosanitario de la OIE (2019), está contemplada la posibilidad de declarar un País o zona libre de infección por *Brucella* en bovinos con vacunación (art 8.4.5). En Argentina, la única vacuna aprobada es a base de *Brucella abortus* cepa 19. Si bien esta vacuna genera protección y es estable, estimula la producción de anticuerpos que interfieren con las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico, generando falsos positivos. En el caso de que se dieran las condiciones para demarcar una zona de erradicación que podría comprender a los departamentos Castellanos, La Capital y Las Colonias, debería considerarse reemplazar la vacuna actual por una vacuna elaborada con una cepa rugosa que no produzca ese efecto indeseable, lo cual simplificaría la interpretación epidemiológica de los resultados serológicos.

Además, la eventual creación de un área de erradicación, debería incluir el control de movimientos para 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.

BIBLIOGRAFÍA

- 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. 2019. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Capítulo 8.4.- Infección por *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* (última actualización, 2018).
- 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
- VANZINI, V.; BERGAMASCO, M.; CERVERA, M.; AGUIRRE, N.; TORIONI DE ECHAIDE, S. Y MUÑOZ, P. Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la provincia de Santa Fe (Actualización). INTA – Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Ediciones INTA. Información Técnica de Producción Animal, Septiembre 2017. Publicación Miscelánea Año V - Nº 2. ISSN 2314 – 3126.

GENÉTICA

CIENCIA DE DATOS. CÁLCULO AUTOMÁTICO DE LAS PROPORCIONES RACIALES Y ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS DE LA PRODUCCIÓN DE VACAS CRUZAS

Franco, L.; Vera, M.; Pece, M.; Maciel, M.; Salado, E.; Romero, L.; Plattner, A.; Schmidt, G.; Arias, D.*

INTA EEA Rafaela (Santa Fe).
* franco.liliana@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

Uno de los nuevos campos de estudio interdisciplinarios es la ciencia de los datos en la que se combinan diferentes áreas de conocimiento tales como minería de datos, estadística, aprendizaje automático, entre otras, aplicadas a bases de datos estructuradas y no estructuradas. A través de herramientas informáticas es posible preparar, sondear y explorar datos para sacar información oculta en ellos. Tecnologías como la recolección masiva de datos, computadoras capaces de almacenarlas y algoritmos capaces de procesarlos están hoy disponibles para poder obtener la información más importante de las bases de datos y así poder tomar decisiones. De esta manera es posible generar información a modo de asociaciones, secuencias, pronósticos, clasificaciones y agrupamientos.

La oportunidad de contar con información productiva de un tambo de vacas cruzas desde el año 2003 a la fecha posibilitó utilizar estas técnicas de estudio para conocer, de manera descriptiva, sus características y así ofrecer un mayor entendimiento del sistema productivo.

En los tambos con disponibilidad de herramientas informáticas, los datos recopilados a nivel de campo son incorporados a programas de gestión disponibles en el mercado. Sin embargo, la mayoría de estos programas, están orientados a gestionar la información de vacas de razas puras y por lo tanto tienen algunas limitaciones para administrar rodeos de vacas originadas por cruzamiento de diferentes razas. En estos casos la información de la genealogía y el cálculo automático de las proporciones raciales se torna importante y necesario para la exacta identificación del animal y la posterior caracterización productiva de los mismos.

El objetivo de este trabajo fue determinar en forma automática la proporción racial de las vacas cruzas obtenidas de un cruzamiento alterno entre las razas puras holando y jersey en función de las razas de los padres y presentar las estadísticas descriptivas de la información productiva, haciendo uso de las tecnologías de aprendizaje de máquina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron de la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) con vacas cruzas (holando x jersey) pertenecientes a la estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA, situada sobre la ruta nacional N°34 en el km 227 a 7 km de la ciudad de Rafaela, en el centro oeste de la Provincia de Santa Fe (lat Sud: 31°12', Long Oeste: 61°30' a 99 msnm). La estrategia de cruzamientos fue incorporada a la unidad en el 2002. El rodeo inicial se constituyó con vacas cruzas compradas y otras de la raza holando pertenecientes a la institución. Las vacas puras holando posteriormente fueron cruzadas con toros jersey conformando así la primera generación o filial 1 (F1) del cruzamiento. Los detalles del

cruzamiento y las estrategias de manejo implementado a lo largo de los años están publicados en Pece y col. (2016), Vera y col. (2016) y Vera y col. (2017).

El grupo de reproducción del Área Producción Animal fue el encargado de relevar y sistematizar la información reproductiva, los eventos sanitarios y los datos productivos en diversos programas de gestión de tambos. A los efectos de unificar la información histórica, se consolidaron los datos en una única herramienta de programa de gestión de tambo comercial.

La información fue altamente dependiente de la calidad de los datos tomados a campo y de la frecuencia de carga de los mismos en el programa. Los datos se relacionaron con eventos y actividades que realizó a diario el grupo de reproducción y se fueron almacenando en una ficha individual para cada animal desde su nacimiento hasta su venta o muerte. Esto permitió realizar el análisis, tomar decisiones de manejo y disponer de listados de acción en forma permanente. Los datos productivos (kg de leche, porcentaje de grasa y porcentaje de proteína) por vaca controlada se originaron de la carga mensual del Control Lechero Oficial. El primer control lechero oficial de vacas cruzas registrado en el programa tiene fecha 10/6/2003.

A los fines de este estudio, se utilizó como base de datos la copia de seguridad del día 25/04/2019 que incluyó: identificación de la vaca (RP), fecha de nacimiento, raza, filial o generación, número de lactancia, fecha de inicio de la lactancia, fecha de control lechero, dato de la producción de kilogramos de leche, porcentaje de grasa, porcentaje de proteína, identificación de la madre (RP madre), raza de la madre, identificación del padre (HBA), raza del padre. En principio se consideró la totalidad de datos contenidos en la base del tambo con vacas cruzas que tuvieran al menos una lactancia registrada en el programa informático, con al menos un dato de control lechero.

Se realizó un análisis mediante la integración del motor de base de datos MS SQL Server 2012 Express, análisis estadístico en R (R Core Team, 2017) y MS Excel.

Cálculo de las filiales y proporciones raciales de vacas cruzas:

A fin de determinar las proporciones raciales de las vacas cruzas se realizó el cálculo automático de la filial o generación para validar lo existente en la base de datos y luego asignar a cada una la proporción racial holando y jersey según corresponda el orden de cruzamiento. Se tomaron como base los datos de la raza o proporción racial de la madre y la raza del padre. Se utilizaron como grupo originario del plantel las vacas puras holando que fueron cruzadas con toros puros jersey y el grupo de vacas cruzas compradas, en las cuales la información de madre y padre no se disponía en la base de datos. Se registraron 78 vacas cruzas compradas y 90 vacas puras con al menos una lactancia registrada en el programa informático y al menos un dato de control lechero.

El sistema de cruzamiento fue alternado, esto significa que en cada generación se alternó la raza del toro padre utilizado. En el caso de una vaca crusa cuyo padre fue un toro jersey puro, fue servida con un toro holando puro y así sucesivamente en las siguientes generaciones. Se identificaron cruzamientos que no respondieron al sistema alterno. En estos casos una vaca crusa cuyo padre era un toro holando puro fue servida con un toro holando puro nuevamente, o bien, una vaca crusa cuyo padre fue un toro jersey fue servida con un toro jersey puro nuevamente. Del total de vacas cruzas (592 animales), el 86% se originó de cruzamientos alternados correctos y solo el 14% de cruzamientos no alternos.

Las filiales se identificaron con la sigla F, consecutivamente con el número de la generación (F1: primera generación de cruzamiento, F2: segunda generación de cruzamiento, y así sucesivamente). Le siguieron las siglas de la raza del padre y de la madre en las F1 y del abuelo materno en las filiales siguientes (F2 en adelante).

Como ejemplo para cruzamiento alternado iniciando con una madre holando pura y un padre jersey puro, se presentó:

F1JH: F (filial) 1 (primera generación) J (raza del padre) H (raza de la madre). Razas parentales puras.

F2HJ: F (filial) 2 (segunda generación) H (raza del padre) J (raza del abuelo materno). El padre fue holando puro y la madre una cruce F1JH.

F3JH: F (filial) 3 (generación) J (raza del padre) H (raza del abuelo materno). El padre fue un jersey puro y la madre una cruce F2HJ.

El cálculo de las proporciones raciales se realizó de acuerdo a la proporción fraccionaria de las filiales (Cuadro 1).

Cuadro 1. *Detalle de las proporciones fraccionarias para cada una de las filiales de cruzamientos entre dos razas (holando y jersey).*

| Filial | Proporción holando | Proporción jersey |
|--------|--------------------|-------------------|
| F1JH | 1/2 | 1/2 |
| F1HJ | 1/2 | 1/2 |
| F2HJ | 3/4 | 1/4 |
| F2JH | 1/4 | 3/4 |
| F3HJ | 5/8 | 3/8 |
| F3JH | 3/8 | 5/8 |

Referencias: F1JH: primera generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza jersey y la madre es de la raza holando; F1HJ: primera generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza holando y la madre es de la raza jersey; F2HJ: segunda generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza holando y la madre es cruce F1JH; F2JH: segunda generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza jersey y la madre es cruce F1HJ; F3HJ: tercera generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza holando y la madre es cruce F2JH; F3JH: tercera generación de cruzamiento cuyo padre es de la raza jersey y la madre es cruce F2HJ.

Análisis de los datos productivos:

Una vez determinada la proporción racial de cada individuo se procedió al análisis de los datos productivos. La información que fue considerada durante el procesamiento de los datos fue: RP de la vaca (identificación del animal), edad en meses (días desde la fecha de nacimiento a la fecha de inicio de lactancia), raza de la vaca (holando, jersey, cruce), filial de la vaca (número de generación de cruzamiento), proporción racial holando, proporción racial jersey, RP de la madre (identificación de la madre), raza de la madre (holando, jersey, cruce), filial de la madre (número de generación de cruzamiento de la madre), HBA del padre (identificación del padre), raza del padre (holando, jersey), número de la lactancia, fecha de inicio de lactancia, estación del inicio de lactancia (Otoño: meses [1,6], Primavera: meses [7,12]), año de inicio de lactancia, días totales de lactancia, kilogramos de leche, grasa y proteína corregido a 305 días por lactancia, porcentaje de grasa y proteína corregido a 305 días por lactancia.

En primer lugar se calcularon los valores de kilogramos de grasa y proteína en función de los kilogramos de leche y los porcentajes de grasa y proteína para cada uno de los registros mensuales de cada vaca cruce. Se estandarizaron a 305 días las producciones de kilogramos de leche, grasa y proteína según el método de Fleischman (Craplet y Thibier, 1973; Moiola, 1996). Para ello, las lactancias debían superar los 240 días, tener un intervalo entre controles entre 30 y 45 días y un mínimo de 6 controles de producción registrados por lactancia.

De 2354 lactancias de vacas cruces con al menos 1 control lechero con dato de leche, 504 tuvieron menos de 240 días de lactancia y 1850 lactancias fueron mayores a 240 días. De las 1850 lactancias, 786 tuvieron al menos un caso de intervalos entre controles superiores a 45 días. Se descartaron en total 1290 lactancias. Se estandarizaron 1064 lactancias, pertenecientes a 592 vacas. De estas últimas se descartaron

153 lactancias correspondientes a 88 vacas cuyos cruzamientos no respetaron el orden de cruzamiento alterno. Finalmente, el grupo analizado fue de 504 vacas cruzas con 910 lactancias.

RESULTADOS

Las proporciones raciales calculadas para las filiales y la cantidad de vacas para cada filial se detallan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. *Filiales calculadas, porcentaje de raza holando (%H), porcentaje de raza jersey (%J) y cantidad de vacas para las generaciones de 1 a 6 (F1 a 6) con padres holando puro y madres cruzas (HJ) y con padres jersey puro y madres cruzas (JH).*

| Filial | %H | %J | Cantidad |
|--------------------|-------|-------|----------|
| F1HJ | 50 | 50 | 19 |
| F1JH | 50 | 50 | 133 |
| F2HJ | 75 | 25 | 141 |
| F2JH | 25 | 75 | 9 |
| F3HJ | 62,5 | 37,5 | 10 |
| F3JH | 37,5 | 62,5 | 108 |
| F4HJ | 68,75 | 31,25 | 43 |
| F4JH | 31,25 | 68,75 | 13 |
| F5HJ | 65,63 | 34,37 | 12 |
| F5JH | 34,37 | 65,63 | 12 |
| F6HJ | 67,19 | 32,81 | 4 |
| Total vacas | | | 504 |

Un 30,16% del rodeo analizado fue F1, 29,76% F2, 23,41% F3, 11,11% F4, 4,76% F5 y 0,76% F6. El 41,67% del rodeo posee mayor proporción de la raza holando y el 28,17% posee mayor proporción de la raza jersey.

El número de lactancias corregidas a 305 días por filial de las vacas cruzas se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. *Cantidad de 1° a 5° o más lactancias por filiales de 1 a 6 (F1 a F6).*

| Filial | Proporción H | Proporción J | 1° | 2° | 3° | 4° | 5° o más | Lactancias |
|--------------|--------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| F1HJ | 50 | 50 | 13 | 11 | 9 | 4 | 7 | 44 |
| F1JH | 50 | 50 | 63 | 57 | 60 | 49 | 43 | 272 |
| F2HJ | 75 | 25 | 87 | 77 | 43 | 38 | 25 | 270 |
| F2JH | 25 | 75 | 4 | 6 | 3 | 2 | 1 | 16 |
| F3HJ | 62,5 | 37,5 | 7 | 3 | 2 | 1 | 0 | 13 |
| F3JH | 37,5 | 62,5 | 60 | 44 | 34 | 13 | 16 | 167 |
| F4HJ | 68,75 | 31,25 | 29 | 18 | 8 | 4 | 5 | 64 |
| F4JH | 31,25 | 68,75 | 9 | 3 | 5 | 6 | 2 | 25 |
| F5HJ | 65,63 | 34,37 | 7 | 5 | 4 | 2 | 0 | 18 |
| F5JH | 34,37 | 65,63 | 5 | 3 | 5 | 2 | 1 | 16 |
| F6HJ | 67,19 | 32,81 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Total | | | 288 | 228 | 173 | 121 | 100 | 910 |

Sin considerar las lactancias correspondientes a las F1, donde las proporciones raciales son las mismas (50 y 50%), del resto de las lactancias (594), un 40,66% correspondieron a hembras con mayor proporción de la raza holando y 24,62% a hembras con mayor proporción de la raza jersey.

Del total de lactancias (910), 31,65 % correspondió a las primeras lactancias, 25,05 a segundas lactancias, 19,01 a terceras lactancias, 13,30 a cuartas lactancias y 10,99 a quintas lactancias. Respecto a las filiales, 34,73% fueron lactancias de las F1, 31,43% de F2, 19,78 % de F3, 9,78% de F4, 3,74% de F5 y 0,55% de F6.

Las estadísticas descriptivas de las 910 lactancias estandarizadas a 305 días se detallan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Valores mínimos, primer cuartil, mediana, media, tercer cuartil y máximo de las variables analizadas: edad en meses, año de lactancia, mes de lactancia, número de lactancia, días totales de lactancia, kilogramos de leche, grasa y proteína y porcentaje de grasa y proteína corregida a 305 días de 910 lactancias.

| | Edad (meses) | Año de lactancia | Mes de Lac. | N° de Lac. | Días totales en Lac. | kg Leche | kg Grasa | kg Prot | % de Prot | % de Grasa |
|------------|--------------|------------------|-------------|------------|----------------------|----------|----------|---------|-----------|------------|
| Min. | 18 | 2004 | 1 | 1 | 240 | 3584 | 147 | 132 | 3,00 | 2,61 |
| 1ª cuartil | 32 | 2010 | 3 | 1 | 273 | 6433 | 247 | 236 | 3,54 | 3,56 |
| Mediana | 44 | 2013 | 7 | 2 | 284 | 7300 | 280 | 267 | 3,68 | 3,85 |
| Media | 48 | 2012 | 6 | 2,5 | 281 | 7341 | 281 | 269 | 3,67 | 3,86 |
| 3º cuartil | 60 | 2016 | 8 | 3 | 293 | 8142 | 314 | 299 | 3,80 | 4,16 |
| Máximo | 140 | 2018 | 12 | 10 | 304 | 12320 | 536 | 463 | 4,44 | 5,70 |

Referencia: Lac= lactancia, Prot= proteína, %= porcentaje.

El promedio de lactancias fue de 2,5 (entre 1 y 10 lactancias). La producción media fue de 7341 kg de leche, 281 kg de grasa (3,86%) y 269 kg de proteína (3,67%), a una edad media de 48 meses.

En el Cuadro 5 se muestran los promedios de la edad en meses, los días totales de lactancia, la producción de los kilogramos de leche, grasa y proteína corregidas a 305 por número de lactancia.

Cuadro 5. Promedios de edad en meses, días totales de lactancia, producción de los kilogramos de leche, grasa y proteína corregida a 305 días por número de lactancia.

| Nro de Lactancia | Edad (meses) | Días totales en lactancia | kg de leche | kg de grasa | kg de proteína |
|------------------|--------------|---------------------------|-------------|-------------|----------------|
| 1 | 29 | 282 | 6590 | 257 | 242 |
| 2 | 41 | 280 | 7629 | 287 | 278 |
| 3 | 54 | 281 | 7806 | 299 | 285 |
| 4 | 66 | 281 | 7744 | 297 | 282 |
| 5 | 78 | 281 | 7981 | 304 | 292 |
| 6 | 93 | 283 | 7195 | 276 | 261 |
| 7 | 107 | 289 | 6810 | 260 | 249 |
| 8 | 114 | 286 | 7491 | 261 | 264 |

La producción de los kg de leche, grasa y proteína a 305 días, son mayores en la segunda, y tercera lactancia, respecto a la primera (Gráfico 1 a, b y d). La mayor producción de grasa y proteína, medida en porcentaje, se dio en la primera lactancia, disminuyendo en la segunda, tercera, cuarta lactancia y más (Gráfico 1 c y e). Se observaron valores atípicos en las cinco variables analizadas. En todas

las variables y para todas las lactancias, la media se encontró sobre la mediana o presentó valores muy cercanos. El 75% de las primeras lactancias se encuentran cercanos a 7500 kg de leche, mientras que el 75% de las segundas, terceras y cuartas lactancias se encuentran cercanos a los 9000kg de leche.

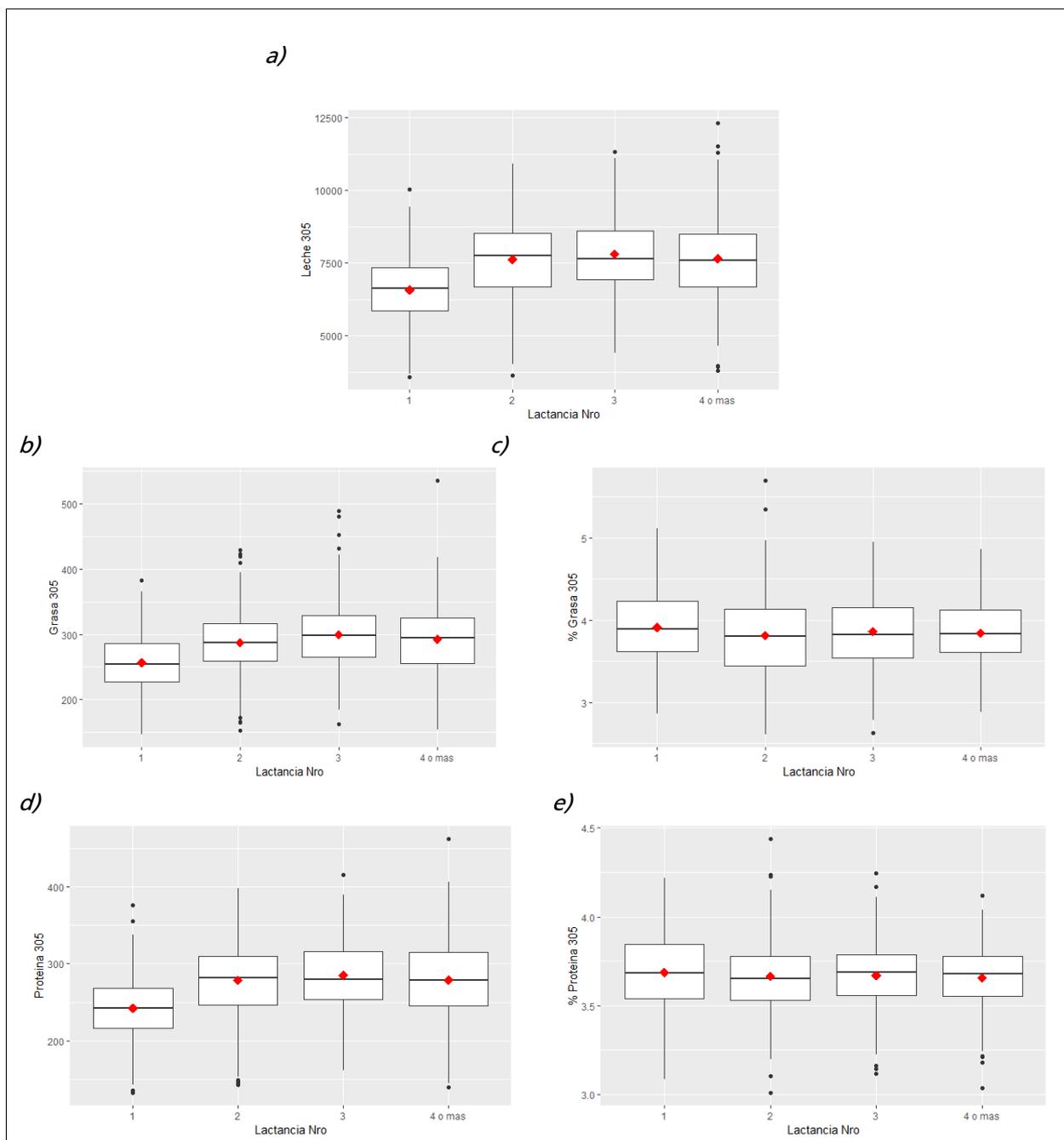


Gráfico 1. Producción en kilogramos de leche (Leche 305), grasa (Grasa 305), proteína (Proteína 305) y porcentaje de grasa y proteína a 305 días por lactancia (Lactancia Nro).

Las producciones de los kg de grasa y proteína presentaron una gran variación a través de las lactancias considerando las proporciones raciales. La tendencia del aumento en las producciones es clara a través de las lactancias 1 a 3, sin embargo, no se observó una diferencia en las producciones en función de las proporciones raciales dentro de cada lactancia (Gráfico 2).

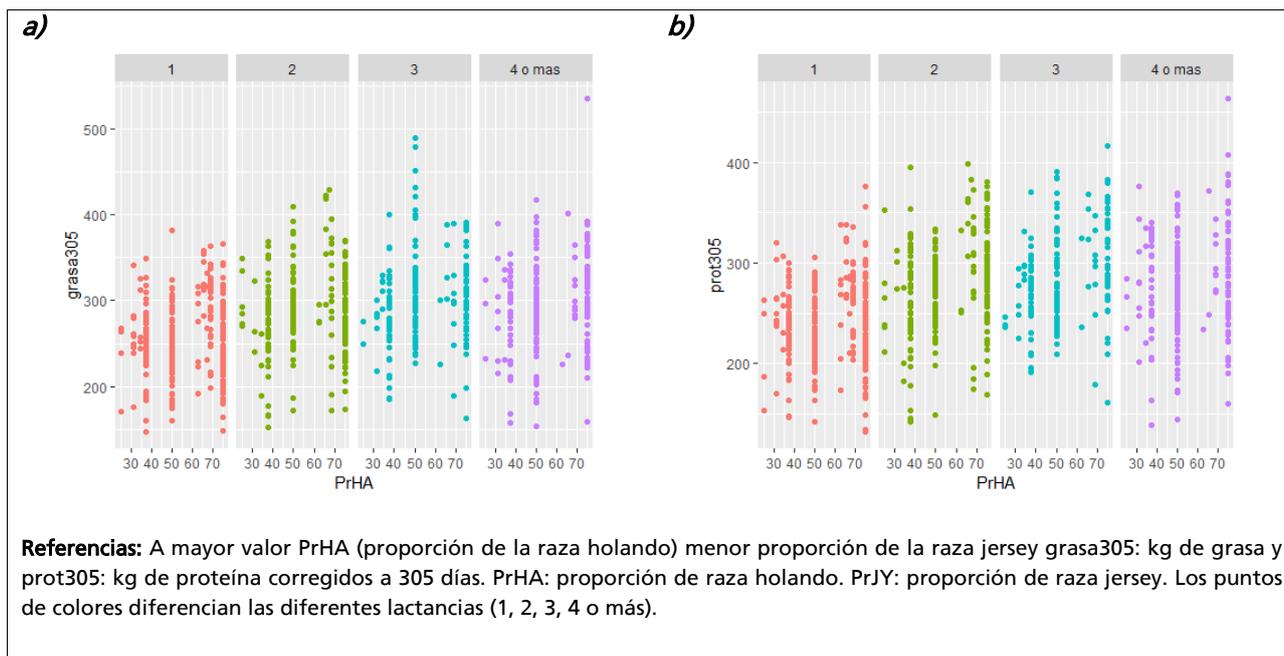


Gráfico 2: Distribución de los kilogramos de grasa (a) y proteína (b) corregidos a 305 días de las vacas con distintas proporciones raciales de holando y jersey por lactancias.

La gran variación observada para las producciones de kg de grasa y proteínas se repite en las producciones del porcentaje de grasa y proteína a través de las lactancias. Pero en este caso, las producciones de grasa y proteína se vieron afectados por la proporción de razas. Principalmente para las primeras tres lactancias, se observaron hembras, con mayor proporción de la raza jersey, con mayores producciones de porcentajes de grasa y proteína (Gráfico 3).

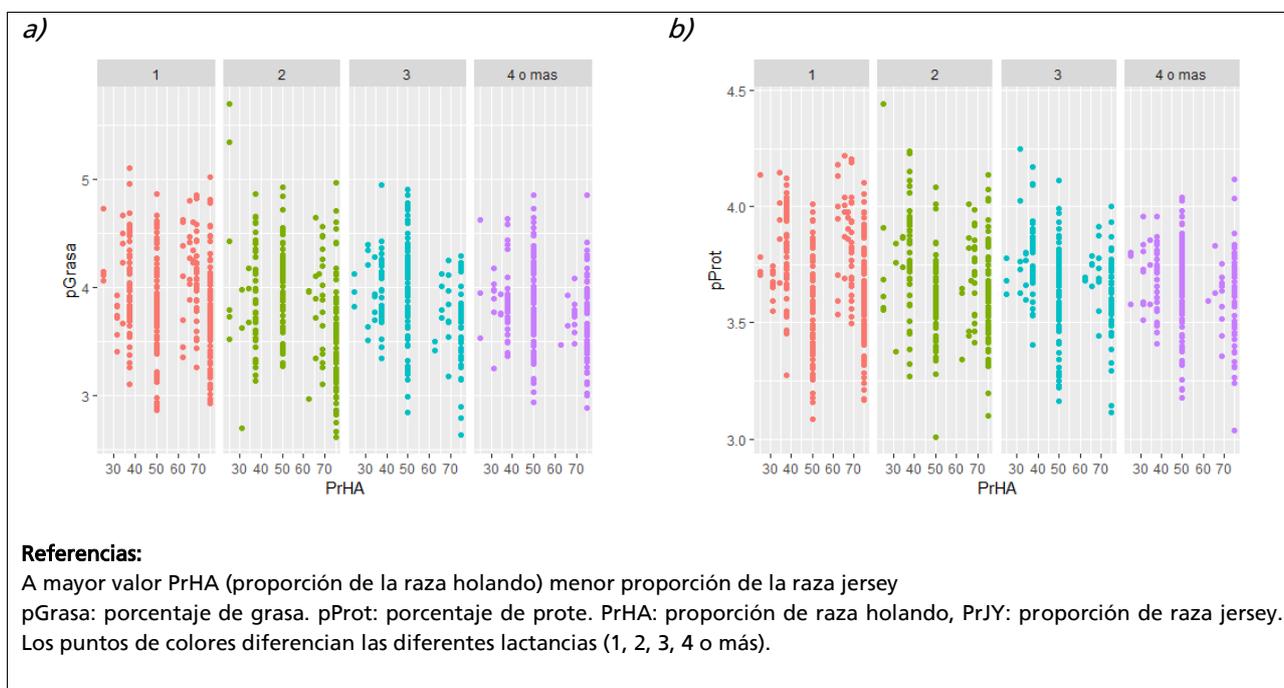


Gráfico 3. Distribución de los porcentajes de grasa y proteína corregidos a 305 días de las vacas con distintas proporciones raciales de holando y jersey por lactancias.

En el Cuadro 6 podemos observar el promedio de la edad en meses, promedio de los días totales de lactancia y promedio de kilogramos de leche, grasa y proteína corregida a 305, en función de las proporciones raciales.

Cuadro 6. Porcentaje de raza holando, porcentaje de raza jersey, promedio edad en meses, promedio de días total lactancia, promedio y desvío estándar de kilogramos leche, grasa y proteína corregidos a 305 días para las vacas cruza.

| %H | %J | N | Edad (meses) | Días total lactancia | kg leche | DE | kg grasa | DE | kg prot | DE |
|----------------|--------------|------------|--------------|----------------------|-------------|-------------|------------|-----------|------------|-----------|
| 25 | 75 | 16 | 43 | 284 | 6562 | 1289 | 273 | 43 | 247 | 44 |
| 31,25 | 68,75 | 25 | 47 | 283 | 7297 | 1182 | 276 | 48 | 271 | 44 |
| 34,37 | 65,63 | 16 | 46 | 285 | 7074 | 1258 | 283 | 46 | 269 | 47 |
| 37,5 | 62,5 | 167 | 44 | 281 | 6792 | 1297 | 268 | 48 | 256 | 46 |
| 50 | 50 | 316 | 55 | 281 | 7267 | 1221 | 285 | 54 | 262 | 43 |
| 62,5 | 37,5 | 13 | 38 | 287 | 7075 | 1522 | 264 | 41 | 263 | 49 |
| 65,63 | 34,37 | 18 | 41 | 278 | 8511 | 1214 | 344 | 50 | 323 | 43 |
| 67,19 | 32,81 | 5 | 32 | 272 | 7335 | 1874 | 315 | 76 | 283 | 64 |
| 68,75 | 31,25 | 64 | 42 | 282 | 7509 | 1270 | 294 | 51 | 280 | 43 |
| 75 | 25 | 270 | 46 | 281 | 7726 | 1608 | 279 | 54 | 278 | 57 |
| Totales | | | | | | | | | | |
| 55,79 | 44,21 | 910 | 48 | 281 | 7341 | 1417 | 281 | 53 | 269 | 50 |

Referencia: color gris mayor proporción holando, color naranja mayor proporción jersey

La media de edad para las hembras con mayor proporción de raza jersey fue de 45 meses, con promedios de 283,25 días en lactancia, 6931,25 kg de leche, 275 kg de grasa (3,97%) y 260,75 kg de proteína (3,77%). Los valores medios hallados para las hembras con mayor porcentaje de la raza holando fueron: 39,8 meses de edad, 280 días en lactancia, 7631,2 kg de leche, 299,2 kg de grasa (3,74%) y 285,4 kg de proteína (3,65%).

Considerando el efecto de la estación de parto sobre el inicio de la lactancia (Cuatrin 2009), se halló la distribución de los valores de las producciones en función de las estaciones. Las distribuciones de los valores de las producciones estandarizadas, varían a través de las estaciones dentro de los años (Gráficos 4). Se observaron valores mayores de la producción de leche a 305 días, en vacas con mayor proporción de la raza holando tanto en otoño como en primavera, y en contraposición se observaron valores menores a medida que aumenta la proporción de la raza jersey. Para todas las vacas (con cualquier proporción racial) los valores menores de producción de leche fueron muy parecidos. La dispersión de los valores fue mayor a medida que aumentaron la proporción de la raza holando y disminuyó la proporción de la raza jersey (Gráfico 4a).

Los valores de los kilogramos de grasa estandarizados presentaron su mayor dispersión en los animales con el 50% de ambas razas. En otoño, los valores de producción de grasa de las vacas con mayor proporción jersey y las vacas con mayor proporción holando se encontraron en los mismos rangos. Sin embargo, en primavera se observaron valores mayores de producción de grasa para las vacas con mayor proporción de holando respecto a las de mayor proporción jersey (Gráfico 4b).

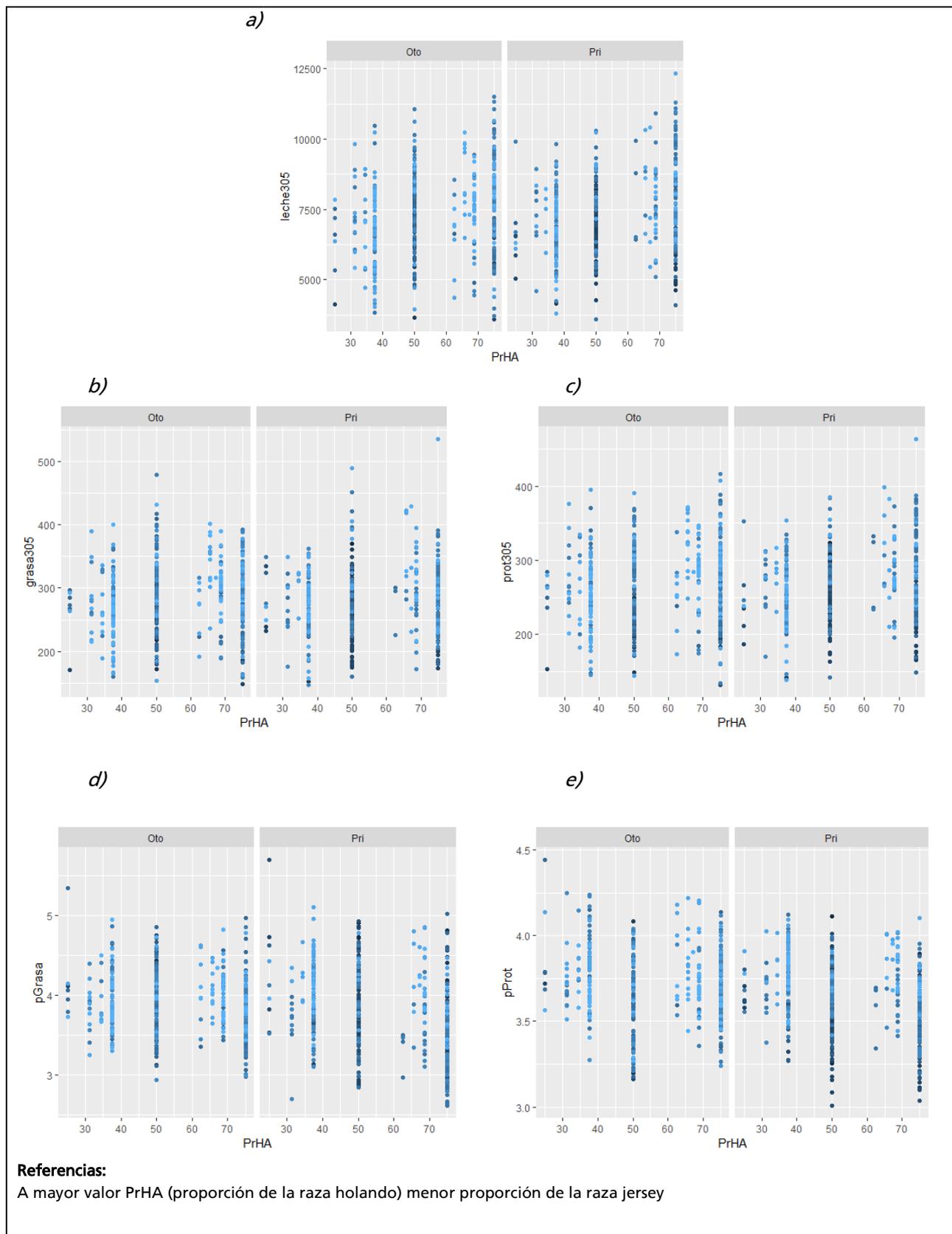


Gráfico 4. Distribución de la producción de kg de leche (a), grasa y proteína (b) y porcentajes de grasa y proteína (c), corregidas a 305 días por estación de inicio de lactancia (Otoño: Oto, Primavera: Pri) para las distintas proporciones raciales (PrHA: proporción de holando, PrJY: proporción de jersey).

Los valores de proteína estandarizadas para las vacas con 50% holando y 50% jersey presentaron menor variación respecto a los valores de la producción de grasa estandarizada del mismo grupo racial, para ambas estaciones. Al igual que la producción de los kg de grasa, los valores mínimos de producción de kg de proteína fueron muy parecidos para las vacas con distintas proporciones de holando y jersey, en otoño y primavera. Se observaron valores mayores de producción de kg de proteína en otoño y primavera de vacas con mayor proporción de la raza holando (Gráfico 4c).

La producción de los porcentajes de grasa y proteína presentó menor dispersión para las vacas con 50% holando y 50% jersey, para ambas estaciones, respecto a los valores de kg de grasa y proteína. En ambas estaciones y para el porcentaje de grasa y de proteína se obtuvieron mayores valores de producción en animales con mayor proporción de la raza jersey (Gráfico 4d y e).

DISCUSIÓN

El desarrollo del trabajo implicó un desafío de integración de herramientas y de definición de procedimientos para lograr los resultados. La estructura de la base de datos se integró por un gran número de tablas interrelacionadas. Fue necesario un tiempo al aprendizaje para conocer la organización de los datos y realizar los procedimientos de cálculo automático. Esto se debió principalmente a que el programa de gestión no permitió exportar los datos necesarios para el cálculo de las proporciones raciales y la estandarización de las producciones a 305 días. Sin embargo, el programa utiliza un motor de base de datos como forma de administración, lo que permitió acceder a los mismos para realizar este estudio. Se optó por el mismo motor de base de datos que el programa de gestión comercial, utilizado por las facilidades que presenta para realizar procedimientos mediante la programación de consultas. Este motor de base de datos, se complementó con el programa estadístico R para resumir información. De esta manera se caracterizaron las producciones en función de las distintas proporciones raciales, número de lactancia y estación de parto.

Las filiales y proporciones raciales se calcularon en forma automática y se incorporaron a la base de datos original de manera que no solo fuera útil al presente trabajo, sino también para trabajos futuros.

El 55% de las lactancias no cumplieron con los requisitos para su corrección a 305 días. Debido a este porcentaje de pérdida de información, es necesario incorporar otros métodos de evaluación de los datos productivos y de las lactancias.

En resumen, las hembras con 50% holando y 50% jersey (F1) presentaron producciones medias respecto a las otras filiales con mayor proporción holando y menor proporción jersey. El 55% del rodeo descendió de un padre de la raza holando y el 45 % descendió de un padre de raza jersey. Sin considerar las F1, el 40,66% de las lactancias analizadas provienen de animales con mayor proporción holando y el 24,62 % de animales con mayor proporción de la raza jersey. El rodeo de vacas cruce analizado presentó un promedio de 7340 kg leche, 281 kg de grasa y 268 kg de proteína con 3,86 y 3,67 % de grasa y proteína, respectivamente.

CONCLUSIONES

La existencia de datos exactos, confiables y sistematizados, incorporados a lo largo del tiempo en programas informáticos de gestión es el primer paso para analizar y caracterizar los sistemas productivos mediante técnicas de ciencias de datos. Este tipo de herramientas respaldan la toma de decisiones para la mejora de los sistemas productivos.

Se logró automatizar la asignación de las distintas proporciones raciales por animal disminuyendo el error en la identificación. Esto permitió caracterizar los niveles de producción considerando su conformación racial.

En función de la exactitud y confiabilidad de los datos se deberían incorporar mejoras en el protocolo de carga de la información y controles frecuentes para verificar que sean correctos e incluso opciones tecnológicas de lectura de datos automáticos a campo (Tecnologías de Información y Comunicación - TIC).

El trabajo realizado se podrán ampliar las estadísticas descriptivas presentadas en este estudio e incluso incorporar otros aspectos reproductivos, de manejo, alimentación y meteorológicos.

AGRADECIMIENTO

A Alejandra Cuatrin (INTA EEA Paraná) por sus aportes al presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- CRAPLET, C.; THIBIER, M. 1973. La vache laitier. Vigot Inc Paris. Vol V. Vig.
- BUENO PÉREZ J.A. Cruzamientos 2018 Consultado 30/05/2019 <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/buenovet-cruzamientos-t42274.htm>
- CUATRIN A. 2007 Curva de Producción y Composición de Leche Bovina. Compendio de leche bovina IDIA XXI Lechería, 75-79. *Ver si queda*
- LOPEZ D. Razones y fundamentos para el desarrollo de Razas Compuestas. Consultado 30/05/2019 <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/razones-fundamentos-desarrollo-razas-t25881.htm>
- MOIOLI, B. 1996. Survey on the recording of milk performances of dairy buffaloes in the world. Publ. Assoc. Anim. Prod. 87, 299-312.
- PECE, M.A.; MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., TIERI, M.P., SCANDOLO, D., VERA, M., VITULICH, C. y CHARLÓN, V. 2016. Unidad de producción de leche intensiva resultados 2011-2016. Información Técnica de Producción Animal 2016. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Colección Investigación, desarrollo e innovación. INTA Ediciones
- R CORE TEAM 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- VERA, M; TIERI, M.P.; MACIEL, M.; FRANCO, L; COMERÓN, E.; SCÁNDOLO, D. y ROMERO, L. 2016. Unidad de producción de Leche Intensiva. Síntesis histórica 1981-2009 y resultados obtenidos a partir de la incorporación de las cruas. Información Técnica de Producción Animal 2016. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Colección Investigación, desarrollo e innovación. INTA Ediciones
- VERA, M.; MACIEL, M.; PECE, M.; SALADO, E.; SCANDOLO, D.; ROMERO, L. 2017. Cruzamiento rotacional aplicado en sistemas de producción lechera. Resultados preliminares de la composición racial del rodeo. Información Técnica de Producción Animal 2018. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea Año VI - N° 4 ISSN en línea 2314-3126

CALIDAD DE LECHE Y AGROINDUSTRIA

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA RÁPIDA PARA LA DETERMINACIÓN DE LACTOSA EN SUERO Y PERMEADO

Campos, S.; Massera, A.; Mainez, E.; Adorni, M.B.*

INTA EEA Rafaela; Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria
**campos.sonia@inta.gob.ar.*

INTRODUCCIÓN

El suero es un subproducto resultante de la coagulación de la leche en la producción de queso (Prazeres y col., 2012). En la provincia de Santa Fe se generan 11000 t/día de suero de quesería líquido. El 35-40% de este subproducto es utilizado para elaborar productos con escaso valor agregado (suero en polvo, lactosa en polvo y concentrados de proteína). El 60-65% de este subproducto se aprovecha en la alimentación animal o es desechado como efluente generando conflictos ambientales entre las industrias y la comunidad (Castellano y Goizueta, 2013). El permeado se obtiene mediante el uso de un sistema de membranas (ultrafiltración) para separar las proteínas del suero que constituirán un concentrado proteico, quedando entonces como subproducto esta mezcla de lactosa, sales y agua. El porcentaje de lactosa en suero y permeado oscila entre 4-12% (Prazeres y col., 2012).

Debido a que es considerado un sustrato barato y fácil de obtener, el suero de queso y el permeado se han utilizado desde 1940 para producir comercialmente biomasa microbiana (González Siso, 1996). Esto permite obtener bio-ingredientes con un alto valor agregado para la industria; ya sea biomasa para nutrición humana y animal o derivados del metabolismo microbiano (enzimas, etanol, biomateriales, etc.) (De Palma Revillion y col., 2003, Koller y col., 2012; Prazeres y col., 2012). La cuantificación de lactosa en ambas matrices es importante para conocer la concentración inicial en el medio de cultivo, donde este sustrato es utilizado como fuente de carbono.

El método de referencia para la determinación de lactosa es enzimático. El mismo consiste en la utilización del kit Lactosa/D-Galactosa (Enzymatic BioAnalysis/Food Análisis, R-BIOPHARM) con el que se procesan las muestras para su posterior lectura de absorbancia en un espectrofotómetro UV Visible. Si bien esta metodología es muy utilizada debido a su sensibilidad y bajo límite de detección, aplicarla lleva mucho tiempo y los costos son elevados. Es por esto que se busca validar metodologías más rápidas y de menor costo. 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 una 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. Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo fue validar la tecnología infrarroja utilizando el equipo Milkoscan Minor con el método enzimático de referencia para disponer de un método rápido para la cuantificación de lactosa en diferentes matrices lácteas y medios de cultivo con lactosa como fuente de carbono.

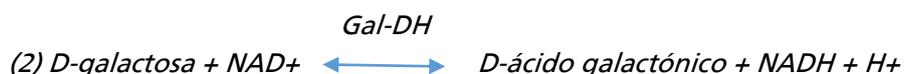
MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar adelante la validación, primero se preparó una solución madre con una concentración conocida de lactosa empleando permeado de permeado en polvo Variolac 850 (ARLA Foods Ingredients SA). A partir de esta solución primaria se obtuvo un set de 11 muestras con diferentes valores de lactosa cubriendo el rango de lectura de rutina del laboratorio (0,1 a 6 g/100mL). Un volumen de 30 mL de cada una de las muestras se colocó en tubos de 50 mL y los mismos fueron centrifugados a 4 °C, a 5000 rpm durante 10 minutos. En un tubo falcon de 50 mL limpio se recuperó cada sobrenadante, y estos se analizaron por ambos métodos: enzimático (referencia) versus infrarrojo.

La metodología de referencia se llevó a cabo utilizando el kit Enzymatic BioAnalysis/Food Análisis, R-BIOPHARM, a través del cual la lactosa se hidroliza a D-glucosa y D-galactosa a pH 6.6 en presencia de la enzima β -galactosidasa y agua (1).



La D-galactosa se oxida a pH 8,6 por adenina nicotinamida dinucleótico (NAD) para dar ácido D-galactónico en presencia de la enzima β -galactosa deshidrogenasa (Gal-DH) (2).



La cantidad de NADH formado en la reacción (2) es estequiométrico con la cantidad de lactosa y D-galactosa respectivamente. El aumento en NADH se mide por medio de su absorbancia a 334, 340 ó 365 nm, a los 15, 20 y 30 minutos desde que se inicia la reacción y hasta que el aumento de la misma se haya estabilizado. La cuantificación de lactosa por el método enzimático toma aproximadamente 2 horas desde que la muestra es centrifugada.

En cuanto al método infrarrojo, se llevó a cabo utilizando el equipo MilkoScan Minor (FOSS), siguiendo los lineamientos de la Norma ISO 9622 IDF 141:2013, el cual permitió cuantificar el contenido de lactosa a través de la absorción de radiación electromagnética a la longitud de onda específica para dicho componente (9,6 μm enlaces hidroxilos). La muestra absorbida por el equipo es depositada en una cubeta, donde recibe radiación emitida por una fuente de energía. Dicha radiación es absorbida por el componente mencionado anteriormente.

Al final del circuito se encuentra un detector que traduce la cantidad de radiación absorbida por la muestra en concentración. La absorción de la radiación es proporcional a la cantidad de lactosa presente en la muestra analizada. La cuantificación de la lactosa por método infrarrojo demora 1,5 minutos una vez que la muestra es centrifugada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para llevar a cabo la calibración del equipo se calculó el sesgo, a partir de la diferencia entre los valores obtenidos por el método infrarrojo versus los valores de referencia obtenidos con el kit enzimático (tabla 1) y la DS.

Tabla 1. Valores de sesgo calculados para cada muestra, a partir de la diferencia entre los resultados obtenidos por el método infrarrojo y el enzimático.

| Muestra | Concentración teórica Lactosa (g/100 mL) | Método infrarrojo Lactosa (g/100 mL) | Método enzimático Lactosa (g/100 mL) | Sesgo |
|---------|--|--------------------------------------|--------------------------------------|-------|
| 1 | 0,10 | -0,90 | 0,08 | 0,99 |
| 2 | 0,30 | -0,66 | 0,28 | 0,94 |
| 3 | 0,50 | -0,43 | 0,59 | 1,02 |
| 4 | 1,00 | 0,12 | 0,94 | 0,82 |
| 5 | 2,00 | 1,21 | 1,89 | 0,68 |
| 6 | 2,50 | 1,70 | 2,30 | 0,59 |
| 7 | 3,00 | 2,26 | 2,83 | 0,57 |
| 8 | 4,00 | 3,36 | 3,78 | 0,42 |
| 9 | 5,00 | 4,69 | 4,57 | -0,12 |
| 10 | 5,50 | 5,02 | 5,20 | 0,17 |
| 11 | 6,00 | 5,73 | 5,38 | -0,35 |

La DS calculada fue de 0,14%. Según la Norma ISO 9622 IDF 141:2013, la misma debe ser menor a 0,06%. De acuerdo a este resultado no satisfactorio, se realizó el ajuste al equipo, obteniéndose un R2 de 0,996, indicando, de esta manera, una correcta correlación entre las variables (Figura 1).

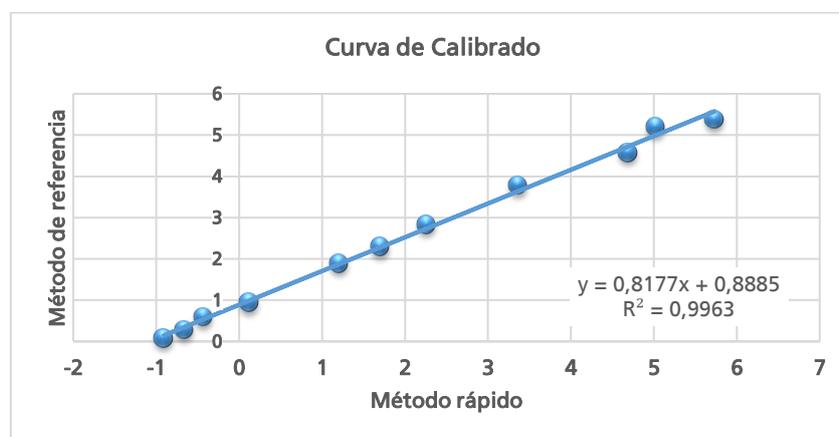


Figura 1. Gráfico de correlación lineal entre los valores obtenidos por el método infrarrojo versus el enzimático.

Finalmente, se verificó el ajuste del equipo analizando nuevamente 8 de las 11 muestras preparadas (tabla 2). Las muestras 6, 9 y 11, no fueron tenidas en cuenta para realizar la verificación.

Tabla 2. Valores de sesgo calculados para cada muestra, a partir de la diferencia entre los resultados obtenidos por el método infrarrojo y el enzimático, luego del ajuste del equipo.

| Muestra | Método infrarrojo Lactosa (g/100 mL) | Método de referencia Lactosa (g/100 mL) | Sesgo |
|---------|--------------------------------------|---|-------|
| 1 | 0,21 | 0,08 | -0,13 |
| 2 | 0,31 | 0,28 | -0,03 |
| 3 | 0,52 | 0,59 | 0,08 |
| 4 | 0,98 | 0,94 | -0,04 |
| 5 | 1,86 | 1,89 | 0,03 |
| 7 | 2,73 | 2,83 | 0,11 |
| 8 | 3,64 | 3,78 | 0,14 |
| 10 | 5,00 | 5,20 | 0,19 |

Luego del ajuste, la DS obtenida fue de 0,05%. Este valor se encontró dentro de las especificaciones establecidas, y los valores calculados para el sesgo (tabla 2) fueron menores que los especificados en la tabla 1; por lo tanto, se consideró correcto el ajuste realizado. Esta metodología de trabajo fue replicada para la calibración del equipo Milkoscan Minor con muestras obtenidas a partir de diferentes fracciones de suero lácteo (suero, permeado y concentrado) obteniéndose resultados satisfactorios (R2: 0,95) para la cuantificación de lactosa.

CONCLUSIÓN

Con este trabajo, se logró desarrollar una metodología rápida para la determinación de lactosa, a través del equipo Milkoscan Minor, validada con el kit Enzymatic BioAnalysis/Food Análisis, R-BIOPHARM.

Los resultados obtenidos por el método infrarrojo son confiables y concordantes con el método de referencia.

BIBLIOGRAFÍA

- CASTELLANO, A., GOIZUETA, M.E. 2013. Patrones de innovación y alternativas de agregado de valor en la industria láctea argentina. [En línea]. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <https://inta.gob.ar/documentos/patrones-de-innovacion-y-alternativas-de-agregado-de-valor-en-la-industria-lactea-argentina> [Consulta agosto de 2019].
- DE PALMA REVILLION, J.P.; BRANDELLI, A., AYUB, M.A.Z. 2003. Production of yeast extract from whey using *Kluyveromyces marxianus*. Brazilian Archives of Biology and Technology 46 (1): 121-128.
- GONZÁLEZ SISO, M.I. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. Bioresource Technology 57: 1-11.
- ISO 9622 IDF 141:2013. Milk and liquid milk products - Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry.
- KOLLER, M., SALERNO, A., MUHR, A., REITERER, A., CHIellini, E., CASELLA, S., HORVAT, P., BRAUNEGG, G. 2012. Whey lactose as a raw material for microbial production of biodegradable polyesters. En "Polyesters", pp. 51-92. Saleh, H. (Ed.). IntechOpen, Londres, Reino Unido.
- PRAZERES, A. R., CARVALHO, F., & RIVAS, J. 2012. Cheese whey management: A review. Journal of Environmental Management, 110, 48-68.

ANÁLISIS DE AFLATOXINA M₁ EN SUEROS PROCESADO POR TECNOLOGÍA DE MEMBRANAS, OBTENIDO DE PYMES LÁCTEAS DE LA CUENCA LECHERA CENTRAL

Costamagna, D.^{1*}; Audero, G.¹; Gaggiotti, M.¹; Taverna, M.¹; Signorini, M.^{1,2}

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

* costamagna.dianela@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La AFM₁ es el principal derivado hidroxilado de AFB₁ formado en el hígado de los animales y secretada en la leche a través de la glándula mamaria de las vacas lecheras (Hwang y Lee, 2006). Aunque, la toxicidad de AFM₁ es menor que su compuesto original, AFB₁, el IARC (2002) clasificó a AFM₁ como carcinógeno humano del Grupo 1 debido a sus efectos tóxicos y cancerígenos bien probados. Por lo tanto, AFM₁ representa un riesgo potencial para los seres humanos a través del consumo de leche, productos y subproductos lácteos (Galvano *et al.*, 1996).

El mayor porcentaje de la leche producida en Argentina se destina a la elaboración de quesos (OCLA, 2018), siendo el suero lácteo el principal subproducto derivado de esta elaboración. Las proteínas presentes en el suero lácteo han demostrado amplias propiedades nutricionales y funcionales (Vikram y Maubois, 2017). El principal producto obtenido del procesamiento del suero por tecnología de membranas es el concentrado de proteínas de suero (WPC) utilizado como componente funcional en una amplia gama de productos comerciales, como aditivos alimentarios, o también pueden fraccionarse en proteínas de suero individuales (Morr, 1989).

La distribución de la AFM₁ durante la elaboración de quesos blandos y duros fue estudiada, observándose una migración de más del 50% de la toxina hacia el suero (Costamagna *et al.*, 2019). En consecuencia, debido al amplio uso de suero en productos para consumo humano, el objetivo de este trabajo fue investigar el destino de la AFM₁ en sueros procesados provenientes de dos empresas lácteas sometidos a diferentes tratamientos tecnológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de suero, permeado y concentrado de proteínas de suero de dos Pequeñas y Medianas Empresas (PYMES) lácteas de la cuenca lechera central que se dedican a procesar suero de quesería mediante tecnologías de membranas de ultrafiltración (UF) y nanofiltración (NF).

En la empresa I, se realizaron 6 muestreos de pool de suero de queso: azul, duro y semiduro procesado mediante membranas de UF. Se obtuvieron 6 muestras de suero, 6 muestras de permeado y 6 muestras de concentrado de proteínas. En la empresa II, se realizaron 6 muestreos de suero proveniente de la elaboración de queso mozzarella procesado mediante membranas de NF. Se tomaron 6 muestras de suero, 6 muestras de permeado y 6 muestras de concentrado de proteínas.

La empresa I procesa un volumen de suero de 130.000 l diarios. El equipo cuenta con 6 membranas de filtración. El caudal de entrada es de 3.500 l/h y el caudal de salida es de 720 l/h. El suero inicial presenta un valor promedio de 6,4% de sólidos totales donde luego del proceso de filtración se

llega a una concentración final de 27% de sólidos totales. La empresa II procesa un volumen de suero de 200.000 l diarios en un equipo que cuenta con 20 membranas. El caudal de entrada es de 12.500 l/h y el caudal de salida es de 4.000 l/h. El suero inicial presenta un valor promedio de 6,7% de sólidos totales donde luego del proceso de filtración se llega a una concentración final de 18,2% de sólidos totales.

En todas las muestras de suero, permeado y concentrado de proteínas de suero se analizó pH (método potenciométrico), acidez (por titulación), grasa, proteína, lactosa y sólidos totales (método infrarrojo para suero, permeado y concentrado de proteínas según normas ISO 7208:2012, ISO 8968-3:2004 e ISO 2920:2012 para grasa, proteína y sólidos totales, respectivamente). Todos los análisis mencionados fueron realizados en el Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria del INTA Rafaela.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron las concentraciones de AFM₁ en los sueros de queso proveniente de la Empresa I procesado mediante tecnología de ultrafiltración (UF) y de la Empresa II procesado mediante tecnología de nanofiltración (NF) y en ambas soluciones obtenidas luego del procesamiento (retenido y permeado) (Tabla 1).

La empresa I bajo el proceso de UF recuperan en el retenido las proteínas del suero y sales coloidales en mayor proporción. Por su parte, el permeado se encuentra compuesto por agua y lactosa en mayor proporción y minerales solubles, nitrógeno no proteico y vitaminas hidrosolubles (Vikram y Maubois, 2017). Con respecto a la empresa II, bajo el proceso de NF se produce separación de componentes de bajo peso molecular (agua y sales minerales disueltas) que se encuentran en el permeado y componentes de elevado peso molecular (proteínas y lactosa principalmente) que se encuentran en el concentrado (Vikram y Maubois, 2017).

Tabla 1. Distribución de Aflatoxina M₁ entre retenido y permeado sometidos a diferentes procesos tecnológicos.

| Proceso Tecnológico | Muestras | Cantidad (l) | Concentración de AFM ₁ | | % distribución AFM ₁ |
|---------------------|----------|--------------|-----------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| | | | (µg/l) | Total de masa (µg) | |
| Empresa I | Suero | 3500 | 0,0067 | 23,45 | |
| | Permeado | 720 | 0,0063 | 4,53 | 20,8 |
| | Retenido | 2780 | 0,0062 | 17,24 | 79,2 |
| Empresa II | Suero | 12500 | 0,0084 | 105 | |
| | Permeado | 4000 | 0,0080 | 32 | 39,4 |
| | Retenido | 8500 | 0,0058 | 49,3 | 60,6 |

Los datos en la Tabla 1 muestran una mayor concentración de AFM₁ en retenido que en permeado para ambos procesos de filtración. El porcentaje de distribución en el retenido estuvo en el rango del 60,6-79,2%, mientras que en el permeado el rango varió entre 20,8 y 39,4%. Estos resultados sugieren que AFM₁ es transferida preferencialmente a la fracción rica en proteínas, a pesar de ser un compuesto de bajo peso molecular (328 g/mol) el cual se esperaría que pase la membrana.

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos de la composición analítica de los sueros utilizados para realizar los procesos de UF y NF, en la empresa I y II, respectivamente.

Tabla 2. Resultados promedios y desviación estándar (DE) de la caracterización analítica de los sueros utilizados para los procesos de filtración de las empresas I y II.

| Sueros | Empresa I | Empresa II |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Variable | Medias ± DE | |
| Materia Grasa % (gr/100ml) | 0,15 ± 0,08 ^a | 0,29 ± 0,10 ^a |
| Proteína Total (gr/100ml) | 1,04 ± 0,15 ^a | 1,20 ± 0,11 ^a |
| Lactosa % (gr/100ml) | 4,97 ± 0,14 ^a | 4,84 ± 0,04 ^a |
| Sólidos Totales % (gr/100ml) | 6,47 ± 0,31 ^a | 6,40 ± 0,08 ^a |
| pH | 6,28 ± 0,09 ^a | 4,54 ± 0,15 ^b |
| Acidez (°D) | 14,33 ± 1,53 ^a | 33,00 ± 3,69 ^b |

Referencias: ^{ab} Los grupos con letras distintas difieren significativamente (P <0,05) por el test de Mann-Whitney.

Se encontraron diferencias significativas entre ambos sueros respecto al pH, acidez (P<0,05). Considerando estos parámetros es posible identificar dos tipos de suero. El suero utilizado en la empresa I se clasifica como un *suero dulce* (Gösta Bylund, 2002). Este *pool* de suero corresponde a una mezcla de sueros provenientes de elaboraciones de quesos azules, semiduros y duros. La empresa II solo procesaba suero proveniente de la elaboración de queso mozzarella, el cual se clasifica como un *suero ácido* (Gösta Bylund, 2002). Por ende, la diferencia observada en el pH y acidez, puede deberse a los distintos orígenes del suero.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos de la composición analítica de los permeados y retenidos obtenidos luego de realizar los procesos de UF y NF, en la empresa I y II, respectivamente.

Tabla 3. Resultados promedios y desviación estándar (DE) de la caracterización analítica de los permeados obtenidos para los procesos de filtración de la empresa I y II.

| Variables | Empresa I | | Empresa II | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | Permeado UF | Concentrado UF | Permeado NF | Concentrado NF |
| Media ± DE | | | | |
| Materia Grasa (%) | 0,02 ± 0,03 ^a | 0,89 ± 0,34 ^a | 0,02 ± 0,01 ^a | 0,13 ± 0,02 ^b |
| Sólidos Totales (%) | 15,34 ± 0,80 ^a | 25,02 ± 1,12 ^a | 2,53 ± 5,23 ^b | 18,45 ± 1,02 ^b |
| Lactosa (%) | 14,59 ± 0,55 ^a | 15,02 ± 0,39 ^a | 0,15 ± 0,04 ^b | 15,80 ± 0,58 ^a |
| pH | 6,26 ± 0,12 ^a | 6,25 ± 0,08 ^a | 6,31 ± 0,15 ^a | 6,31 ± 0,08 ^a |
| Acidez (°D) | 36,67 ± 1,15 ^a | 60,67 ± 0,58 ^a | 5,33 ± 5,28 ^b | 34,83 ± 4,26 ^b |
| Proteína Total (%) | 0,53 ± 0,13 ^a | 9,36 ± 1,51 ^a | 0,30 ± 0,09 ^b | 2,36 ± 0,20 ^b |

Referencias: ^{ab} Los grupos con letras distintas difieren significativamente (P <0,05) por el test de Mann-Whitney.

El pH del concentrado UF no se alteró con el proceso de filtración. Sin embargo, el porcentaje de acidez aumentó a 60,67 ± 0,58°D. En el caso del concentrado de proteínas del proceso de NF, se observó aumento de acidez e incremento de pH, comparado con el valor del suero ácido inicial. Estos cambios podrían atribuirse al incremento en el nivel de los sólidos totales retenidos por la membrana.

Como se observa en la Tabla 3, comparando con los niveles iniciales de proteínas en el suero, en el caso del proceso UF, se produce una concentración de proteínas de suero entre 11 a 12 veces, mientras que en el proceso NF las mismas se concentran 2 veces. La mayor concentración de proteínas obtenida por la tecnología de UF podría estar explicando el mayor contenido de AFM₁ en el retenido respecto al proceso de NF.

Esta micotoxina tiene un peso molecular del mismo orden que la lactosa: 328,3 y 442 g/mol, respectivamente. En ausencia de cualquier interacción con otros compuestos presentes en el suero de queso, la aflatoxina M₁ debería dividirse como la lactosa entre el permeado y el retenido (Applebaum y Marth, 1982). La mayor afinidad de AFM₁ por la fracción retenida puede deberse a una interacción entre esta micotoxina y las proteínas.

Finalmente se realizó una correlación mediante la prueba de Spearman sobre los parámetros analíticos y la concentración de AFM₁ en las matrices evaluadas. Se encontró una correlación negativa entre la concentración de AFM₁ y el pH del suero ($P= 0,019$; $r= -0,45$), es decir que sueros con menores pH podrían presentar valores de concentraciones de AFM₁ más elevados. Esta asociación podría explicar, la mayor concentración de AFM₁ en el suero de la empresa II (suero ácido) respecto a la empresa I (suero dulce).

El destino de AFM₁ durante el fraccionamiento del suero de queso por ultrafiltración y nanofiltración fue evaluado. La distribución de AFM₁ entre permeado y retenido aparentemente contradice la baja afinidad de AFM₁ por las proteínas séricas citadas por Bakirci (2001), al igual que lo hallado por Mendonça y Venancio (2005) donde demostraron que los niveles de AFM₁ en el permeado (fracción rica en lactosa del suero de leche) eran más bajos que en el retenido (fracción de suero rico en proteínas) después de la ultrafiltración. Sin embargo, Dosako *et al.* (1980) informaron que la afinidad de AFM₁ por las proteínas séricas es más baja en comparación con su afinidad por las caseínas. Como estas últimas están casi ausentes en el suero de queso, la interacción entre AFM₁ y las proteínas del suero puede ocurrir.

CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que la producción de proteína de suero por tecnología de membranas podría conducir a una mayor concentración de AFM₁ que en el suero original. Sin embargo, ambas fracciones, concentrado de proteínas de suero y permeado pueden contener niveles considerables de AFM₁. Se debe examinar el impacto en la salud pública derivado del consumo de estos productos elaborados con suero, ya que la interacción con las proteínas de suero que puede ocurrir en ciertas circunstancias no puede ser ignorada, especialmente considerando la posibilidad de reutilizar la fracción de proteína como materia prima en otros procesos.

BIBLIOGRAFÍA

- APPLEBAUM, R. S., Y MARTH, E. 1982. Fate of aflatoxin M₁ in cottage cheese. *Journal of Food Protection*, 45, 903-904.
- BAKIRCI, I. 2001. A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47–51.
- COSTAMAGNA D., GAGGIOTTI M., CHERICATTI C.A., COSTABEL L., AUDERO G.M.L., TAVERNA M., SIGNORINI, M.L. 2019. Quantification of aflatoxin M₁ carry-over rate from feed to soft cheese. *Toxicology Reports*, 6, 782–787.
- DOSAKO, S., KAMINOGAWA, S., TANEYA, S., Y YAMAUCHI, K. 1980. Hydrophobic surface areas and net charges of α s1-, κ -casein and α s1-casein: κ -casein complex. *Journal of Dairy Research*, 47(1), 123-129.
- GALVANO, F., GALOFARO, V., Y GALVANO, G. 1996. Occurrence and stability of aflatoxina M₁ in milk and milk products. A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59, 1079-1090.
- GÖSTA BYLUND M. 2002. Manual de Industrias Lácteas Tetra Pack. Editor Madrid Vicente A. 1º Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid.

- HWANG, J.H., Y LEE, K.G. 2006. Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chemistry*, 98(1), 71-75.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 2002. Some mycotoxins, naphthalene and styrene in IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: International Agency for Research on Cancer, 82,171.
- ISO 2920:2004 (IDF 58:2004). Whey cheese: Determination of dry matter (Reference method). Brussels. Belgium.
- ISO 7208:2008 (IDF 22:2008). Skimmed milk, whey and buttermilk" - Determination of fat content -- Gravimetric method (Reference method). Brussels. Belgium.
- ISO 8968-3:2004 (IDF 20-3:2004). Milk: Determination of nitrogen content. Part 3: Block-digestion method (Semi-micro rapid routine method). Brussels. Belgium.
- MENDONÇA, C., Y VENÂNCIO, A. 2005. Fate of aflatoxin M₁ in cheese whey processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2067-2070.
- MORR, C.V. 1989. Whey proteins: manufacture, in *Developments in Dairy Chemistry*, Ed by Fox PF. Elsevier, London, 245–258.
- OCLA (Observatorio de la Cadena Láctea Argentina). 2018. Gráficos y cuadros. Disponible en: <http://www.ocla.org.ar/>
- VIKRAM, V.M., Y MAUBOIS, J.L. 2017. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. (McSweeney P.L.H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett D. W.) En: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol. 4.

EFFECTOS DE LA INCLUSIÓN DE UN AGENTE SECUESTRANTE EN LA DIETA DE VACAS LECHERAS SOBRE LA EXCRECIÓN DE AFLATOXINA M₁ EN LA LECHE

Costamagna, D.^{1*}; Gaggiotti, M.¹; Abdala, A.¹; Smulovitz, A.¹; Walter, E.; Signorini, M.^{1,2}

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

*costamagna.diana@inta.gob.ar

1. INTRODUCCIÓN

Cuando las dietas contaminadas con aflatoxina B₁ (AFB₁) son consumidas por las vacas lecheras, la aflatoxina M₁ (AFM₁), un metabolito de AFB₁, se secreta en la leche (Prandini *et al.*, 2009). Al igual que AFB₁, AFM₁ es tóxico y cancerígeno, aunque la toxicidad de AFM₁ es algo menor que la de AFB₁ (IARC, 2002). Sin embargo, AFM₁ es motivo de gran preocupación debido al alto consumo de leche y productos lácteos por los humanos, especialmente los niños.

Entre los impactos que puede generar la AFB₁ presente en las dietas del ganado sobre la salud animal, se pueden mencionar los siguientes: daños en la función hepática (Garrett *et al.*, 1968), inducción del síndrome de hígado graso (Colvin *et al.*, 1984; Cook *et al.*, 1986; Cockcroft, 1995), reducción de la producción y calidad de la leche, pérdida de condición corporal (Gonçalves *et al.*, 2015), deterioro de la respuesta inmune y aumento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Masoero *et al.*, 2007; Queiroz *et al.*, 2012).

Actualmente no hay tecnología disponible que elimine por completo la contaminación con micotoxinas ya que son muy estables (Yiannikouris *et al.*, 2003). Lo más común es el uso de agentes secuestrantes (EFSA, 2009). Los mismos se definen como aditivos que pueden suprimir o reducir la absorción, promover la excreción de micotoxinas o modificar su modo de acción, uniéndose a las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal y reduciendo su biodisponibilidad y distribución en la sangre, hígado y otros órganos (Phillips *et al.*, 2008, Avantaggiato *et al.*, 2015).

Se han realizado numerosos estudios de adsorción *in vitro*, incluso con fluido ruminal (Spotti *et al.*, 2005). Sin embargo, los secuestrantes deben ser evaluados *in vivo* para establecer la eficacia de la utilización en animales. Hasta el momento existen pocos estudios sobre la eficiencia de los diferentes secuestrantes en vacas lecheras, a diferencia de los realizados en otras especies animales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficiencia de un secuestrante comercial de micotoxinas para reducir los niveles de AFM₁ en la leche de vacas expuestas a alimentos contaminados naturalmente con AFB₁ y el impacto sobre los parámetros productivos, reproductivos y sanitarios de las vacas lecheras.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Animales y dieta

Se utilizaron 60 vacas en lactancia, divididas en dos grupos, T1= grupo control sin secuestrante (n=30); T2= grupo tratado con secuestrante comercial (n=30), con base al número de partos, producción de leche, días en lactancia y condición corporal. Las vacas fueron asignadas de manera aleatoria en ambos grupos en función del cronograma de partos.

Cada uno de los animales fue monitoreado a lo largo de la lactancia, dividida en 10 periodos: **(-1)** 15 días pre-parto, **(0)** parto, **(1)** 15 días post-parto, **(2)** 30 días post-parto, **(3)** 60 días post-parto, **(4)** 90 días post-parto, **(5)** 120 días post-parto, **(6)** 150 días post-parto, **(7)** 180 días post-parto y **(8)** al secado.

Las vacas fueron alimentadas con dietas contaminadas naturalmente con micotoxinas. Los ingredientes y cantidades de la dieta suministrada a las vacas se muestran en la Tabla 1. La dieta para vacas lecheras se formuló de acuerdo a los requerimientos nutricionales recomendados por National Research Council (NRC, 2001) en función del nivel de producción de leche y el peso corporal.

Se utilizó un secuestrante comercial "Antitox Coo Pil" formulado a base de 60% de Zeolita y 40% de Pared Celular, destinado a la absorción de AFM₁. El ensayo se llevó a cabo en un sistema de ordeño robotizado el cual permitió administrar una dosis de 20 gramos/vaca/día a través de una tolva de dosificación automática adicional en el box de ordeño donde se suministra el alimento balanceado.

Tabla 1. Composición promedio de la dieta suministrada a las vacas del grupo control y tratado durante los 20 meses

| Ingredientes | Primavera-Verano | Otoño-Invierno |
|-----------------------------------|-------------------|----------------|
| | Kg de MS/vaca/día | |
| Silaje de maíz | 2,5 | 6,4 |
| Silaje de trigo | 2,5 | - |
| Semilla de Algodón | 2,2 | 2,2 |
| Harina de soja | 1,5 | 1,7 |
| Pellet de girasol/Cascara de soja | 2 | 2 |
| Balanceado comercial | 5,3 | 6,2 |
| Pastura alfalfa/avena | 6 | 3 |
| Heno de alfalfa | 1,5 | 2 |
| Total | 23,5 | 23,5 |

Referencia: MS= Materia Seca

2.2. Muestras

2.2.1. Alimentos

Un total de 60 alimentos fueron muestreados mensualmente durante 20 meses para la determinación de AFB₁. El análisis cuantitativo de AFB₁ en muestras de alimentos se basó en un inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) utilizando el kit de prueba RIDASCREEN®FAST (R-Biopharm, Alemania), con un límite de detección <1,7 µg/kg.

2.2.2. Leche

Se tomaron un total de 540 muestras individuales de leche de vaca en cada período descripto para la determinación de aflatoxina M₁, a excepción del período (-1). El análisis cuantitativo de AFM₁ en leche se realizó usando el kit de prueba RIDASCREEN® (R-Biopharm, Alemania) con un límite de detección de 0,005 µg/l.

2.2.3. Sangre

Se analizaron un total de 600 muestras de sangre de vaca individual en cada período descripto para análisis de componentes bioquímicos de la misma. Para ello, se realizaron extracciones de 5 ml de sangre por punción yugular con agujas estériles, previa desinfección de la zona con alcohol 96°. La sangre extraída se colocó en tubos de centrifuga para la obtención de suero, donde posteriormente permaneció en estufa a 37°C durante 2 horas para favorecer la coagulación. Seguidamente fueron colocadas en

refrigeración a 5°C para la retracción del coagulo. Finalmente, las muestras fueron centrifugadas durante 15 min a 2500 rpm hasta separación de fases. El suero se traspasó a tubos eppendorf correctamente rotulados. Todas las muestras se conservaron congeladas a -20° hasta su posterior análisis.

En suero, se analizaron distintos indicadores para comprobar los efectos de los tratamientos sobre la función hepática: Bilirrubina Directa (BD), Indirecta (BI) y Total (BT) fueron determinadas mediante método colorimétrico, Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT) y Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA) fueron determinados por método espectrofotométrico, transaminasa oxalacética glutámica (GOT) por método UV optimizado (IFCC), Acido β-Hidroxibutírico (BHB) por método enzimático. Los indicadores del estado energético más comúnmente utilizados son las concentraciones de NEFA y BHB durante el período puerperal de la vaca, por lo que únicamente fueron medidos durante los períodos 0, 1 y 2 de este ensayo.

2.3. Tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ en leche

La tasa de transferencia fue calculada a partir de los datos de consumo y concentración de AFB₁ en los alimentos de las vacas y de la producción y concentración de AFM₁ en la leche producida por las mismas, determinando la proporción de AFB₁ que fue excretada en leche como AFM₁.

$$TT = \frac{\text{Excreción de AFM1 leche } (\mu\text{g/vaca})}{\text{AFB1 ingerida } (\mu\text{g/vaca})}$$

Donde la excreción de AFM₁ en la leche y la AFB₁ ingerida, se calcularon como:

$$\begin{aligned} \text{Excreción } (\mu\text{g/vaca}) &= \text{AFM1 leche } (\mu\text{g/l}) * \text{Produccion leche } (\text{l/vaca}) \\ \text{Ingesta AFB1 } (\mu\text{g/vaca}) &= \text{AFB1 alimentos } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right) * \text{consumo de alimento } (\text{Kg/vaca}) \end{aligned}$$

2.4. Indicadores productivos, reproductivos y sanitarios

Con el objetivo de evaluar el efecto de las aflatoxinas sobre la performance de las vacas y la respuesta inmune a lo largo de la lactancia, mensualmente se monitoreó en las vacas los siguientes eventos patológicos diagnosticados por un profesional veterinario, los cuales fueron clasificados como: Patologías de la glándula mamaria (mastitis); Patologías dérmicas (dermatitis, úlcera en glándula mamaria, absceso en ubre); Patologías podales (contusión solar, úlcera interdigital, úlcera coronaria, fisura en muralla, laminitis); Patologías uterinas (endometritis, metritis, retención de membranas fetales, involución uterina lenta); Abortos; Patologías metabólicas y digestivas (acidosis, caída de producción, indigestión ruminal, hipocalcemia, diarreas con disminución de producción, desplazamiento de abomaso) y Patologías ováricas (quistes ováricos).

Adicionalmente, se relevaron para cada período otros indicadores como: condición corporal (escala 1 al 5), recuento de células somáticas en leche (cel./ml), producción de leche (litros/día), grasa en leche (%), proteína en leche (%) y consumo de alimentos (Kg MS/vaca/día).

2.5. Análisis de zearalenona en plasma sanguíneo

Se analizaron un total de 600 muestras de plasma sanguíneo de vaca individual en cada período descripto para la determinación de zearalanona (ZEA). El análisis cuantitativo de ZEA se realizó usando el kit de prueba RIDASCREEN® (R-Biopharm, Alemania) con un límite de detección de 0,05 µg/l. La preparación de la muestra y el procedimiento de prueba se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Con el objetivo de evaluar el efecto de la zearalenona sobre parámetros reproductivos, se relevó a lo largo de la lactancia de las vacas los siguientes eventos: Intervalo Parto Parto (IPP), Intervalo Parto Primer Servicio (IPPS), Intervalo Parto Concepción (IPC) y número de inseminaciones.

2.6. Análisis estadístico

La diferencia entre los tratamientos se evaluó mediante modelos lineales generalizados (MLG) con medidas repetidas para los distintos períodos muestreados. Las funciones de enlace fueron definidas de acuerdo a la distribución de frecuencias de las variables de resultado. Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Alimentos

La presencia natural de AFB₁ en la dieta suministrada a todas las vacas en lactancia fue, en promedio, de 2,31 ± 1,64 µg/kg de materia seca. El consumo de materia seca (MS) promedio fue de 23,5 ± 2,6 kg de MS/vaca/día.

Las concentraciones promedio de AFB₁ para las pasturas, balanceado comercial y PMR se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Media (M) ± desvío estándar (DE), mínimo (Min.) y máximo (Max.) niveles de aflatoxina B₁ (µg/kg) en los alimentos evaluados durante 20 meses.

| Alimentos | n | M ± DE | Min | Max | Nº de muestras positivas n (%) | Exceden el límite n (%) | |
|-----------------------|-----------|--------------------|------------|------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------------|
| | | | | | | 20 µg/kg ^a | 5 µg/kg ^b |
| Pasturas | 20 | 2,36 ± 2,02 | 0,3 | 7,4 | 11 (55) | 0 (0) | 3 (15) |
| Balanceado | 20 | 1,24 ± 0,86 | nd | 2,5 | 3 (15) | 0 (0) | 0 (0) |
| PMR ^c | 20 | 3,34 ± 2,04 | nd | 7,0 | 9 (45) | 0 (0) | 3 (15) |
| Promedio dieta | 60 | 2,31 ± 1,64 | 0,0 | 7,4 | 23 (38) | 0 (0) | 6 (10) |

nd: < al límite de detección

^a Límite del MERCOSUR (20 µg/kg); ^b Límite Unión Europea (5 µg/kg)

^c PMR= Ración Parcialmente Mezclada

La Unión Europea (UE) (European Community, 2002) y el Mercado Común del Sur (MERCOSUR) (MERCOSUR, 2002) determinan un nivel máximo de 5 y 20 µg/kg de AFB₁ en los alimentos para el ganado lechero, respectivamente. En este estudio, el 10% de los alimentos ofrecidos al ganado lechero excedió el valor establecido por la UE, pero ninguno de ellos, el valor establecido por el MERCOSUR (Tabla 2).

Los mayores valores de AFB₁ se detectaron en la PMR, seguidos por los hallados en las pasturas, lo cual coincide con los resultados que se obtuvieron en relevamientos anteriores (Gaggiotti *et al.*, 2001; Michlig *et al.*, 2016). Sin embargo, las concentraciones naturales de AFB₁ en la dieta de vacas lecheras fueron, en términos generales, bajas.

3.2. Efectos del secuestrante sobre la concentración de AFM₁ en leche y la tasa de transferencia

Los niveles promedio de AFM₁ observados en el grupo control y tratado fueron de 0,016 ± 0,002 µg/l y 0,008 ± 0,001 µg/l, respectivamente. Las concentraciones de AFM₁ en la leche mostraron una reducción significativa ($P < 0,001$) cuando las vacas recibieron 20 g/vaca/día de secuestrantes en la dieta (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración de AFM₁ en leche, tasa de conversión de AFB₁ a AFM₁ en la leche y porcentaje de reducción de AFM₁ (%) en el grupo control y tratado.

| Grupos | Concentración | Excreción | Tasa de | % de reducción de | |
|---------|-------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|
| | AFM ₁ en leche (µg/l) | AFM ₁ en leche (µg/día) | transferencia (%) | AFM ₁ en leche | Tasa transferencia |
| Control | 0,016 | 0,551 | 2, 19 | - | - |
| Tratado | 0,008 | 0,272 | 0,77 | 50 | 65 |

Los valores de AFM₁ en la leche de las vacas sin incorporación de secuestrantes en la dieta fueron similares a los obtenidos en estudios anteriores sobre leche proveniente de la cuenca lechera central Argentina (López *et al.*, 2003; Costamagna *et al.*, 2018).

Aún con bajas concentraciones de AFB₁ presentes en los alimentos, se detectó la presencia de AFM₁ en la leche por sobre el límite establecido por UE de 0,05 µg/l, en 14 muestras de leche de vaca individual (European Community, 2006). Las mismas fueron detectadas en el grupo control (n=11) en diferentes períodos de muestreo y en el grupo tratado (n=3) en días posteriores al parto (período 0), es decir al inicio de ensayo. Sin embargo, todas las muestras de leche de vaca individual presentaron niveles de AFM₁ por debajo de los niveles establecidos por la legislación del MERCOSUR (0,5 µg/l) (MERCOSUR, 2002).

Si bien, los valores de concentración promedio de AFM₁ en ambos grupos fueron bajos, el efecto del secuestrante permitió obtener concentraciones de 6,2 veces por debajo del límite establecido por UE (0,05 µg/l) y de 62 veces inferior al límite establecido por el MERCOSUR (0,5 µg/l).

La tasa de transferencia promedio fue de 2,19% y 0,77% en el grupo control y tratado, respectivamente, presentando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,001$) indicando que existe un efecto del secuestrante sobre la transferencia a leche de la aflatoxina presente en los alimentos (Tabla 3). Estos valores estuvieron de acuerdo con los mencionados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2004) como predecibles para las tasas de transferencia en vacas lecheras (1-6%).

En la Figura 1 se muestra la evolución de la excreción de AFM₁ en leche y la producción diaria por vaca, a lo largo del período de lactancia del grupo control y tratado. Como se puede observar, ambos grupos al inicio de lactancia (período 0) tuvieron una excreción inicial en leche de 0,45 (µg/día), producto de una concentración inicial de 0,016 µg/l en leche y una producción diaria de 23,4 l/día. A medida que avanzó la etapa de lactancia, el efecto del secuestrante en el grupo tratado redujo la excreción en leche a niveles de 0,04 µg/día independientemente de los niveles de producción de leche. Por el contrario, la excreción de AFM₁ en leche en el grupo control varió de acuerdo a la curva de producción de leche alcanzando niveles de 0,4 µg/día al final de la lactancia.

Numerosos estudios (Battacone *et al.*, 2003; Masoero *et al.*, 2007; Fink-Gremmels, 2008; Britzi *et al.*, 2013) afirman que la tasa de transferencia aumenta exponencialmente con la producción de leche, lo cual fue observado durante el presente trabajo para el grupo control. Sin embargo, cuando se agrega secuestrante a la dieta de vacas lecheras, la tasa de transferencia se hace insensible al nivel productivo de las vacas.

En varios estudios se han utilizado productos adsorbentes orgánicos o inorgánicos para estudiar sus efectos sobre la transferencia de AFB₁ presente en la dieta a AFM₁ en la leche con reducciones de AFM₁ dispares. Stroud (2006) comparó 8 agentes secuestrantes, incluidos 3 combinaciones de productos de levadura y arcilla y 5 productos de arcilla y reveló que una de las combinaciones levadura-arcilla y tres productos de arcilla redujeron en un 40% la concentración de AFM₁ en la leche con dosis de 100 g/vaca/día en la dieta de vacas lecheras, las cuales ingirieron 170 µg de AFB₁/kg de MS. Kutz *et al.* (2009) agregaron una preparación de cultivo celular de levadura modificada a razón de 12 g/vaca/día a la dieta

y observaron una reducción del 4% en la concentración de AFM₁ en la leche en vacas lecheras que recibieron 112 µg de AFB₁/kg de MS. Diaz *et al.* (2004) informaron que tres productos de bentonita de sodio y un producto de la pared celular de levadura redujeron la concentración de residuos de AFM₁ en la leche en un 50 a 65% a dosis de 10 g/vaca/día adicionado a la dieta contaminada con 55 µg de AFB₁/kg de MS. Un estudio reciente de Xiong *et al.* (2015) mostraron que un producto a base de levadura y montmorillonita sódica redujo la transferencia de aflatoxina a la leche en un 17% a una dosis de AFB₁ baja (20 µg/ kg de MS) pero no tuvo efecto a una dosis de AFB₁ alta (40 µg/kg kg de MS) con reducciones de sólo 2%. Es decir, que los agentes secuestrantes a base de pared celular de levadura resultaron secuestrantes efectivos de AFB₁ cuando la concentración de toxina en la dieta era menor (Diaz *et al.*, 2004; Xiong *et al.*, 2015).

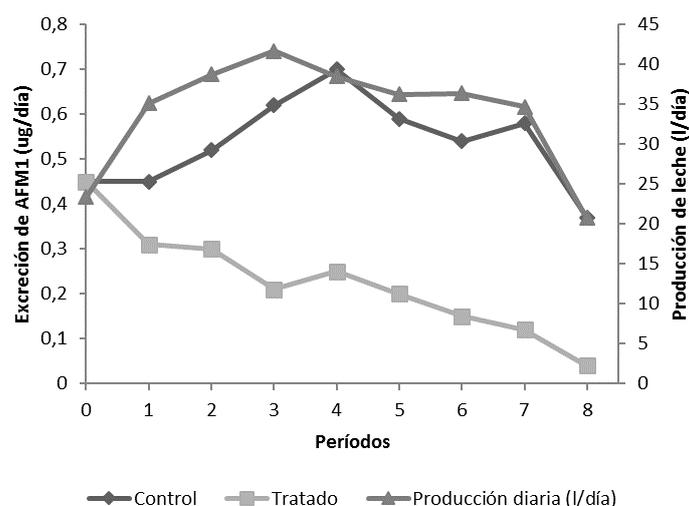


Figura 1. Evolución de la excreción de AFM₁ en leche y la producción de leche durante el período de lactancia de las vacas en el grupo control y tratado.

En comparación con las especies monogástricas, los animales rumiantes generalmente se consideran menos susceptibles a los efectos adversos causados por la contaminación de los alimentos con aflatoxinas. Esto se basa en el supuesto de que la flora del rumen degradará e inactivará las micotoxinas, protegiendo así al animal. Sin embargo, las aflatoxinas resisten la degradación del rumen debido a que los rumiantes tienen un metabolismo complejo y muchos factores pueden influir en la capacidad de adsorción en el tracto gastrointestinal, causando distintos signos clínicos de intoxicación (Fink-Gremmels, 2008).

3.3. Efectos del secuestrante sobre la performance productiva y sanitaria de las vacas

No hubo diferencias significativas entre el grupo control y tratado en cuanto al consumo de MS, ingesta de AFB₁, producción de leche, composición química de la leche (contenido de grasa, proteína) y el recuento de células somáticas (Tabla 4).

Tabla 4. Medias \pm desvío estándar de consumo de materia seca (MS), ingesta de AFB₁, producción y composición de leche y recuento de células somáticas (RCS) en el grupo control y tratado.

| Parámetros | Grupo Control | Grupo Tratado | P-valor |
|---|-------------------|-------------------|---------|
| Consumo (Kg MS/vaca/día) | 23,07 \pm 4,62 | 22,95 \pm 4,54 | 0,660 |
| Ingesta AFB ₁ (μ g/día) | 43,83 \pm 37,46 | 40,46 \pm 35,41 | 0,326 |
| Producción de leche (l/día) | 34,15 \pm 13,93 | 33,65 \pm 11,88 | 0,798 |
| Grasa (%) | 4,08 \pm 0,75 | 3,35 \pm 0,80 | 0,288 |
| Proteína (%) | 3,28 \pm 0,36 | 3,34 \pm 0,37 | 0,321 |
| RCS (cel. \times 10 ³ /ml) | 228 \pm 55 | 141 \pm 27 | 0,158 |

La bibliografía menciona que las principales manifestaciones de la aflatoxicosis en las vacas lecheras incluyen una disminución en el consumo de alimento, reducción de la producción de leche y cambios en su composición química (Gonçalves *et al.*, 2015). Sin embargo, algunos estudios han informado resultados contradictorios sobre los efectos de la AFB₁ sobre estas variables realizados con distintos secuestrantes (principalmente a base de arcillas y extractos de levaduras). Queiroz *et al.* (2012), observaron niveles más bajos de grasa y proteínas en leche, pero sin efectos sobre la producción y la ingesta de MS en vacas que recibieron 75 μ g de AFB₁/kg de MS durante un período de 12 días con adición de diferentes dosis de adsorbente (arcilla como ingrediente principal; 0,2 o 1% de MS). En contraste, Kutz *et al.* (2009) encontraron que vacas lecheras alimentadas con 112 μ g de AFB₁/kg de MS durante 28 días con dosis de secuestrantes a 0,56% de MS no tuvieron ninguna alteración en el consumo de alimento, producción de leche, porcentaje de grasa y proteína de la leche y recuento de células somáticas. Al igual que Xiong *et al.* (2015), en un ensayo con vacas lecheras alimentadas con dietas contaminadas a niveles de 0, 20 o 40 μ g de AFB₁/kg de MS con dosis de secuestrantes a 0,25% de MS, reportó que no existían efectos significativos sobre la ingesta de materia seca, la producción y composición de la leche. Estos últimos estudios (Kutz *et al.*, 2009; Xiong *et al.*, 2015), coinciden con lo observado en el presente trabajo con una contaminación natural de AFB₁ y dosis de secuestrante incorporadas a la dieta (0,1% de MS) muy inferiores.

3.4. Efectos del secuestrante sobre indicadores de salud hepática

Los parámetros medidos en sangre de las vacas lecheras del grupo control y tratado se muestran en Tabla 5. No se observaron cambios estadísticamente significativos en ninguno de los parámetros evaluados sugiriendo que a las dosis naturales de AFB₁ a las que se encuentran expuestas las vacas lecheras, no afectaría la función hepática o la condición inmune en el medio interno de la vaca.

Tabla 5. Parámetros sanguíneos y condición corporal (CC) medido en vacas lecheras del grupo control y tratado.

| Parámetros | Grupo Control | Grupo Tratado | p-valor | Valor referencia |
|-------------------------------|------------------|------------------|---------|--------------------|
| Bilirrubina directa (mg/dl) | 0,09 \pm 0,002 | 0,10 \pm 0,002 | 0,130 | 0,20 |
| Bilirrubina indirecta (mg/dl) | 0,16 \pm 0,005 | 0,16 \pm 0,005 | 0,368 | - |
| Bilirrubina total (mg/dl) | 0,25 \pm 0,008 | 0,26 \pm 0,007 | 0,253 | 0,40 |
| GOT (U/L) | 90,57 \pm 2,57 | 97,99 \pm 4,29 | 0,138 | \leq 95 |
| GGT (U/L) | 30,22 \pm 1,71 | 33,75 \pm 3,97 | 0,415 | \leq 30 |
| NEFA (meq/l) | 0,67 \pm 0,05 | 0,77 \pm 0,08 | 0,268 | 0,1-0,9 |
| BHB (mmol/l) | 0,44 \pm 0,02 | 0,60 \pm 0,11 | 0,152 | >1,2 - \geq 2,5* |
| CC | 2,78 \pm 0,33 | 2,71 \pm 0,29 | 0,351 | 2,75-3 |

* Cetosis sub-clínica: >1,2 mmol/l - Cetosis clínica: \geq 2,5 mmol/L

Los parámetros GOT, GGT y bilirrubina se han propuesto como indicadores de la función hepática deprimida (Miller *et al.*, 1981). Esta condición, afecta la regulación y coordinación del metabolismo de lípidos durante el período de transición de la vaca, componente importante en la adaptación requerida para la lactancia (Noro y Bardoza, 2012). Una falla en estos mecanismos de compensación energética que inducen a la vaca a un balance energético negativo (BEN), causan cetosis, trastornos metabólicos y deficiente producción de leche (Ospina *et al.*, 2010).

Los parámetros NEFA y BHB en suero son indicadores de balance energético negativo en el ganado lechero posparto (Bell, 1995, Herdt y Dyk, 1997, Overton, 2003). Debido a este balance de energía negativo, se considera que las vacas en el período de transición son particularmente sensibles a la exposición de alimentos contaminados con aflatoxinas (Fink-Gremmels, 2008).

En este estudio, los valores promedio evaluados en suero estuvieron dentro del rango fisiológico a lo largo del período experimental, no observándose diferencias significativas en estos indicadores entre el grupo control y tratado (Tabla 5). Estos valores indican que las vacas de ambos grupos no se vieron afectadas en su función hepática debido a la exposición natural de AFB₁ en la dieta, permitiendo un adecuado balance energético de las vacas lecheras al inicio de la lactancia.

Consistente con el presente estudio, Battacone *et al.* (2005) informaron que la ingesta de 12 g/día de adsorbente (cultivo de levadura seca) no produjo cambios significativos en las concentraciones de GOT, GGT y bilirrubina de ovejas lecheras alimentadas con una dieta contaminada con AFB₁ (1,13; 2,30 y 5,03 µg de AFB₁/kg de alimento). Xiong *et al.* (2015) informaron que agregar 20 o 40 µg/kg de AFB₁ a la dieta de las vacas lecheras no tuvo ningún efecto sobre las concentraciones de GOT y GGT.

La bibliografía informa que las dietas contaminadas con aflatoxina B₁ impactan directamente en la función hepática con la consecuente disminución de la inmunidad general del animal, lo que lleva a mayor predisposición del mismo a contraer enfermedades (Gonçalves *et al.*, 2015). La prevalencia de patologías presentadas por las vacas lecheras durante el período de lactancia, se muestran en la Tabla 6. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y tratado.

Tabla 6. Prevalencia (%) de patologías relevadas en vacas del grupo control y tratado a lo largo del período de lactancia.

| Patologías | Grupo Control | Grupo Tratado | p-valor |
|--------------------------|---------------|---------------|---------|
| De la glándula mamaria | 8 | 6 | 0,459 |
| Dérmicas | 1 | 0 | 0,226 |
| Podales | 6 | 3 | 0,163 |
| Uterinas | 1 | 3 | 0,178 |
| Abortos | 1 | 1 | 0,688 |
| Digestivas y metabólicas | 1 | 2 | 0,634 |
| Ováricas | 1 | 1 | 0,998 |

Como se puede apreciar en la Tabla 6, no se observaron efectos agudos sobre la salud animal por el consumo de alimentos contaminados naturalmente con AFB₁, debido probablemente a los bajos niveles al que se encuentran expuesta las vacas lecheras. Es decir, cuando las vacas se ven expuestas a estos niveles de contaminación de la dieta, los efectos tóxicos descriptos por la bibliografía (Marin *et al.*, 2002) no se observan, pudiendo reducirse a efectos de tipo crónico que no fueron objeto del presente estudio.

3.5. Impacto del secuestrante sobre la concentración de zearalenona en plasma y parámetros reproductivos

La concentración de zearalenona (ZEA) en plasma sanguíneo de las vacas lecheras del grupo control y tratado se muestran en Tabla 7. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, sugiriendo que el secuestrante tendría efecto sobre la zearalenona presente en los alimentos.

Tabla 7. Concentración de ZEA en plasma en el grupo control y tratado.

| Grupo | ZEA en plasma (ug/l) | p-valor |
|-----------------|----------------------|---------|
| Control (n=300) | 52,22 ± 6,25 | 0,004 |
| Tratado (n=300) | 31,44 ± 3,68 | |

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y tratado respecto a los siguientes eventos reproductivos relevados: IPP ($P=0,848$), IPPS ($P=0,867$), IPC ($P=0,071$), número de inseminaciones ($P=0,137$) y abortos ($P=0,119$).

3.6. Impacto de la aplicación de secuestrantes sobre la salud pública

Se realizó un análisis de escenario, que se utiliza para modelar el efecto que tendría la aplicación de alguna medida de manejo, en este caso la aplicación de secuestrante a la dieta de vacas lecheras, sobre la concentración de AFM₁ en la leche. Considerando la reducción que se produce en la tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ al agregar el secuestrante, se modeló por un lado, qué porcentaje de leche producida en Argentina superaría los límites establecidos por las regulaciones internacionales y por el otro, la ingesta diaria estimada (IDE) de AFM₁ por el consumo de leche en niños de 6 a 23 meses de edad.

Los valores que superan las normativas internacionales para aflatoxina M₁ en leche provenientes de datos relevados en la cuenca lechera central de Argentina, sin la utilización de secuestrantes fueron estimados en 24,9% y 43% para los límites establecidos por la Unión Europea para leche fluida (0,05 µg/Kg) y leche destinada a fórmulas infantiles (0,025 µg/Kg), respectivamente (Costamagna *et al.*, 2019). Los datos obtenidos simulando la incorporación del secuestrante a la dieta de las vacas lecheras permitirían reducir los porcentajes de leche que superarían estos límites a 7,26% y 17,54%, respectivamente.

De igual manera, pero considerando los límites establecidos por EE.UU y el MERCOSUR para leche fluida (0,5 µg/Kg), con la incorporación del secuestrante a la dieta de las vacas lecheras lograríamos reducir el porcentaje de leche que superaría este límite al 0,2%, valor que ascendía a 0,9% sin la adición de secuestrante.

La IDE promedio sin la adición de secuestrantes en la dieta de las vacas lecheras fue estimada en $1,4 \times 10^{-3}$ µg/Kg peso corporal/día. La probabilidad de que la ingesta diaria de los niños de 6 a 23 meses superara la ingesta diaria tolerable (IDT) de 0,0002 µg/kg de peso corporal/día (Kuiper-Goodman, 1990), fue estimada en un 46,2%. Por su parte, la IDE promedio fue de $5,2 \times 10^{-4}$ µg/kg peso corporal/día cuando se simuló la adición de secuestrantes en la dieta de las vacas lecheras donde la probabilidad de que la ingesta diaria de los niños de 6 a 23 meses superara la IDT se reduciría a 33,1%.

Tomando en cuenta los datos anteriores es posible calcular el número de niños expuestos a IDE superiores a la IDT y su impacto en salud pública. De acuerdo al censo nacional 2010 (INDEC, 2010) en el país hay 2.029.712 niños entre 0 y 23 meses de edad. Se puede estimar entonces la cantidad de niños que superarían la IDT de AFM₁ a partir del consumo de leche o productos lácteos en función del uso o no de secuestrantes en la alimentación de las vacas lecheras. Si las vacas no consumen secuestrantes, el número de niños con IDE>IDT se estima, en promedio, en 937.726, mientras que, si las vacas fueran suplementadas con secuestrantes, el número de niños expuestos se reduciría a 671.834, es decir, 265.892 niños menos expuestos.

4. CONCLUSIONES

La administración de secuestrante a razón de 20 g/vaca/día en dietas naturalmente contaminadas con bajos niveles de AFB₁ redujo la concentración de AFM₁ en leche y la tasa de transferencia respecto a las vacas que no lo recibieron.

La inclusión de un secuestrante en la dieta de vacas lecheras de alta producción no afectó la ingesta de materia seca, la producción y composición de la leche, el recuento de células somáticas, ni la función hepática a lo largo de la lactancia, probablemente debido a los bajos niveles de AFB₁ en dietas naturalmente contaminadas.

A estos niveles de exposición a los que se encuentran expuestas las vacas lecheras, no se apreciaron efectos metabólicos ni sanitarios sobre las mismas. Esta situación, de falta de signos clínicos en las vacas, dificulta el poder de convencimiento de los productores para la utilización del secuestrante en la dieta, y por ende, reducir los niveles de AFM₁ en la leche por su potencial impacto sobre la salud pública y el comercio internacional de lácteos.

Sin embargo, situaciones como la alta variabilidad en las condiciones climáticas sufridas en los últimos años que predisponen a los hongos a condiciones de estrés generando la toxina, sumado a que los granos y subproductos de alta calidad se destinan a monogástricos y los de menor calidad a rumiantes, las vacas lecheras de alta producción podrían sufrir algún efecto en su salud por lo que se hace necesario incorporar secuestrantes a la dieta para reducir la transferencia de toxinas dentro de la cadena alimentaria.

La incorporación de esta medida de manejo, además podría mejorar la salud pública reduciendo los porcentajes de exposición de la población más susceptible al efecto de las micotoxinas por el consumo de leche y productos lácteos. Por otra parte, la reducción de los límites de AFM₁ debajo de los establecidos por las regulaciones internacionales permitiría mejorar la performance externa y acceder a mercados para leche, productos y subproductos lácteos como por ejemplo, el concentrado de proteínas de suero, que ocupa el segundo lugar en las exportaciones de nuestro país después de la leche en polvo con mercados importadores exigentes debido a su destino en la alimentación infantil.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue apoyado por fondos del Proyecto Nacional de Producción Animal de INTA (PNPA-1126044) y por la Cooperativa Guillermo Lehmann (Pilar, Santa Fe).

6. BIBLIOGRAFÍA

- AVANTAGGIATO, G. HAVENAAR, R., VISCONTI, A. 2007. Assessment of the multi-mycotoxin-binding efficacy of a carbon/aluminosilicate-based product in an in vitro gastrointestinal model. *Journal of agricultural and Food chemistry*, 55, 4810-9.
- BATTACONE, G., NUDDA, A., CANNAS, A., CAPPIO BORLINO, A., BOMBOI, G., Y PULINA, G. 2003. Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *Journal of Dairy Science*, 86, 2667-2675.
- BATTACONE, G., NUDDA, A., PALOMBA, M., PASCALE, M., NICOLUSSI, P., Y PULINA, G. 2005. Transfer of Aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science*, 88, 3063-3069.
- BELL, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73, 2804-2819.
- BRITZI, M., FRIEDMAN, S., MIRON, J., SOLOMON, R., CUNEAH, O., Y SHIMSHONI, J.A. 2013. Carry-over of Aflatoxin B1 to Aflatoxin M1 in high yielding Israeli cows in mid- and late-lactation. *Toxins*, 5, 173-183.

- COCKCROFT, P.D. 1995. Sudden death in dairy cattle with putative acute aflatoxin B1 poisoning. *Veterinary Record*, 136, 248.
- COLVIN, B.M., HARRISON, L.R., GOSSER, H.S., Y HALL, R.F. 1984. Aflatoxicosis in feeder cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184, 956–958.
- COOK, W.O., RICHARD, J.L., OSWEILER, G.D., Y TRAMPEL, D.W. 1986. Clinical and pathologic changes in acute bovine aflatoxicosis: rumen motility and tissue and fluid concentrations of aflatoxins B1 and M1. *American Journal of Veterinary Research* 47, 1817–1825.
- COSTAMAGNA, D. 2019. Contaminantes en leche, productos y subproductos lácteos: evaluación de factores de riesgo y estrategias de intervención. Tesis Doctoral. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral.
- COSTAMAGNA, D., GAGGIOTTI, M.C., SIGNORINI, M. 2018. Ocurrencia natural de aflatoxina M1 en leche de tanque proveniente de tambos de la cuenca lechera central de Argentina y factores de riesgo asociados. *Información Técnica de Producción Animal. Publicación Miscelánea Año VI - N° 4. ISSN en línea 2314-3126*VII.
- DI RIENZO, J. A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., Y ROBLEDO, C. W. 2012. InfoStat version 2012. InfoStat group, FCA, Cordoba National University, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DIAZ, D.E., HAGLER, J.W.M., BLACKWELDER, J.T., EVE, J.A., HOPKINS, B.A., ANDERSON, K.L., JONES, F.T., Y WHITLOW, L.W. 2004. Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia*, 157, 233–241.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2009. Review of micotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of actions, efficacy and feed/food safety. *Scientific Report. The European Food Safety Authority Journal*, 19-46.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2009. Review of micotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of actions, efficacy and feed/food safety. *Scientific Report. The European Food Safety Authority Journal*, 19-46.
- EUROPEAN COMMUNITY. 2002. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Official Journal of the European Communities*, L221-L232
- EUROPEAN COMMUNITY. 2006. Commission regulation N° 1881/2006 of 19 December 2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of European Communities*, L128-132.
- FINK-GREMMELS, J. 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. *Food Additives and Contaminants*, 25, 172-180.
- GAGGIOTTI, M.C., CAFFARATTI, S., ROMERO, L., BASÍLICO, J.C., BASÍLICO, M.L.Z. DE, Y COMERÓN, E. 2001. Ensilajes de maíz y sorgo forrajero: influencia de la compactación sobre la calidad micotoxicológica. En: 24° Congreso Argentino de Producción Animal. Rafaela, 19 al 21 de setiembre de 2001.
- GARRETT, W.N. Y HINMAN, N. 1989. Reevaluation of the relationship between carcass density and body composition of beef steers. *Journal of Animal Science* 28, 1.
- GONÇALVES, B. L., CORASSIN, C.H., Y OLIVEIRA, C.A.F. 2015. Mycotoxicoses in dairy cattle: A review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 752–760.
- HERDT, T.H., Y DYK, P.B. 1997. Plasma nonesterified fatty acid testing in the evaluation of dry cow nutrition. *Michigan Dairy Review*, 2 (1).
- IARC (International Agency for Research on Cancer), Aflatoxins, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 62 IARC Press, Lyon, France, 2002, pp. 171–300.

- INDEC. 2012. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010: censo del Bicentenario: resultados definitivos, Serie B nº 2. - 1a ed. - Buenos Aires: Instituto Nacional de Estadística y Censos - INDEC, 2012. v.1, 378 p. ISBN 978-950-896-421-2.
- KUIPER-GOODMAN, T. 1990. Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxin, ochratoxin and zearalenone. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 1017–1024.
- KUTZ, R.E., SAMPSON, J.D., POMPEU, L.B., LEDOUX, D.R. SPAIN, J.N., VAZQUEZ-ANON, M., Y ROTTINGHAUS, G.E. 2009. Efficacy of Solis, Novasil Plus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M1 levels in milk of early to mid lactation dairy cows fed aflatoxin B1. *Journal Dairy Science*, 92, 3959–3963.
- LÓPEZ, C.E., RAMOS, L.L., RAMADAN, S.S., Y BULACIO, L.C. 2003. Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, 14, 31–34.
- MARIN, D.E., TARANU, I., BUNACIU, R.P., PASCALE, F., TUDOR, D.S., AVRAM, N., SARCA, M., CUREU, I., CRISTE, R.D., SUTA, V., Y OSWALD, I.P. 2002. Changes in performance, blood parameters, humoral and cellular immune responses in weanling piglets exposed to low doses of aflatoxin. *Journal of Animal Science*, 80, 1250–1257.
- MASOERO, F., GALLO, A., MOSCHINI, M., PIVA, G., Y DIAZ, D. 2007. Carry-over of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. *Animal*, 1, 1344–1350.
- MERCOSUR. 2002. Reglamento técnico MERCOSUR sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz. GMC/RES. Nº 25/02. Disponible en: www.mercosur.int
- MICHLIG, N., SIGNORINI, M., GAGGIOTTI, M., CHERICATTI, C., BASÍLICO, J.C., REPETTI, M.R., Y BELDOMENICO, H.R. 2016. Risk factors associated with the presence of aflatoxin M1 in raw bulk milk from Argentina. *Food Control*, 64, 151-156.
- MILLER, D.M., STUART, B.P., Y CROWELL, W.A. 1981. Experimental aflatoxicosis in swine: Morphological and clinical pathological results. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 45, 343–351.
- Noro, M., y Barboza, C.S. (2012). Cetosis en rebaños lecheros: presentación y control. *Spei Domus*, 8(17), 48-58.
- NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- OSPINA, P.A., NYDAM, D.V., STOKOL, T., Y OVERTON, T.R. 2010. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal Dairy Science*, 93, 3595-601.
- OVERTON, T.R. 2003. Managing the metabolism of transition cows. *Proceedings of the 6th Western Dairy Management Conference*, March 12-14, Reno, Nevada.
- PHILLIPS, W., Y HORN, G. 2008. Intake and digestion of wheat forage by stocker calves and lambs. *Journal Animal Science*, 86 (9), 2424-2429
- PRANDINI, A., TANSINI, G., SIGOLO, S., FILIPPI, L., LAPORTA, M., PIVA, G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products, *Food Chem. Toxicol.* 47 (2009) 984–991.
- QUEIROZ, O.C.M., HAN, J.H., STAPLES, C.R., ADESOGAN, A.T. 2012. Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M1 concentration and the performance and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B1 contaminated diet. *Journal Dairy Science*, 95, 5901–5908.
- SPOTTI, M., FRACCHIOLLA, M.L., ARIOLI, F., CALONI, F. 2005. Aflatoxin B1 Binding to Sorbents in Bovine Ruminant Fluid. *Veterinary Research Communications*, 29(6), 507-15
- STROUD, J.S. 2006. The effect of feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin contaminated diets. MS Thesis. North Carolina State Univ., Raleigh.

- XIONG, J. L., WANG, Y.M. NENNICH, T.D., LI, Y., Y LIU, J.X. 2015. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows. *Journal Dairy Science*, 98, 2545–2554.
- YIANNIKOURIS, A., POUGHON, L., CAMELEYRE, X., DUSSAP, C.G., FRANÇOIS, J., BERTIN, G., JOUANY, J.P. 2003. A novel technique to evaluate interactions between *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and mycotoxins: application to zearalenone. *Biotechnology Letter*, 25, 783-789.

CUANTIFICACIÓN DE LA TASA DE TRANSFERENCIA DE AFLATOXINA M₁ DESDE LOS ALIMENTOS DEL GANADO BOVINO LECHERO HASTA LOS QUESOS

Costamagna, D.^{1*}; Gaggiotti, M.¹; Audero, G.¹; Costabel, L.¹;
Chiericatti, C.³; Taverna, M.¹; Signorini, M.^{1,2}

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

³ Fac. Ingeniería Química – Universidad Nacional del Litoral.

* costamagna.dianela@inta.gob.ar

1. INTRODUCCIÓN

La aflatoxina M₁ (AFM₁) es una toxina importante en la leche y productos lácteos ya que es el principal derivado hidroxilado de aflatoxina B₁ (AFB₁) formado en el hígado de los animales y secretada en la leche (Hwang y Lee, 2006). Por lo tanto, representa un riesgo potencial para los seres humanos a través del consumo de leche y productos lácteos (Galvano *et al.*, 1996). Si la leche cruda contiene AFM₁, es probable que se encuentre en el producto final debido a su alta estabilidad térmica (Campagnollo *et al.*, 2016).

En la elaboración de quesos, dos productos se derivan de la leche: el queso y el suero, donde el queso representa aproximadamente el 10% de la masa inicial de leche, siendo la porción restante suero (Galvano *et al.*, 1996). Los resultados de numerosas investigaciones mostraron una unión preferencial de AFM₁ a la caseína (Brackett y Marth, 1982a; Galvano *et al.*, 1996). A pesar de esta interacción durante la producción de quesos, parte del contenido de AFM₁ se drena de la cuajada junto con el suero de queso (Cattaneo *et al.*, 2013).

El mayor porcentaje de la leche producida en Argentina se destina a la elaboración de quesos (OCLA, 2018), siendo el suero lácteo el principal subproducto derivado, siendo utilizado como componente funcional en una amplia gama de productos comerciales, pudiendo contribuir también a la ingesta de AFM₁ (Morr, 1989). Por lo planteado, el objetivo de este estudio fue cuantificar la tasa de transferencia de aflatoxinas de los alimentos a la leche y su distribución durante la elaboración de dos tipos de quesos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un Sistema de Ordeño Voluntario (VMS) ubicado en la región lechera central de Argentina, con un sistema de producción semi-intensivo donde las vacas tienen acceso a pasturas, forrajes conservados y alimentos concentrados durante todo el año, similar al promedio de los establecimientos lecheros del país.

2.1. Muestras

2.1.1. Alimentos

Se recolectaron, con una frecuencia mensual, un total de 32 muestras de los alimentos que consumían las vacas en ordeño: 8 muestras de pasturas, 12 muestras de balanceado comercial y 12 muestras de Raciones Parcialmente Mezcladas (PMR) compuestas de silaje de maíz y trigo, semilla de algodón, heno de alfalfa y subproductos como expeller de soja y pellet de girasol. El análisis cuantitativo

de AFB₁ en muestras de alimentos se basó en un inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) utilizando el kit de prueba RIDASCREEN®FAST (R-Biopharm, Alemania), con un límite de detección <1,7 µg/kg.

Además, el tamaño de partícula de PMR se midió mediante el separador de partículas penn state (Heinrichs y Kononoff, 2002). Se colocó una muestra de 500 g de PMR en la bandeja superior y se agitó. Luego se pesaron los materiales de las bandejas respectivas y se calculan las proporciones en cada una.

2.1.2. Leche

Mensualmente, se tomaron muestras de leche de tres vacas seleccionadas al azar según la etapa de lactancia: a) <90 días de lactancia (alta producción de leche); b) entre 90 y 150 días de lactancia (producción de leche mediana) y c) >150 días de lactancia (baja producción de leche). Durante el primer año (2016), se tomaron muestras de 12 vacas por cada momento de lactancia descrito, obteniéndose un total de 36 muestras de leche. La leche de cada animal fue individualizada y utilizada para la producción de mini-quesos blandos. A su vez, se realizaron muestreos de leche de vacas elegidas al azar, hasta completar *pools* de 180 litros para la elaboración de quesos duros de pasta cocida. El análisis cuantitativo de AFM₁ en leche se realizó usando el kit de prueba RIDASCREEN® (R-Biopharm, Alemania) con un límite de detección de 0,005 µg/l.

2.2. Elaboraciones de productos lácteos

2.2.1. Quesos de pasta blanda

Se fabricaron un total de 36 mini-quesos blandos de acuerdo con el proceso estándar para el queso Cremoso Argentino, adaptado para quesos miniatura (Costabel *et al.*, 2017) en el área de procesos del Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria del INTA Rafaela. Todos los quesos se maduraron 20 días a 4°C.

2.2.2. Quesos de pasta dura

Se elaboraron un total de 9 quesos duros de pasta cocida de acuerdo con el proceso estándar para el queso Reggianito Argentino (Gallino, 1994) en el área de procesos del Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria del INTA Rafaela. Todos los quesos se maduraron en cámara con temperatura y humedad controlada (12°C, 85% de humedad) por un período máximo de 180 días.

2.2.3. Detección de aflatoxinas en queso y suero

Las muestras de mini-quesos blandos, duros y suero se analizaron para AFM₁ usando el kit de prueba RIDASCREEN® (R-Biopharm, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante. El límite de detección fue de 0,05 µg/l para todas las matrices.

2.3. Tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ en leche

La tasa de transferencia fue calculada a partir de los datos de consumo y concentración de AFB₁ en los alimentos de las vacas y de la producción y concentración de AFM₁ en la leche producida por las mismas, se calculó la proporción de AFB₁ que fue excretada en leche como AFM₁.

$$TT = \frac{\text{Excreción de AFM1 leche } (\mu\text{g/vaca})}{\text{AFB1 ingerida } (\mu\text{g/vaca})}$$

Donde la excreción de AFM₁ en la leche y la AFB₁ ingerida, se calcularon como:

$$\text{Excreción } (\mu\text{g/vaca}) = \text{AFM1 leche } (\mu\text{g/l}) * \text{Produccion leche } (\text{l/vaca})$$

$$\text{Ingesta AFB}_1 (\mu\text{g/vaca}) = \text{AFB}_1 \text{ alimentos } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}}\right) * \text{consumo de alimento (Kg/vaca)}$$

2.4. Análisis estadístico

El efecto de las estaciones del año, los días en lactancia, la producción de leche, el recuento de células somáticas, el tamaño de partícula (consideradas variables independientes) sobre la concentración de AFM₁ en la leche y en la tasa de transferencia de AFB₁ (ambas variables de resultado) se evaluó mediante modelos lineales generalizados con distribución Gamma como función de enlace. Este modelo estadístico se seleccionó dado que las variables de resultado no se distribuyeron normalmente. Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Cuantificación de la tasa de transferencia de aflatoxina M₁ durante la elaboración de quesos *blandos y duros a partir de leche cruda contaminada naturalmente.*

3.1.1. Alimentos

La prevalencia general para AFB₁ fue del 76%, con una media diaria de AFB₁ en la dieta de 3,3 ± 1,8 µg/kg de materia seca (Tabla 1). El consumo de materia seca (MS) promedio fue de 23,87 ± 1,8 kg de MS/vaca/día.

La Unión Europea (UE) (European Community, 2002) y el MERCOSUR (MERCOSUR, 2002) determinan un nivel máximo de 5 y 20 µg/kg de AFB₁ en los alimentos para el ganado lechero, respectivamente. En este estudio, el 19% de los alimentos ofrecidos al ganado lechero excedió el valor establecido por la UE, pero ninguno de ellos el valor establecido por el MERCOSUR (Tabla 1).

La concentración de AFB₁ en los alimentos no se vio influenciada por las estaciones del año ($P=0,106$), aunque las mayores concentraciones se obtuvieron en los meses de otoño-invierno debido a los cambios que se realizan en las proporciones de los alimentos en la dieta, con una mayor participación de PMR compuesta por forrajes conservados y subproductos, en detrimento de las pasturas. Por otro lado, la prevalencia de AFB₁ fue particularmente alta en la PMR, aunque las mayores concentraciones se observaron en las pasturas.

Tabla 1. Media (M) ± desvío estándar (DE), mínimo (Min.) y máximo (Max.) niveles de aflatoxina B₁ (µg/kg) en diferentes estaciones y alimentos.

| Estación | Nº de muestras | M ± DE | Min | Max | Nº de muestras positivas, n (%) | Exceden el límite, n (%) | |
|------------------|----------------|------------------|----------|------------|---------------------------------|--------------------------|----------------------|
| | | | | | | 20 µg/kg ^a | 5 µg/kg ^b |
| Verano | 9 | 2,9 ± 1,2 | 0,8 | 5,2 | 8 (89) | 0 (0) | 1 (11) |
| Otoño | 6 | 3,5 ± 2,1 | nd | 5,7 | 5 (83) | 0 (0) | 2 (33) |
| Invierno | 8 | 4,1 ± 1,8 | 1,9 | 7,6 | 8 (100) | 0 (0) | 2 (25) |
| Primavera | 9 | 2,3 ± 2,4 | nd | 8,1 | 4 (44) | 0 (0) | 1 (11) |
| Alimentos | | | | | | | |
| Pasturas | 8 | 4,4 ± 2,6 | 0,5 | 7,6 | 7 (87) | 0 (0) | 4 (50) |
| Balanceado | 12 | 2,3 ± 1,7 | nd | 5,7 | 8 (67) | 0 (0) | 1 (8) |
| PMR ^c | 12 | 3,2 ± 1,2 | 1,1 | 5,3 | 11 (92) | 0 (0) | 1 (8) |
| Promedio | 32 | 3,3 ± 1,8 | 0 | 8,1 | 26 (76) | 0 (0) | 6 (19) |

nd: <límite de detección; ^a Límite MERCOSUR (20 µg/kg); ^b Límite Unión Europea (5 µg/kg)

^c PMR= Ración Parcialmente Mezclada

3.1.2. Leche

Los niveles de AFM₁ en las 36 muestras de leche variaron entre 0,003 µg/l y 0,064 µg/l con una media de 0,014 µg/l (Tabla 2).

Tabla 2. Media (M) ± desvío estándar (DE), niveles mínimos (Min.) y máximos (Max.) de aflatoxina M₁ (µg/l) en leche cruda por estación climática.

| Estación | Nº de muestras | M ± DE | Min | Max | Muestras positivas, n (%) | Exceden los límites n, (%) | | |
|--------------|----------------|--------------------|--------------|--------------|---------------------------|----------------------------|-------------------|--------------------|
| | | | | | | 0,5 ^a | 0,05 ^b | 0,025 ^c |
| Verano | 9 | 0,011±0,011 | 0,003 | 0,036 | 8 (89) | 0(0) | 1(11) | 2(22) |
| Otoño | 9 | 0,013±0,019 | 0,004 | 0,061 | 5 (55) | 0(0) | 1(11) | 1(11) |
| Invierno | 9 | 0,021±0,020 | 0,003 | 0,064 | 8 (89) | 0(0) | 1(11) | 3(33) |
| Primavera | 9 | 0,011±0,005 | 0,004 | 0,017 | 7 (78) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| Media | 36 | 0,014±0,013 | 0,003 | 0,064 | 28 (78) | 0(0) | 3(8) | 6(17) |

^a Límite MERCOSUR (0,5 µg/l); Límite Unión Europea para ^b leche fluida (0,05 µg/l) y ^c leche para fórmula infantil (0,025 µg/l).

Veintiocho de las 36 muestras de leche (77,8%) tuvieron niveles detectables de AFM₁. De acuerdo con la regulación del MERCOSUR, no existen diferencias en los niveles de tolerancia de la leche fluida y los destinados a los lactantes. Sin embargo, la Unión Europea, teniendo en cuenta la mayor susceptibilidad de esta población, fijó la tolerancia en la leche infantil a la mitad del valor requerido para los adultos (0,025 µg/l) (European Community, 2004). Al respecto, el 8% y 17% de las muestras presentó concentraciones superiores a los límites establecidos por la regulación europea 0,05 µg/l para leche fluida y 0,025 µg/l para leche infantil, respectivamente. Por el contrario, todas las muestras se encontraron por debajo de los niveles establecidos por la legislación del MERCOSUR (0,5 µg/l) (MERCOSUR, 2002).

La presencia y concentración de AFM₁ en la leche no estuvo influenciada por las estaciones del año ($P=0,325$) aunque los mayores valores se detectan en los meses de otoño-invierno, probablemente explicado por los cambios que ocurren en la alimentación de las vacas en ordeño, donde los forrajes conservados y los subproductos se presentan en mayor proporción.

3.1.3. Tasa de transferencia de AFB₁ de los alimentos a la leche

La tasa de transferencia promedio de AFB₁ a AFM₁ fue del 0,84% con una variación entre el 0,05% y el 5,93% (Tabla 3).

Tabla 3. Valores medios ± desvío estándar de la ingesta de aflatoxinas, producción de leche y tasa de transferencia por período de lactancia.

| Producción de leche | Ingesta AFB ₁ (µg/día) | Producción diaria (l/día) | Concentración AFM ₁ en leche (µg/l) | Excreción AFM ₁ en leche (µg/día) | Tasa de transferencia % (rango) |
|---------------------|-----------------------------------|---------------------------|--|--|---------------------------------|
| Alta (n=12) | 66,08±27,5 | 34,12±9,7 | 0,016±0,02 | 0,484±0,43 | 0,88 (0,06 – 1,99) |
| Media (n=12) | 66,92±26,0 | 30,54±5,5 | 0,015±0,02 | 0,514±0,63 | 1,09 (0,07 – 5,93) |
| Baja (n=12) | 67,50±25,6 | 20,15±5,7 | 0,011±0,01 | 0,239±0,22 | 0,56 (0,05 – 3,22) |
| Media (rango) | 66,8 (15 – 108) | 28,27 (13 – 49) | 0,014 (0,003 - 0,064) | 0,413 (0,039 – 2,405) | 0,84 (0,05 – 5,93) |

La tasa de transferencia hallada en este estudio coincide con lo reportado por la bibliografía. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2004), declara que la tasa de transferencia en rumiantes, está entre 1 y 3%. Sin embargo, Britzi *et al.* (2013) sugirieron que la producción de leche es el factor principal que afecta la tasa de transferencia, con tasas promedio de 2,5% para vacas de baja producción (<35 l/día) y 5,4% para vacas de alta producción (>35 l/día).

3.1.4. Quesos blandos

La leche utilizada para los ensayos de producción de queso presentó valores de concentración natural de AFM₁ de 0,016, 0,015 y 0,011 µg/l. Se detectó AFM₁ en 19 (52,8%) de las 36 muestras de queso analizadas, donde solo una de las muestras de queso superó el nivel máximo aceptable establecido por los países de la Unión Europea que regulan la AFM₁ en los quesos (0,25 µg/kg). De igual manera, sólo una de las muestras de suero presentó valores de AFM₁ superiores a 0,05 µg/l.

La Tabla 4 muestra la distribución de AFM₁ en queso y suero durante la producción de quesos blandos a partir de la leche contaminada naturalmente con AFM₁.

Tabla 4. Distribución de AFM₁ en leche, suero y queso, para el método de producción de Queso Cremoso Argentino.

| Producción de leche | Muestras | Cantidad (l or Kg) | AFM ₁ | | % de distribución de AFM ₁ ^a |
|---|----------|--------------------|------------------|-----------------|--|
| | | | (µg/l o µg/kg) | Total masa (µg) | |
| Alta (n=12) | Leche | 1 | 0,01607 | 0,01607 | |
| | Suero | 0,851 | 0,01289 | 0,01097 | 56,9 |
| | Queso | 0,107 | 0,07768 | 0,00831 | 43,1 |
| ^b Factor de concentración en queso = 4,8 | | | | | |
| Media (n=12) | Leche | 1 | 0,01564 | 0,01564 | |
| | Suero | 0,850 | 0,01283 | 0,01090 | 58,1 |
| | Queso | 0,107 | 0,07349 | 0,00786 | 41,9 |
| Factor de concentración en queso = 4,7 | | | | | |
| Baja (n=12) | Leche | 1 | 0,01094 | 0,01094 | |
| | Suero | 0,848 | 0,00877 | 0,00744 | 56,7 |
| | Queso | 0,107 | 0,05312 | 0,00568 | 43,3 |
| Factor de concentración en queso = 4,8 | | | | | |
| Promedio (n=36) | Leche | 1 | 0,01422 | 0,01422 | |
| | Suero | 0,849 | 0,01150 | 0,00976 | 57,2 |
| | Queso | 0,107 | 0,06825 | 0,00730 | 42,8 |
| Factor de concentración en queso = 4,8 | | | | | |

^a [(Total de masa de AFM₁ (µg) en suero o queso) * 100 / (AFM₁ en queso + suero)]

^b Concentración de AFM₁ en queso sobre leche

En las muestras de suero, los niveles de AFM₁ fueron entre 56% y 58% de la cantidad total de la toxina presente en la leche contaminada naturalmente, encontrándose el porcentaje restante en los quesos. Con respecto al factor de concentración AFM₁ de la leche al queso, la concentración de AFM₁ resultó ser más alta en queso en comparación con la leche original. El nivel de AFM₁ resultó ser en promedio, 4,8 veces mayor en quesos blandos en comparación con la leche utilizada para su fabricación.

3.1.5. Quesos duros

La leche utilizada para los ensayos de producción de queso tenía un valor promedio de concentración natural de AFM₁ de 0,005 µg/l. Se detectó AFM₁ en ocho (89%) de las 9 muestras de queso analizadas, aunque las mismas estuvieron dentro del nivel máximo aceptable establecido por los países de la Unión Europea que regulan la AFM₁ en los quesos (0,25 µg/kg). Del mismo modo, ninguna de las muestras de suero presentó valores de AFM₁ superiores a 0,05 µg/l.

La Tabla 5 muestra la distribución de AFM₁ en queso y suero durante la producción de quesos duros a partir de leche contaminada naturalmente. En las muestras de suero, los niveles de AFM₁ fueron del 53% de la cantidad total de la toxina presente en la leche contaminada naturalmente, encontrándose el porcentaje restante en los quesos. La concentración de AFM₁ resultó ser más alta en queso en comparación con la leche original. El nivel de AFM₁ fue, en promedio, 11,8 veces mayor en quesos duros en comparación con la leche utilizada para su fabricación.

Tabla 5. Distribución de AFM₁ en leche, suero y queso, para el método de producción de Queso Reggianito Argentino.

| Producción de leche | Muestras | Cantidad (l o kg) | AFM ₁ | | % de distribución de AFM ₁ ^a |
|--|----------|-------------------|------------------|-----------------|--|
| | | | (µg/l, kg) | Total masa (µg) | |
| Elaboración 1 (n=3) | Leche | 165 | 0,0053 | 0,8750 | |
| | Suero | 160 | 0,0049 | 0,7917 | 53,7 |
| | Queso | 9,7 | 0,0704 | 0,6829 | 46,3 |
| ^b Factor de concentración en queso = 13,3 | | | | | |
| Elaboración 2 (n=3) | Leche | 151 | 0,0054 | 0,8150 | |
| | Suero | 139 | 0,0052 | 0,7208 | 52,9 |
| | Queso | 9,6 | 0,0668 | 0,6413 | 47,1 |
| Factor de concentración en queso = 12,4 | | | | | |
| Elaboración 3 (n=3) | Leche | 131 | 0,0039 | 0,5110 | |
| | Suero | 122 | 0,0036 | 0,4446 | 53,5 |
| | Queso | 9,9 | 0,0391 | 0,3871 | 46,5 |
| Factor de concentración en queso = 10,0 | | | | | |
| Promedio (n=9) | Leche | 149 | 0,0049 | 0,7301 | |
| | Suero | 139 | 0,0047 | 0,6482 | 53 |
| | Queso | 10 | 0,0578 | 0,5780 | 47 |
| Factor de concentración en queso = 11,8 | | | | | |

^a [(Total de masa de AFM₁(µg) en suero o queso) * 100 / (AFM₁ en queso + suero)]

^b Concentración de AFM₁ en queso sobre leche

En el presente estudio, independientemente del tipo de queso, la concentración de AFM₁ resultó ser mayor en el queso en comparación con la leche original, en consecuencia, la concentración de AFM₁ en el suero fue proporcionalmente menor. Considerando el tipo de queso, los de tipo duro resultaron tener mayores concentraciones de AFM₁ que los quesos blandos respecto a la leche con la cual fueron elaborados. Esto sugiere que el factor responsable del nivel de concentración de AFM₁ de la leche al queso está más relacionado con la pérdida de humedad durante el procesamiento que con la tecnología de fabricación del queso, coincidiendo con lo reportado por la bibliografía (Cavallarin *et al.*, 2014).

Algunos investigadores explican que las concentraciones de AFM₁ son 3-16 veces mayores en el queso que en la leche (Ardic *et al.*, 2009). Brackett y Marth (1982b) elaboraron quesos Parmesano y Mozzarella con leche naturalmente contaminada con AFM₁, el parmesano presentó un nivel de AFM₁ de 5,8 veces superior en comparación con la leche inicial naturalmente contaminada, mientras que en el queso mozzarella se observó un aumento en la concentración de la micotoxina de 8,1 veces.

La afinidad de AFM₁ por la caseína podría mencionarse como una de las razones para explicar el aumento de la concentración AFM₁ en el queso. Ardic *et al.* (2009) concluyeron que el queso es una fuente potencial de AFM₁ en comparación con otros productos lácteos porque esta toxina está asociada a la fracción de caseína (que se concentra en el queso). Sin embargo, una gran parte de la AFM₁ migra hacia el suero debido a que esta toxina es químicamente un componente soluble en agua (Dosako *et al.*, 1980).

3.2. Factores de riesgo que impactan sobre las concentraciones de AFM₁ en leche y en la tasa de transferencia

La tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ en la leche no se vio afectada por la producción individual de leche ($P=0,237$), la etapa de lactancia de las vacas ($P=0,298$), ni por el recuento de células somáticas en la leche ($P=0,864$). Sin embargo, cuando se consideró la producción de leche individual, independientemente de los días de lactancia, la tasa de transferencia se vio afectada ($P=0,001$). La misma fue en promedio de 1,21% (rango 0,23% - 5,93%) en vacas de alta producción (>28,5 l/día) mientras que vacas de baja producción (<28,5 l/día) presentaron una tasa de transferencia promedio de 0,48% (rango 0,05% - 2,12%).

El tamaño de partícula de la PMR retenido en la bandeja superior del separador se asoció con la concentración de AFM₁ en la leche ($P=0,010$) y la tasa de transferencia ($P=0,030$). Se recomienda que el 5 al 8% del material permanezca retenido en la bandeja superior, dado que este rango de valores indicaría que el animal tiene suficiente fibra efectiva en la dieta y de un tamaño adecuado para el correcto funcionamiento del rumen (Giordano *et al.*, 2010). Al respecto, en dietas en las que el tamaño de partícula en la bandeja superior del separador excedió el 8% del material que debía retenerse presentó una mayor concentración de AFM₁ (0,0164 µg/l) y tasa de transferencia (0,61%) que en la PMR en la que el tamaño de muestra fue ideal, dentro del rango del 5 al 8% (0,0075 µg/l y 0,34%, respectivamente).

El rumen tiene cierta capacidad natural para degradar parcialmente las aflatoxinas, pero esta capacidad depende de las características del rumen (pH y permanencia del alimento en el rumen) (Díaz *et al.*, 2004). Un tamaño de partícula adecuada en la ración (8% del material retenido en la bandeja superior del separador) permite una función del rumen adecuada (Heinrichs y Kononoff, 2002). Cuando este porcentaje es mayor, hay un exceso de fibra efectiva en la dieta por falta de homogeneidad en el alimento, lo que lleva a las vacas a seleccionar partículas de menor tamaño que pasan rápidamente por el rumen acortando el tiempo de permanencia del alimento, lo que evita que las bacterias degraden las micotoxinas (Moschini *et al.*, 2006).

4. CONCLUSIONES

Los niveles de AFM₁ en la leche producida y comercializada en Argentina no es un problema de gran relevancia. Sin embargo, es importante mantener un nivel bajo de AFB₁ en los alimentos destinados a vacas lecheras a fin de evitar la transformación de AFB₁ en AFM₁, ya que un bajo porcentaje de muestras, tanto de alimentos como de leche, excedieron el valor establecido por la UE. La aplicación de buenas prácticas de manejo, como por ejemplo la preparación de una dieta adecuada para las vacas, pueden convertirse en herramientas valiosas que ayuden al productor a minimizar las tasas de transferencias y, por ende, las concentraciones de AFM₁ en la leche.

En el caso de los quesos, AFM₁ incrementa su concentración respecto a la leche original debido a su afinidad con la fracción de caseína de la leche, sin embargo, una gran proporción de AFM₁ migra hacia el suero. Esto no debe ser ignorado porque el suero y productos relacionados, que antes se consideraban desechos del proceso, ahora se utilizan en la alimentación animal y como suplementos nutricionales para humanos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue apoyado por fondos de los proyectos del Programa Nacional de Producción Animal (PNPA-1126044 y PNPA-1126042) y Programa Nacional de Agroindustria y Agregado de Valor (PNAIyAV- 1130042) de INTA.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ARDIC, M., KARAKAYA, Y., ATASEVER, M., Y ADIGUZEL, G. 2009. Aflatoxin M₁ levels of Turkish white brined cheese. *Food Control*, 20, 196-199.
- BRACKETT, R. E., Y MARTH, E. H. 1982a. Association of aflatoxin M₁ with casein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 174, 439-441.
- BRACKETT, R. E., Y MARTH, E. H. 1982b. Fate of aflatoxin M₁ in parmesan and mozzarella cheese. *Journal of Food Protection*, 45, 597-600.
- BRITZI, M., FRIEDMAN, S., MIRON, J., SOLOMON, R., CUNEAH, O., Y SHIMSHONI, J.A. 2013. Carry-over of Aflatoxin B₁ to Aflatoxin M₁ in high yielding Israeli cows in mid- and late-lactation. *Toxins*, 5, 173-183.
- CAMPAGNOLLO, F. B., GANEV, K.C., KHANEGHAH, A. M., PORTELA, J. B., CRUZ, A.G., GRANATO D., CORASSIN, C.H., OLIVEIRA, C A.F. Y SANT'ANA, A.S. 2016. The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M₁: A review. *Food Control*, 68, 310-329.
- CATTANEO, T.M.P., MARINONI, L., IAMETTI, S., MONTI, L. 2013. Behavior of Aflatoxin M₁ in dairy wastes subjected to different technological treatments: Ricotta cheese production, ultrafiltration and spray-drying. *Food Control*, 32, 77-82.
- CAVALLARIN, L., ANTONIAZZI, S., GIACCONE, D., TABACCO, E. Y BORREANI, G. 2014. Transfer of aflatoxin M₁ from milk to ripened cheese in three Italian traditional production methods. *Food Control*, 38, 174-177.
- COSTABEL, L., AUDERO, G.M.L., CUATRIN, A., COSTAMAGNA, D. 2017. Desarrollo de un protocolo para la elaboración de quesos blandos miniatura. En: XVI Congreso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Mar del Plata, Buenos Aires. ISBN 978-987-22165-8-0.
- DI RIENZO, J. A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., Y ROBLEDO, C. W. 2012. InfoStat version 2012. InfoStat group, FCA, Cordoba National University, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DIAZ, D.E., HAGLER, J.W.M., BLACKWELDER, J.T., EVE, J.A., HOPKINS, B.A., ANDERSON, K.L., JONES, F.T., Y WHITLOW, L.W. 2004. Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M₁ in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia*, 157, 233–241.
- DOSAKO, S., KAMINOGAWA, S., TANEYA, S., Y YAMAUCHI, K. 1980. Hydrophobic surface areas and net charges of α s1-, κ -casein and α s1-casein: κ -casein complex. *Journal of Dairy Research*, 47(1), 123-129.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2004. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B₁ as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 39, 1–27.
- EUROPEAN COMMUNITY. 2002. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Official Journal of the European Communities*, L221-L232
- EUROPEAN COMMUNITY. 2004. Regulation (EC) N° 683/2004 of 13 April 2004 amending Regulation (EC) N° 466/2001 as regards aflatoxins and ochratoxin A in foods for infants and young children. *Official Journal European Union* L106, 3–5.

- GALLINO, R. 1994. Queso Reggianito Argentino: Tecnología de Fabricación. Pages 244-287 in Tecnología de los Productos Lácteos. Medios Audiovisuales y Gráficos- CERIDE, Eds. Diagramma S.A. Santa Fe, Argentina.
- GALVANO, F., GALOFARO, V., Y GALVANO, G. 1996. Occurrence and stability of aflatoxina M₁ in milk and milk products. A worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59, 1079-1090.
- GIORDANO, J.M.; GALLARDO, M.; BRAGACHINI, M.; PEIRETTI, J.; CATTANI, P.; CASINI, C. 2010. Uso del mixer para formular dietas balanceadas (TMR) en base a forrajes conservados. INTA - PRECOP II. Manual Técnico N° 7. ISSN 1667-9199.
- HEINRICH, J. KONONOFF, P. 2002. Evaluando el tamaño de partícula de forrajes y TMR usando el Nuevo Separador de Partículas de Forraje de Penn State, Departamento de Ciencias Animales y Lecheras de la Universidad Estatal de Pennsylvania, Extensión Cooperativa, DAS 02-42, p. 3.
- HWANG, J.H., Y LEE, K.G. 2006. Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cooking treatments. *Food Chemistry*, 98 (1), 71-75.
- MERCOSUR. 2002. Reglamento técnico MERCOSUR sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz. GMC/RES. N° 25/02. Disponible en: www.mercosur.int
- MORR, C.V. 1989. Whey proteins: manufacture, in *Developments in Dairy Chemistry*, Ed by Fox PF. Elsevier, London, 245–258.
- MOSCHINI, M., MASOERO, F., DIAZ, D.E., GALLO, A., PIETRI, A., PIVA, G. 2006. Plasma aflatoxin concentrations over time in bolus fed lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, 84 (1), 74.
- OCLA (Observatorio de la Cadena Láctea Argentina). 2018. Gráficos y cuadros. Disponible en: <http://www.ocla.org.ar/>.

EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE PLAGUICIDAS EN LA CUENCA LECHERA CENTRAL DE ARGENTINA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS

Costamagna, D.^{1*}; Gaggiotti, M.¹; Cristos, D.³; Rojas, D.³; Taverna, M.¹; Signorini, M.^{1,2}

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² CONICET.

³ INTA Castelar (Buenos Aires).

* costamagna.diana@inta.gob.ar

1. INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas es indispensable para mejorar la producción agrícola y controlar las enfermedades humanas y animales transmitidas por vectores. Sin embargo, el uso inadecuado de estas sustancias puede dejar residuos en los alimentos suministrados al ganado y estos, cuando se metabolizan, se depositan en la grasa y los músculos, pudiéndose también encontrar en la leche. Del mismo modo, el uso directo de estas sustancias para controlar los parásitos en el ganado puede generar residuos en la leche cuando no se respeta el período de espera (Rothwell *et al.*, 2001).

La exposición a plaguicidas, tanto en humanos como en animales, se da por tres vías: respiratoria, absorción dérmica y consumo de alimentos contaminados, siendo esta última la de mayor impacto (Tsiplakou *et al.*, 2010). La mayoría de las veces, la presencia de residuos de plaguicidas en alimentos para animales es la principal fuente de contaminación de productos lácteos con los mismos, ya que pequeñas cantidades entran en el cuerpo de los rumiantes, se concentran en el tejido graso y se transportan a través de las grasas y lipoproteínas circulantes del organismo para posteriormente ser excretados por orina y leche (Kampire *et al.*, 2011; Díaz *et al.*, 2012; Luzardo *et al.*, 2012).

La contaminación de la leche y los productos lácteos con residuos de pesticidas es un problema grave de salud pública, ya que los mismos son ampliamente consumidos por bebés, niños y adultos de todo el mundo (Goulart *et al.*, 2008). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la contaminación por plaguicidas en leche de tanque provenientes de establecimientos de la principal cuenca lechera de Argentina e identificar los factores de riesgo asociados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección de tambos

Las muestras fueron tomadas en 34 tambos ubicados en la principal cuenca lechera de nuestro país. El área de estudio involucró a departamentos del centro-oeste de la provincia de Santa Fe y noreste de la provincia de Córdoba. Para la selección de estos tambos se consideraron tres tipos de sistemas productivos representativos de los sistemas de producción predominantes en la zona bajo estudio: pastoril con suplementación, pastoril con encierre estratégico y estabulados.

2.2. Muestras

En cada establecimiento se tomaron muestras durante dos estaciones contrastantes desde el punto de vista climático y del tipo de alimentación recibida por el rodeo lechero (otoño-invierno 2016 y primavera 2016-verano 2017).

2.2.1. Leche de tanque

Un total de 68 muestras de leche cruda fueron recolectadas directamente del tanque de frío de los tambos después de la homogenización del contenido, bajo un protocolo de procedimiento de muestreo de leche en tanque de frío establecido por INTA-INTI (Taverna *et al.*, 2005).

2.2.2. Alimentos de ganado bovino lechero

En total, 284 alimentos fueron muestreados. Los mismos estuvieron compuestos por: forrajes verdes (FV) como pasturas de alfalfa, avena, trigo y cebada; forrajes conservados (FC) como silajes y henos; y productos y/o subproductos de la agroindustria (PySub.) como expeller, harinas, cáscara de soja, semilla de algodón, balanceados, burlanda y granos.

2.3. Plaguicidas analizados

Todas las muestras de leche cruda (n=68) fueron analizadas para detectar plaguicidas, pero solo 54 muestras de alimentos de los establecimientos donde se detectaron residuos en la leche, fueron analizadas para realizar un seguimiento de las posibles fuentes de contaminación con plaguicidas en la leche.

Se analizaron residuos de 18 plaguicidas en leche y alimentos: *Insecticidas órganofosforados (OP)*: Diazinon, Dimetoato, Clorpirifos-metil, Pirimifos-metil, Clorpirifos. *Insecticidas órganoclorados (OC)*: Endosulfan. *Piretroides (P)*: Permetrina, Cipermetrina, Deltametrina, Cialotrina, Bifentrin. *Carbamatos (CB)*: Carbofuran. *Herbicidas (H)*: Atrazina. *Fungicidas (F)*: Pyraclostrobin, Metalaxil, Azoxistrobin, Cyproconazol, Tebuconazole.

Además de estos plaguicidas enunciados, sólo en leche fueron analizados los siguientes: *Insecticidas órganofosforados (OP)*: Diclorvos, Fenitrothion, Malation y Malaoxon. *Fungicidas (F)*: Picoxistrobin, Carboxine, Protiocanazol, Epoxiconazol, Fludioxonil, Kresoxim-Metil y Captan. *Herbicidas (H)*: Acetoclor. *Piretroides (P)*: Fenvalerato y Ciflutrina. *Insecticidas órganoclorados (OC)*: Lindano, Heptacloro, Aldrine, Clordano, Metoxiclor, Dieldrin, Endrin, para, para, dichlorodiphenyltrichloroethane (pp-DDT) y sus metabolitos: pp-DDD y pp-DDE.

Las muestras de leche fueron analizadas mediante cromatografía gaseosa (Rojas *et al.*, 2012). Los resultados se expresaron en microgramo de plaguicidas por litro de leche cruda ($\mu\text{g/l}$). La determinación de residuos de plaguicidas en alimentos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masa de triple cuadrupolo UHPLC-MS/MS (Michlig *et al.*, 2017). Los resultados se expresaron en microgramo de plaguicidas por kilo de material vegetal ($\mu\text{g/kg}$).

2.4. Análisis estadístico

En el momento de la toma de muestras, se recogieron datos sobre varios factores de los establecimientos lecheros, a través de un cuestionario estructurado dividido en dos secciones: La PARTE A del cuestionario involucraba aspectos generales y productivos del establecimiento, tales como tipo de sistema productivo, actividades productivas desarrolladas, producción de leche (litros/día y litros/vaca/día), ubicación geográfica, cantidad de hectáreas productivas y número de vacas en ordeño. La PARTE B del cuestionario examinó diferentes aspectos relacionados con los potenciales factores asociadas con la concentración de plaguicidas en la leche: porcentaje de la tierra disponible en el establecimiento utilizada para pasturas y agricultura, características de los campos colindantes, quién realiza el diagnóstico, la receta y especifica el tiempo de carencia, disposición final de los envases vacíos, registro de los tratamientos aplicados y características de los equipos utilizados para la aplicación.

Los análisis de regresión logística multivariable con tambo como efecto aleatorio se realizó utilizando un modelo mixto lineal generalizado (GLMM) para evaluar el efecto de las variables explicativas seleccionadas. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Detección de plaguicidas en leche

De las 68 muestras de leche analizadas, 17 (25%) fueron positivas a plaguicidas, con 15 (88,2%) muestras positivas para organofosforados (OP) y 6 (35,3%) para piretroides (P). El principal plaguicida detectado fue clorpirifós-metil, hallado en doce muestras de 17 (70,6%), seguido de permetrina (29,4%), pirimifós-metil (17,6%) y cialotrina (5,9%). En algunas muestras, se detectaron dos o más principios activos, lo que explica porcentajes superiores al 100%. El resto de los plaguicidas analizados no fueron detectados en ninguna muestra.

Los niveles promedios de plaguicidas en µg/l fueron 14,75 para clorpirifós-metil, 0,4 para pirimifós-metil, 0,3 para permetrina y 0,03 para cialotrina. La mayor frecuencia de plaguicidas encontrados en este estudio fue hallada en la estación de primavera-verano (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de residuos de plaguicidas (µg/l) en leche por estación climática.

| Estación | Clorpirifós Metil | Pirimifós Metil | Permetrina | Cialotrina |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| O-I (n=8) | 15,8±18,5 (1,7 - 55,5) 8 | 0,3±1 (¹ nd-2,8) 1 | 0,1±0,2 (nd - 0,5) 1 | nd |
| P-V (n=9) | 13,8±32 (nd - 97,4) 4 | 0,5±1 (nd - 2,6) 2 | 0,5 ±0,6 (nd - 1,6) 4 | 0,1±0,2 (nd - 0,5) 1 |
| Media (n=17) | 14,75 ±25,71 | 0,41±0,94 | 0,28±0,5 | 0,03±0,12 |
| ² LMR (µg/l) | 10 | 10 | 50 | 200 |

Referencias: Los resultados se presentan como media ± desviación estándar, rango de valores entre paréntesis y número de muestras positivas. ¹ nd:<límite de detección. ² Límites Máximos de Residuos (FAO/WHO, 2012).

Lo encontrado en el presente estudio coincide con evaluaciones previas realizadas en la misma zona, aunque más acotada, donde se buscaron 45 residuos de pesticidas en 253 muestras de leche cruda y se observó un mayor número de muestras detectadas en primavera-verano. Entre ellas, los principios activos revelados fueron pirimifós-metil en 2 muestras a niveles superiores a los reportados en este estudio (130 a 190 µg/l) y fenvalerato en una muestra a niveles de 140 µg/l, plaguicida no detectado en leche en este estudio (Rojas *et al.*, 2012).

Los niveles medios de residuos de plaguicidas en leche fueron inferiores a los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por FAO/WHO, Codex Alimentarius (FAO/WHO, 2012) para pirimifós-metil, permetrina y cialotrina. Sin embargo, para el caso de clorpirifós-metil, los valores promedios excedieron el LMR (10 µg/l). Analizando la concentración individual de las 12 muestras de leche positivas a clorpirifós-metil, el 50% de ellas se encontró dentro de los LMR, resultando el porcentaje restante por encima de dicho límite. Estos resultados podrían ser debidos a deficiencias en la aplicación de los plaguicidas bajo buenas prácticas agrícolas.

Entre los principales grupos de pesticidas, los organoclorados (OC) son más potentes debido a su persistencia y estabilidad. Los plaguicidas OC de importancia universal son pp-DDT, clordano, heptacloro, aldrine, dieldrin y endrin. Debido a la naturaleza lipofílica de estos pesticidas, la leche y otras sustancias ricas en grasa son los elementos clave para su acumulación (Agnihotri, 1999). En nuestro estudio, no se detectaron residuos de plaguicidas organoclorados en la leche, lo cual indica que su prohibición de uso fue efectivizada. Estas sustancias tóxicas se caracterizan por su bioacumulación en el medio ambiente, especialmente en la cadena alimentaria, donde encuentran su camino hacia el cuerpo humano y causan serios peligros para la salud (FAO, 2002). Por esta razón, estos residuos se siguen monitoreando, aunque en Argentina se encuentre prohibido el uso y comercialización. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran su erradicación.

3.2. Detección de plaguicidas en alimentos de ganado bovino lechero

De los 35 tambos evaluados, en 13 de ellos se detectaron residuos de plaguicidas en leche pertenecientes a la familia de los OP y P. Para realizar un seguimiento de las posibles fuentes de contaminación de la leche, se analizaron las muestras de alimentos que consumían las vacas de esos establecimientos positivos (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración de residuos de plaguicidas detectados en los alimentos y muestras de leche de 13 establecimientos lecheros.

| Plaguicidas | Concentración ug/kg o ug/l | | | |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | FV (n=5) | FC (n=18) | PySubp. (n=31) | Leche (n=17) |
| Atrazina | 12,4 ± 12 (nd - 26) 3 | 2,7 ± 6,5 (nd - 24) 2 | 1,8 ± 5,1 (nd - 23) 2 | nd |
| Bifentrin | nd | 0,6 ± 1 (nd - 3,1) 0 | 0,1 ± 0,4 (nd - 2,6) 0 | nd |
| Diazinon | 0,1 ± 0,3 (nd - 0,7) 0 | 0,4 ± 1,3 (nd - 4,2) 0 | 0,5 ± 0,1 (nd - 0,5) 0 | nd |
| Dimetoato | 6,3 ± 11,8 (nd - 27,3) 0 | nd | 0,1 ± 0,4 (nd - 2) 0 | nd |
| Metalaxil | 6,3 ± 11,8 (nd - 27,3) 1 | 0,2 ± 0,4 (nd - 1,2) 0 | 0,4 ± 0,7 (nd - 3) 0 | nd |
| Pirimifós-metil | 11,7 ± 23 (nd - 52,7) 1 | 16 ± 58,7 (nd - 250,8) 3 | 39,3 ± 77,8 (nd - 324,1) 14 | 0,4 ± 0,9 (nd - 2,8) 3 |
| Clorpirifós | 8,5 ± 9,7 (1,3 - 25,4) 1 | 17,3 ± 37,5 (0,9 - 122,6) 3 | 20,7 ± 37,3 (nd - 167,3) 13 | nd |
| Clorpirifós-metil | nd | 1,5 ± 6,2 (nd - 26,4) 1 | 11,4 ± 30,4 (nd - 128,5) 4 | 14,7 ± 25,7 (nd - 97,4) 12 |
| Permetrina | nd | nd | nd | 0,3 ± 0,5 (nd - 1,6) 5 |
| Cipermetrina | nd | nd | 1,5 ± 8,1 (nd - 45,4) 1 | nd |
| Deltametrina | nd | 3,7 ± 15,6 (nd - 66,1) 1 | 68 ± 137,5 (nd - 532,4) 12 | nd |
| Cialotrina | nd | nd | nd | 0,03 ± 0,1 (nd - 0,5) 1 |
| Endosulfán | nd | nd | nd | nd |
| Carbofuran | nd | nd | nd | nd |
| Azoxistrobin | nd | nd | nd | nd |
| Piraclostrobin | nd | 0,05 ± 0,15 (nd - 0,5) 0 | 0,02 ± 0,09 (nd - 0,5) 0 | nd |
| Tebuconazole | 1,6 ± 3,6 (nd - 8,1) 0 | 0,2 ± 0,9 (nd - 3,8) 0 | nd | nd |
| Ciproconazole | nd | nd | nd | nd |

Referencias: nd: < límite de detección; los datos de concentración de plaguicidas se presentan como: media ± desviación estándar, rango de valores y número de muestras positivas. FV: forrajes verdes; FC: forrajes conservados; PySubp.: productos y subproductos de la agroindustria.

Como se puede observar, existen residuos de plaguicidas que solo se detectaron en alimentos y no en leche y también se observó lo contrario, aunque la proporción de grupos de residuos de plaguicidas detectados en ambas matrices indicó la contribución más alta de OP, principalmente del grupo clorpirifós y pirimifós-metil (Figura 1A - B). La alta incidencia puede estar relacionada con el uso ampliamente extendido de estos insecticidas, debido a su amplio espectro de acción y una menor persistencia en el medio ambiente que los plaguicidas OC (Gazzotti *et al.*, 2009). Por ejemplo, algunos insecticidas como la

cipermetrina, deltametrina, diazinón, entre otros, pueden estar presentes en los alimentos del ganado bovino lechero, ya que se utilizan en el almacenamiento de granos, en el control de plagas en cultivos y pasturas, así como en productos para su aplicación directa sobre animales.

Además, por su uso prolongado en la agricultura, los insecticidas también pueden contaminar los cuerpos de agua utilizados tanto para la limpieza y desinfección de equipos de ordeño como para bebida animal (Dallegrave *et al.*, 2018). En este estudio no fue posible analizar los residuos de plaguicidas presentes en las fuentes de agua utilizadas en los establecimientos, siendo una posible causa de aparición de los mismos en leche.

La presencia de residuos de plaguicidas en alimentos para animales es la principal fuente de contaminación de productos lácteos por pesticidas (Tsiplakou *et al.*, 2010). Los residuos de plaguicidas detectados durante el presente estudio en alimentos fueron: atrazina en 7 muestras de pastura de alfalfa, silo de maíz, balanceado comercial y semilla de algodón a niveles promedio de $20,14 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 6,15 \mu\text{g}/\text{kg}$, metalaxil en una muestra de pastura de cebada a niveles de $27,3 \mu\text{g}/\text{kg}$, pirimifós-metil en 18 muestras de pastura de alfalfa, balanceado comercial, grano de maíz, burlanda de maíz, gluten de maíz y semilla de algodón a niveles de $84,19 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 99,33 \mu\text{g}/\text{kg}$, clorpirifós en 17 muestras pastura de alfalfa, balanceado comercial, grano de maíz y semilla de algodón a niveles de $52,05 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 49,06 \mu\text{g}/\text{kg}$, clorpirifós-metil en 5 muestras de grano de maíz, trigo y balanceado comercial a niveles de $65,74 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 50,15 \mu\text{g}/\text{kg}$, cipermetrina en una muestra de balanceado comercial a niveles de $45,4 \mu\text{g}/\text{kg}$, y deltametrina en 13 muestras pastura de alfalfa, balanceado comercial, burlanda de maíz, expeller de soja, grano de maíz y semilla de algodón a niveles de $166,58 \mu\text{g}/\text{kg} \pm 171,76 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Tabla 2).

La mayor cantidad de muestras positivas fueron detectadas en los productos y subproductos de la agroindustria, lo cual coincide con los usos de los principios activos hallados en ambas matrices, destinados al control de plagas en granos almacenados. El clorpirifós-metil solo o combinado con deltametrina, son productos autorizados por SENASA, de acción insecticida y gorgojicida para el control de plagas en granos almacenados y para tratamientos complementarios de instalaciones de almacenaje y transporte (CASAFE, 2017).

El clorpirifós no está recomendado ni autorizado para su uso en granos almacenados, solo en cultivos extensivos como alfalfa, algodón, cereales de invierno, girasol, maíz, soja y sorgo. El pirimifós-metil es un producto de amplio espectro (insecticida, acaricida, gorgojicida) y persistencia de control para el tratamiento de granos y semillas de trigo y maíz almacenados en bolsas o a granel, transportes (camiones) e instalaciones (silos) (CASAFE, 2017).

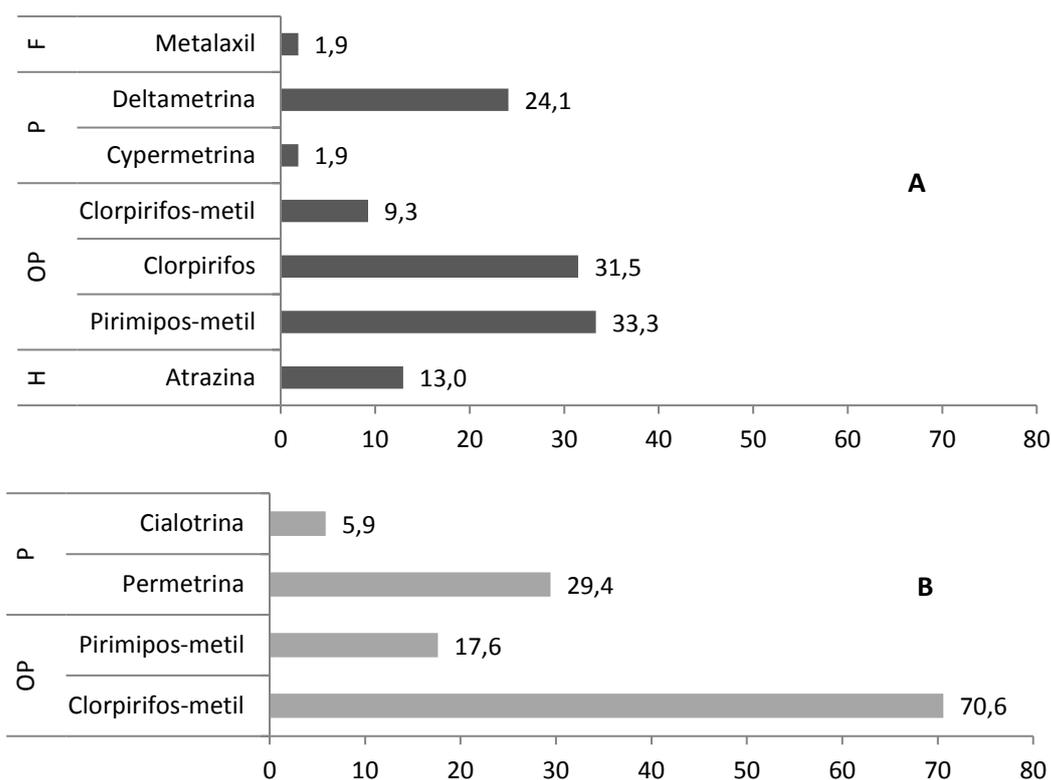


Figura 1. Porcentaje de muestras de alimentos (A) y leche (B) en las que se detectaron plaguicidas.

Los plaguicidas detectados durante el presente estudio en la leche fueron compatibles con el principio activo detectado en la alimentación ofrecida a los animales, sugiriendo una posible fuente de contaminación, pero no la única, debido a que los piretroides hallados en alimentos de ganado bovino lechero no fueron transferidos a leche, pero sí se encontraron otros residuos de piretroides en leche que pertenecen a principios activos o drogas de uso veterinario.

Los principios activos cialotrina y permetrina se utilizan para el control de parásitos externos en bovinos (mosca doméstica, mosca de los cuernos, garrapata, ácaros de la sarna) administrados exclusivamente por vía tópica mediante baño o *pour-on* y también es empleado en curabicheras a menudo mezclado con otros compuestos (ej.: organofosforados) de forma líquida (*spray*, aerosol) o en pomadas, cremas, etc. (Vademécum Veterinario, 2017).

Haematobia irritans, vulgarmente conocida como mosca de los cuernos, es hoy un ectoparásito endémico y problemático en las áreas ganaderas de la Argentina, sobre todo en las estaciones de primavera-verano. La eficacia de los piretroides para su control, el bajo costo y la facilidad de las aplicaciones tópicas (*pour-on*) dio lugar a su uso masivo, especialmente en vacas lecheras (Guglielmone *et al.*, 2001).

Una encuesta realizada por Suarez *et al.* (2006) en establecimientos destinados a la producción de leche de la provincia de Santa Fe y Córdoba, revela que los piretroides, como droga única o en combinación con otros tipos de insecticidas, constituyen el principal grupo químico utilizado. Estos piretroides son aplicados principalmente (69,4%) por vía tópica, seguida por la utilización de caravanas (28,5%) que emplea el uso de insecticidas organofosforados, principalmente diazinon, debido a que no presenta restricciones para su uso en animales en lactancia, hecho que se vio reflejado en este estudio al no ser detectado en muestras de leche.

La presencia de estos insecticidas en la leche proviene de la excreción a través de las glándulas mamarias, ya que la leche es rica en lípidos, lo que facilita la excreción de compuestos lipofílicos por esta vía (Suarez *et al.*, 2006). Esto demuestra que la leche podría constituirse en alimento de alto riesgo para la salud de los consumidores.

3.3. Evaluación de la concentración de plaguicidas en leche y su relación con prácticas de manejo en los establecimientos

En este estudio, la presencia de residuos de plaguicidas en leche no estuvo influenciada por las estaciones del año ($P=0,754$) ni por las características productivas de los establecimientos, como el tamaño del tambo ($P=0,723$), número de vacas en ordeño ($P=0,777$), producción diaria ($P=0,636$), producción individual de leche ($P=0,468$) y el tipo de sistema productivo ($P=0,390$).

Las actividades productivas desarrolladas en los establecimientos encuestados ($P=0,401$) no estuvieron asociadas a la presencia de plaguicidas en la leche. La mayor cantidad de muestras positivas de plaguicidas provenían de los establecimientos que realizan producción de leche, carne y agricultura en conjunto (53,3%), seguida por aquellos que combinaban la producción de leche con la actividad agrícola (20%) y en la misma proporción las actividades producción de leche (13,3%) y la combinación de ésta con carne (13,3%).

Un relevamiento de la utilización de agroquímicos en la provincia de Buenos Aires mostró que existen variaciones en el uso de plaguicidas asociadas al modelo productivo predominante (Gonzalez *et al.*, 2013). En este estudio observaron que las zonas con mayores valores de peligrosidad coincidían con actividades predominantemente agrícolas, en contraste con zonas de menores índices de peligrosidad donde predominaba la ganadería.

Con base en estos antecedentes, en el presente estudio se relevaron variables que pudieran estar potencialmente asociadas a la presencia de plaguicidas en la leche como: 1) las actividades productivas practicadas en los campos colindantes a los establecimientos lecheros, 2) qué porcentaje de la superficie total del establecimiento estudiado estaba destinado a pasturas y a cultivos agrícolas, ya sea para la elaboración de forrajes conservados y/o granos para venta o consumo propio del establecimiento.

Las características de los campos colindantes con agricultura ($P=0,612$), ganadería ($P=0,744$), tambo ($P=0,585$) y mixtos ($P=0,789$) no estuvieron asociados con la presencia de plaguicidas en leche durante el presente estudio. No obstante, el porcentaje de hectáreas destinadas a la implantación de pasturas y cultivos agrícolas, estuvo asociada con la presencia de plaguicidas en la leche ($P=0,037$). El 58,8% de los establecimientos destinaban más del 60% de la superficie a cultivos agrícolas y dentro de ellos, el 53,3% presentó residuos de plaguicidas en la leche. Estos resultados indican que la mayor cantidad de residuos de plaguicidas en la leche podría derivar de la agricultura, no resultando en este estudio ser la única fuente de contaminación.

Los productos fitosanitarios no son inocuos, por eso deben ser utilizados de manera responsable y solamente para el fin que fueron creados: proteger los cultivos de plagas, malezas y enfermedades para poder producir alimentos en cantidad y calidad (CASAFE, 2017). El uso seguro y responsable de los productos fitosanitarios comprende la realización de ciertas prácticas de manejo previo a la aplicación (realizar el diagnóstico del cultivo, contar con receta agronómica, calibración de las máquinas pulverizadoras, etc.), durante la aplicación (chequear condiciones ambientales) y posterior a la aplicación (respetar los tiempos de carencia, manejo de envases vacíos, etc.). Estas prácticas fueron relevadas durante el presente estudio en cada establecimiento para identificar su posible asociación a la presencia de residuos de plaguicidas en la leche.

Todos los establecimientos poseían algún tipo de asesoramiento agronómico respecto al manejo de cultivos, ya sea a través de un profesional contratado por el productor o por profesionales pertenecientes a las empresas que le proveen insumos de semillas, agroquímicos y fertilizantes, por lo que esta variable no estuvo asociada a la presencia de residuos de plaguicidas en leche ($P=0,874$).

El monitoreo de los cultivos es la observación detallada del estado fitosanitario del mismo, con el objetivo de realizar un diagnóstico para determinar la necesidad de aplicación de un plaguicida (CASAFE, 2017). En cada establecimiento, se relevó durante el presente estudio información acerca de quién realizaba el diagnóstico en los cultivos para la aplicación de los plaguicidas. En el 67,7% de los establecimientos el ingeniero agrónomo realizaba el diagnóstico de los cultivos y en el 32,4% restante el diagnóstico era realizado por el productor. Aunque esta variable no estuvo asociada a la presencia de residuos de plaguicidas en la leche ($P= 0,192$), se pudo observar que en aquellos establecimientos en los cuales se detectó plaguicidas en leche, el productor fue quién realizó el diagnóstico de los cultivos (73,3%), respecto a aquellos establecimientos en los cuales no se detectó plaguicidas en leche, donde el diagnóstico fue realizado por un ingeniero agrónomo (79,2%).

El 82,4% de los establecimientos realizaba la compra y aplicación de los plaguicidas sin la receta realizada por un profesional competente. Sólo el 17,6% de los productores utilizaba receta. Sin embargo esta variable no estuvo asociada a la presencia de residuos de plaguicidas en la leche ($P= 0,877$).

El 69,1% de los productores contrataba el servicio para realizar las pulverizaciones, el 27,9% de los productores poseía equipo propio para realizar las aplicaciones y el 2,9% realizaba una combinación de ambas, es decir, utilizaba equipos propios para las pulverizaciones sobre áreas pequeñas y contrataba el servicio cuando requería aplicar en grandes superficies. El 48,5% de los equipos que se utilizaban para realizar las pulverizaciones no se encuentra registrado, ya sea de dominio propio o contratado. Ambas variables, equipo propio o contratado ($P= 0,364$) y registro de equipos ($P= 0,713$) no se encontraron asociadas a la presencia de plaguicidas en la leche.

Todos los productores manifestaban chequear las condiciones climáticas antes de aplicar un plaguicida, sobre todo dirección y velocidad del viento y temperatura, principalmente en la época estival. El registro de los tratamientos permite no sólo realizar un seguimiento de los principios activos aplicados en el lote sino también es una herramienta valiosa para el productor que le permite chequear y respetar los tiempos de carencia. El período de carencia es el número de días que debe transcurrir entre la última aplicación del plaguicida y el momento de cosecha o uso del cultivo tratado (frutos, granos, pastoreo) (SENASA, 2012). Las variables, registro de los tratamientos aplicados en los establecimientos ($P= 0,009$) y cumplimiento de los tiempos de carencia ($P= 0,071$), estuvieron asociadas a la presencia de residuos de plaguicidas en la leche (Tabla 3).

Tabla 3. Modelo de regresión logística multivariable final para la contaminación de plaguicidas en la leche de tanque de tambos de la cuenca central de Argentina ($n= 68$ muestras de leche).

| <i>Variables predictivas</i> | <i>P</i> | <i>OR</i> | <i>OR IC 95%</i> |
|--------------------------------|----------|-----------|------------------|
| Registro de los tratamientos | 0,009 | 1,23 | 0,258 - 2,726 |
| Respeto de tiempos de carencia | 0,071 | 2,86 | 0,524 - 3,472 |

Referencias: OR= Odds Ratio; IC= Intervalo de Confianza

El 70,6% de los productores no llevaba registro de los tratamientos aplicados en sus establecimientos. Estos tuvieron un riesgo de 1,23 veces superior de hallar residuos de plaguicidas en la leche que producen, respecto a los que sí llevaban registros de los tratamientos que aplicaban a sus cultivos. Por otra parte, el 38,2% respetaba los tiempos de carencia, principalmente los que tienen que ver con el reingreso de los animales a las pasturas y el 61,8% no se informaba ni respetaba los tiempos de carencia. En aquellos establecimientos en los cuales se detectaron residuos de plaguicidas en la leche, el 86,7% de los productores no respetaban los tiempos de carencia. Los productores que no respetaban los tiempos de carencia tuvieron 2,86 veces más riesgo de hallar residuos de plaguicidas en la leche que producen, respecto a los que no lo respetaban.

Dallegre *et al.* (2018) realizaron una correlación entre el contenido de lípidos de varias matrices alimenticias, entre ellas la leche, con la cantidad detectada de insecticidas, especialmente piretroides y organofosforados, ya que los mismos son lipófilos y pueden migrar a porciones lipofílicas de los alimentos. Estos autores observaron que no existía una correlación entre el contenido de lípidos y los residuos de insecticidas en la leche. La cantidad de piretroides y organofosforados en la leche estuvo estrechamente relacionada con el tiempo transcurrido entre las aplicaciones y el ordeño, reafirmando lo hallado en este estudio.

Finalmente, se consultó a los productores sobre el manejo de los envases vacíos de los plaguicidas luego de la aplicación. El 61,8% de los productores realizaban un triple lavado y perforación en la base del envase vacío y luego lo vendían a compradores que pasaban a domicilio. En el 23,5 % de los casos el contratista luego de la aplicación se llevaba el envase vacío del establecimiento, realizando un lavado a presión mediante el sistema de bombas de la pulverizadora y sólo el 10% de los productores acumulaba los envases, sin lavado ni perforado en su base, hasta el momento en el que el comprador pasaba por su domicilio. Estas prácticas de manejo de los envases vacíos, no estuvieron asociadas a la presencia de plaguicidas en la leche ($P=0,916$).

El amplio espectro de control de los insecticidas piretroides podría ser una explicación de la alta incidencia en las muestras realizadas durante el presente estudio. Además, podemos afirmar que cuando no se cumplen las buenas prácticas agrícolas en la aplicación de plaguicidas, estos pueden llegar a la leche y constituirse en un peligro para la salud de los consumidores.

4. CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de diferentes insecticidas en muestras de leche, aunque los niveles detectados no representan riesgos considerables para la salud de los consumidores.

Los insecticidas organofosforados se utilizan ampliamente en la agricultura y ganadería debido a su amplio espectro de acción y su persistencia más corta en el medio ambiente respecto a otros. Estas características, sumado a los factores de riesgo identificados podrían ser una explicación de la alta incidencia de estos residuos en las muestras de leche. Por lo tanto, se recomienda la necesidad de mejorar las buenas prácticas agrícolas como, por ejemplo, llevar registros de las aplicaciones para respetar los tiempos de carencia, ya que resultaron ser las principales fuentes de contaminación de los alimentos con residuos de plaguicidas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- AGNIHOTRI, N.P. 1999. Pesticide safety evaluation and monitoring, Published all India coordinated research project of pesticide residues division of agricultural chemical. New Delhi: Indian Agricultural Research Institute, 119-146.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes). 2017. Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina. 18° ed. CASAFE (ed.) Argentina.
- DALLEGRAVE, A., PIZZOLATO, T.M., BARRETO, F., BICA, V.C., ELJARRATC, E., Y BARCELÓ, D. 2018. Residue of insecticides in foodstuff and dietary exposure assessment of Brazilian citizens. Food and Chemical Toxicology, 115, 329–335.
- DI RIENZO, J. A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., TABLADA, M., Y ROBLEDO, C. W. 2012. InfoStat version 2012. InfoStat group, FCA, Cordoba National University, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- DÍAZ, P.B., LANS, C.E., Y BARRERA, V.J.L. 2012. Residuos de insecticidas organoclorados presentes en leche cruda comercializada en el departamento de Córdoba, Colombia. Acta Agronómica, 61(1), 10-15.

- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2002. Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Roma, 28 de Octubre – 2 de Noviembre de 2002.
- FAO/WHO. (Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization). 2012. Codex Maximum Limits for Pesticides Residues. Codex Alimentarius Commission, FAO and WHO, Rome, Italy.
- GAZZOTTI, T., STICCA, P., ZIRONI, E., LUGOBONI, B., SERRAINO, A., Y PAGLIUCA, G. 2009. Determination of 15 Organophosphorus Pesticides in Italian Raw Milk. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82, 251–254.
- GONZÁLEZ, C., ALARCÓN, P., CASTELLANO, G., ECHEGARAY, A., IULIANO, R., Y LARA, I. 2013. Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la provincia de Buenos Aires. Disponible en: https://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/paginas/informe_agroquimicos_comprimido.pdf
- GOULART, S.M., DE QUEIROZ, M.E.L.R., NEVES, A.A., Y DE QUEIROZ, J.H., 2008. Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. *Talanta*, 75 (5), 1320–1323.
- GUGLIELMONE, A.A., CASTELLI, M.E., VOLPOGNI, M.M., MEDUS, P.D., ANZIANI, O.S., Y MANGOLD, A.J. 2001. Comparación de la concentración letal 50 de diazinón y cipermetrina para *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) entre áreas de producción de leche o carne de Santa Fe y Entre Ríos, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*, 82, 209-211.
- KAMPIRE, E., KIREMIRE, B., NYANZI, S., Y KISHIMBA, M. 2011. Organochlorine pesticides in fresh and pasteurized cow's milk from Kampala markets. *Chemosphere*, 84, 923-927.
- LORENZATTI, E., MAITRE, M., Y LENARDON, A. 2003. Evaluación de la contaminación con plaguicidas en productos lácteos. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias*, 2 (1).
- LUZARDO, O., ALMEIDA, M., ENRÍQUEZ, L.A., ZUMBADO, M., ÁLVAREZ, E., Y BOADA, L.D. 2012. Polychlorobiphenyls and organochlorine pesticides in conventional and organic brands of milk: Occurrence and dietary intake in the population of the Canary Islands (Spain). *Chemosphere*, 88 (3), 307-15.
- MICHLIG, N., HRBEK, V., REPETTI, M.R., DRABOVA, L., KOCOUREK, V., Y BELDOMENICO, H.R. 2017. Pesticide residues and mycotoxins determination on feed samples: a first step to assure milk quality." en el 8th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis (RAFA 2017). Praga, República Checa.
- ROJAS, D., PÁEZ, R., RICCA, A., ALBERTENGO, A. Y LINGUA, M. 2012. Residuos de pesticidas y aflatoxina M₁ en leche. Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/residuos-de-pesticidas-y-aflatoxina-M1-en-leche>.
- ROTHWELL, J.T., BURNETT, T.J., HACKET, K., CHEVIS, R., Y LOWE, L.B., 2001. Residues of zeta-cypermethrin in bovine tissues and milk following pour-on and spray application. *Pesticide Management Science*, 57, 993–999.
- SENASA, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2012. Manual para la Aplicación de Fitosanitarios, Buenos Aires, Argentina. Disponible en: http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/INFORMACION/GESTION%20AMBIENTAL/Manuales/6_Manual_Aplicadores.pdf
- SUÁREZ, V.H., CASTELLI, M.E., AGUIRRE, D.H., ALCARAZ, E., CAFRUNE, M.M., CETRÁ, B., FADER, O.W., LUCIANI, C.A., MANGOLD, A.J., MEDUS, P.D., Y GUGLIELMONE, A.A. 2006. El uso de insecticidas para el control de *haematobia irritans* (L.) (Diptera: muscidae) en la argentina. *Revista RIA*, 35 (2), 21-35.

- TAVERNA, M., PAEZ, R., RESCONI, V., FABRO, M. Y SPERANZA, J. 2005. Procedimiento de muestreo de leche en el tambo y de medición de volumen y temperatura INTA-INTI. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_inti_procedimiento_de_muestreo_leche.pdf.
- TSIPLAKOU, E., ANAGNOSTOPOULOS, C.J., LIAPIS, K., HAROUTOUNIAN, S.A., Y ZERVAS, G., 2010. Pesticides residues in milks and feedstuff of farm animals drawn from Greece. *Chemosphere*, **80**, 504–512.
- VADEMECUM VETERINARIO. 2017. Guía de Productos Veterinarios para la República Argentina. Disponible en: <http://www.vademecumveterinario.com>.

EFFECTO DE DIFERENTES ENZIMAS COAGULANTES EN EL RENDIMIENTO, LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y LA MADURACIÓN DE QUESO BLANDO

*Costabel. L.¹; Bergamini, C.²; Peralta, G.²; Cuatrín, A.¹;
De Noya, G.³; Sanow, C.³; Audero G.¹*

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

²INLAIN (UNL-CONICET), Facultad de Ingeniería Química, UNL, Santa Fe, Argentina.

³Instituto Tecnología de Alimentos (ITA), INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina
costabel.luciana@inta.gob.ar

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la utilización de diferentes enzimas coagulantes en la calidad fisicoquímica, sensorial y la maduración de quesos blandos. Para ello, se elaboraron quesos blandos utilizando 3 coagulantes diferentes: quimosina bovina (C1), quimosina de camello (C2), ambas producidas por fermentación, y quimosina microbiana (C3). Luego de la elaboración, los quesos fueron envasados al vacío y almacenados a 4°C durante 60 días. El tipo de coagulante tuvo efecto sobre el NS-pH4,6. A tiempo inicial, los quesos C2 y C3 presentaron menores valores de esta fracción que C1, mientras que a los 28 días de maduración, C2 presentó valores significativamente más bajos que C1. Los perfiles peptídicos de los quesos C1 presentaron mayores valores de área de péptidos hidrofóbicos. En el análisis sensorial se observó que los quesos C1 tuvieron más gusto amargo y menos gusto ácido que los quesos C2 y C3. Se concluye que el empleo de diferentes enzimas coagulantes en queso blando tuvo un impacto significativo en la proteólisis primaria, que fue menor en los quesos elaborados con la quimosina de camello y quimosina microbiana, presentando los mismos menor desarrollo de gusto amargo y ácido.

Palabras clave: quesos, enzimas coagulantes, calidad, maduración

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of different coagulant enzymes on cheese composition, sensorial characteristics and ripening of soft cheeses. For that, three types of coagulant enzymes were used: bovine chymosin (C1) and camel chymosin (C2), both produced by fermentation, and microbial chymosin (C3). After cheese making, all cheeses were vacuum packed and stored at 4 °C for 60 days. The type of coagulant had an effect on the pH 4.6 soluble nitrogen fraction. At initial time, the cheeses C2 and C3 had lower values of this fraction than C1, while at 28 days of ripening, C2 showed significantly lower values than C1. Peptide profiles of C1 cheeses had higher area values of hydrophobic peptides. Regarding sensory analysis, C1 cheeses showed more bitter taste and less acid taste than C2 and C3 cheeses. We concluded that the use of different coagulant enzymes in soft cheese had a significant impact on primary proteolysis and bitter taste, which were lower in cheeses made with camel chymosin and microbial chymosin.

Keywords: cheeses, coagulant enzymes, quality, ripening

INTRODUCCIÓN

Las enzimas coagulantes son proteasas aspárticas, generalmente de origen animal, que se utilizan para coagular la leche durante la elaboración del queso. El principal rol del coagulante en la elaboración de quesos es hidrolizar específicamente el enlace Phe₁₀₅-Met₁₀₆ de la κ -caseína presente en la superficie de las micelas de caseínas, el cual es muchas veces más susceptible a la quimosina que cualquier otro enlace presente en todas las proteínas de la leche (Fox et al., 2000). Dicha hidrólisis desestabiliza la suspensión coloidal de micelas y provoca la coagulación (Dalglish y Corredig, 2012). Además de esta propiedad tecnológica principal, la enzima coagulante residual es uno de los agentes proteolíticos que contribuye a la proteólisis durante la maduración en la mayoría de los quesos, particularmente en variedades con una cocción baja o media (Fox, 2003). La mayor parte del coagulante se pierde en el suero durante la elaboración. Sin embargo, un porcentaje variable del mismo (entre 0-30%) se retiene en la cuajada, lo que depende del proceso de elaboración del queso (pH del desuerado, temperatura de cocción, humedad de la cuajada) y del tipo de enzima (Sousa et al., 2001; Hynes et al., 2004; McSweeney, 2004; Upadhyay et al., 2004; Bansal et al., 2007; Sheehan et al., 2007; Yegin y Dekker, 2013). El origen y características de la enzima coagulante utilizada en la elaboración de quesos influye de manera significativa en el rendimiento, en la calidad, en la proteólisis y en la vida útil del producto obtenido (Bansal et al., 2009; Govindasamy-Lucey et al., 2010; Børsting et al., 2012; Møller et al., 2012; Costabel et al., 2015; Audero et al., 2016).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de diferentes enzimas coagulantes utilizadas en la elaboración de queso blando sobre la calidad fisicoquímica, sensorial y el perfil de maduración de los productos elaborados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se evaluaron tres tipos de enzimas coagulantes: quimosina bovina, C1 (570 IMCU ml⁻¹, CHY-MAX[®]); quimosina de camello, C2 (1000 IMCU ml⁻¹, CHY-MAX M), ambas provistas por la empresa Chr. Hansen Argentina (Quilmes, Argentina) y quimosina microbiana, C3 (750 IMCU ml⁻¹, ULTRA QUIMOSINA) provista por la empresa El Maestro Quesero (Córdoba, Argentina). Se realizaron tres elaboraciones de quesos blandos con cada coagulante ensayado. El estudio de la influencia de las enzimas coagulantes sobre la maduración de los quesos se realizó a diferentes tiempos de maduración.

Elaboración de los quesos

Para cada elaboración se utilizaron 180 litros de leche cruda proveniente del tambo experimental de la EEA Rafaela, cuya composición, acidez y pH promedio fueron: grasa 3,40 ± 0,31 %, proteínas 3,13 ± 0,08 %, sólidos totales 12,06 ± 0,35 %, acidez 16,0 ± 0,5 y pH 6,75 ± 0,06. En cada caso, se utilizó leche de buena calidad higiénico sanitaria (recuento de bacterias totales entre 30.000 y 100.000 UFC/mL y recuento de células somáticas entre 90.000 y 400.000 cel/mL). La leche cruda fue estandarizada a una relación grasa/proteína de 1,00 ± 0,02. Posteriormente se pasteurizó en un pasteurizador a placas a 74°C durante 15 seg (HTST) y se enfrió hasta 37- 38 °C, temperatura óptima para la coagulación de esta variedad de queso. Una vez alcanzada esa temperatura se agregó CaCl₂ (Merck, Darmstadt, Alemania) a una concentración final de 0,02 % (p/v). Posteriormente se adicionó el fermento, el cual se trató de un fermento comercial de *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen Argentina, Quilmes, Argentina). El volumen a utilizar de cada enzima coagulante fue previamente calculado a través de un método *in vitro* ajustando la dosis de modo de obtener tiempos de coagulación comparables entre las diferentes enzimas utilizadas (Costabel et al., 2015). De esta manera, el volumen de coagulante adicionada cada 100 L de leche fue de 10, 3 y 7 mL para las enzimas C1, C2 y C3 respectivamente. Luego de adicionar el coagulante, se introdujo en la tina el coagulómetro (INRA, PIGNAT, France) y se detectó el tiempo de coagulación

utilizando el software Coag del equipo. El tiempo de coagulación en todas las elaboraciones fue de $7,45 \pm 0,52$ min. El corte de la cuajada se realizó cuando el coágulo adquirió fuerza suficiente, lo que ocurrió luego de transcurrido un lapso extra, igual a 2,5 veces el tiempo de coagulación detectado. Se efectuaron cortes sucesivos, separados por etapas de agitación, hasta obtener un tamaño de grano adecuado. El corte y agitación se realizó utilizando liras mecánicas, a velocidad controlada automáticamente. La mezcla de granos de cuajada y suero se calentó lentamente ($0,5^\circ\text{C}/\text{min}$) hasta $39-40^\circ\text{C}$ durante 4 min. Posteriormente se realizó la bajada de la cuajada, dentro de los multimoldes, permaneciendo a temperatura de 38°C hasta que el pH alcanzó un valor de 5,2. Luego los quesos se introdujeron en una salmuera sobresaturada, a una temperatura de 4°C , a razón de 12 minutos por kilo de queso. A la salida de salmuera, los quesos fueron oreados, y envasados al vacío. Posteriormente, todos los quesos se maduraron en cámara a una temperatura de $4-5^\circ\text{C}$ durante 60 días.

Cálculo del rendimiento

Se realizó el cálculo del rendimiento práctico y rendimiento ajustado de los quesos, tomando como humedad de referencia un valor de 50%, intermedio al establecido por el Código Alimentario Argentino (CAA) para quesos blandos. Para los cálculos, se utilizaron las fórmulas citadas por Escobar et al. (2014).

Análisis de los quesos

La composición química de los quesos se determinó a los 28 días de maduración, tiempo en que se considera que los mismos están aptos para su comercialización. El análisis del pH, proteólisis mediante fraccionamiento nitrogenado y textura fueron evaluados a 6, 28 y 60 días de maduración. Los perfiles peptídicos y el contenido de ácidos orgánicos y azúcares se analizaron al inicio y final de maduración. Finalmente, a los 60 días de maduración se realizó un análisis sensorial de los quesos mediante un panel entrenado.

Composición química y pH. Los análisis de proteínas totales, grasa y humedad fueron realizados de acuerdo a las normas internacionales IDF (IDF, 1993; IDF, 1997; IDF, 2004). Los resultados de grasa y proteínas se expresaron en base seca. El contenido de cloruro de sodio se determinó por titulación, de acuerdo a la norma IRAM 14023-2 (2008). El pH fue determinado por inmersión del electrodo (Schott Instrument, Mainz, Germany) en una mezcla homogénea agua destilada-queso rallado en una relación 1:1, según el método descrito por Bradley et al. (1993).

Fracciones de nitrógeno solubles (NS). Las muestras de queso fueron tratadas para obtener una suspensión del queso en citrato de sodio. A partir de ésta, se obtuvieron las fracciones solubles a pH 4,6 (NS-pH 4,6) y en ácido tricloroacético al 12% (p/v) (Gripon et al., 1975; Hynes et al., 2003). El contenido de nitrógeno de cada fracción fue determinado por el método de Kjeldhal (IDF, 1993).

Perfiles peptídicos por HPLC. El sistema HPLC consistió en una bomba cuaternaria, un desgasificador on line, detector UV/visible, inyector manual y horno de columna (serie 200 y Flexar, Perkin Elmer, Norwalk, CT). Para la adquisición de los datos cromatográficos, se utilizó el software Chromera (Perkin Elmer). El análisis fue realizado utilizando una columna cromatográfica Aquapore OD-300 (C18, 5nm-300Å, 220mm x 4,6mm) (Perkin Elmer), termostaticada a 40°C , y utilizando un gradiente lineal de acetonitrilo en agua durante 107 minutos a un flujo de $1\text{mL}/\text{min}$; la detección se realizó a 214 nm (Hynes et al., 2003). Se prepararon extractos de queso solubles en agua (5g en 25 mL), que se filtraron a través de membranas de $0,45\ \mu\text{m}$ (Millex, Millipore, São Paulo, Brazil) antes de la inyección en el cromatógrafo.

Azúcares y ácidos orgánicos. El contenido de ácidos orgánicos (láctico, acético, cítrico, orótico y pirúvico), y de azúcares (lactosa y galactosa) fue determinado por HPLC según Peralta et al. (2017), utilizando el mismo equipamiento que el descripto para perfiles peptídicos. La separación cromatográfica se realizó en una columna Aminex HPX-87H (300 mm × 7,8 mm) provista de un guarda columna Aminex Cation-H (30 × 4,6 mm) (Bio-Rad Laboratories, EE. UU.), termostaticada a 65°C. Se utilizó H₂SO₄ 0,01 M como fase móvil a un caudal de 0,6 mL/min. Se emplearon dos detectores en línea: UV a 210 nm e IR para la detección de ácidos orgánicos y azúcares, respectivamente.

Análisis de textura. Se realizó un Análisis de Perfil de Textura (TPA) de los quesos en el Área de Procesamiento de Alimentos del Instituto de Tecnología de Alimentos del CIA-INTA Castelar, utilizando un Analizador de Textura marca Stable Micro Systems modelo TA.XTplus (Surrey, Reino Unido). Los parámetros que se evaluaron fueron: dureza, elasticidad, adhesividad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad.

Análisis sensorial. Se realizó un análisis sensorial descriptivo cuantitativo (en Inglés QDA). Las muestras fueron evaluadas por un panel sensorial entrenado compuesto por 11 evaluadores. Se evaluaron descriptores de textura y *flavor* mediante escalas lineales de 10 cm, no estructuradas y ancladas en los extremos. Las muestras, identificadas con códigos de 3 dígitos, fueron presentadas a los panelistas en orden aleatorio, a 10°C. Durante la evaluación, el panel marcó en cada escala, la intensidad percibida de los descriptores. Luego, las intensidades de cada atributo fueron medidas, con el fin de asignarle un valor para el análisis estadístico. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y en habitaciones estandarizadas de acuerdo a las normas vigentes de evaluación sensorial (IRAM, 1985).

Análisis estadístico. Los resultados de los análisis de fracciones nitrogenadas, azúcares y ácidos orgánicos y textura fueron analizados utilizando un diseño factorial para medidas repetidas en el tiempo (PROC MIXED, SAS Ver. 9.2, SAS Institute, Inc., Cary, Estados Unidos). El tiempo de maduración (F1) y los diferentes coagulantes evaluados (F2) fueron seleccionados como factores principales para el análisis. Para cada efecto simple que resultó significativo se aplicó una prueba de comparaciones múltiples (Prueba de LSD) para detectar grupos de niveles homogéneos ($\alpha=0,05$). En el caso en que la interacción resultó significativa ($P \leq 0,05$), se procedió a la "apertura" de la misma. Esto consiste en probar las hipótesis correspondientes a los efectos simples de uno de los factores para cada uno de los niveles del otro factor, considerando como término de error el correspondiente al modelo completo. Los resultados de los análisis composicionales, fueron analizados a través de un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico InfoStat. En el caso de los datos sensoriales, dado que están en una escala definida por los evaluadores, se utilizó la prueba de Krukall Wallis, para detectar las diferencias entre los tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de las elaboraciones

Los resultados de rendimiento práctico y rendimiento ajustado se presentan en la Tabla 1. No existieron diferencias significativas entre los coagulantes utilizados. Similares resultados en el rendimiento de las elaboraciones fueron encontrados en estudios en los que compararon quimosina bovina y quimosina de camello en quesos Cheddar y Mozzarella (Bansal et al., 2009; Moynihan et al., 2014).

Tabla 1. Rendimiento práctico y ajustado de las elaboraciones (promedio \pm DS) de las tres réplicas de elaboración con cada coagulante.

| Coagulante | Rendimiento práctico | Rendimiento ajustado |
|------------|----------------------|----------------------|
| C1 | 12,03 \pm 0,91 | 11,43 \pm 1,02 |
| C2 | 12,04 \pm 0,17 | 11,72 \pm 0,28 |
| C3 | 12,30 \pm 0,50 | 11,61 \pm 0,44 |

Composición química y pH

Los resultados de composición y el pH de los quesos se presentan en la Tabla 2. No existieron diferencias significativas en ningún parámetro evaluado. En todos los casos, se partió de leches con composición química comparables y además, las elaboraciones se realizaron siguiendo una tecnología previamente estandarizada.

Tabla 2. Composición química y pH de los quesos elaborados con los distintos coagulantes a los 28 días de maduración. Los valores se presentan como promedio \pm DS de las tres réplicas de elaboración.

| Variable | C1 | C2 | C3 |
|----------|------------------|------------------|------------------|
| pH | 5,27 \pm 0,05 | 5,35 \pm 0,16 | 5,24 \pm 0,01 |
| Humedad | 52,28 \pm 0,48 | 51,98 \pm 1,02 | 52,21 \pm 0,78 |
| PT BS | 44,52 \pm 3,90 | 47,20 \pm 3,93 | 46,96 \pm 1,28 |
| Grasa BS | 45,7 \pm 1,33 | 45,62 \pm 2,16 | 49,95 \pm 3,04 |
| NaCl | 0,79 \pm 0,15 | 0,70 \pm 0,01 | 0,81 \pm 0,21 |

Fracciones de nitrógeno solubles (NS)

En relación a los resultados de la fracción de NS-pH 4,6, existió interacción significativa entre el tipo de coagulante utilizado y el tiempo de maduración (Tabla 3).

Tabla 3. Significancia de los efectos tiempo de maduración (F1) y tipo de coagulante (F2) y su interacción (F1xF2) sobre los resultados de las fracciones de NS de los quesos.

| Variables | Significancia | | |
|------------|---------------|----|-------|
| | F1 | F2 | F1xF2 |
| NS-pH- 4,6 | * | * | * |
| NS-TCA | NS | NS | NS |

Esta interacción se debió a que el comportamiento fue diferente dependiendo del tiempo de maduración (Figura 1a). Al inicio de la maduración, los quesos C2 y C3 presentaron menores valores de esta fracción en comparación a C1, mientras que a los 28 días de maduración, C2 presentó valores significativamente más bajos que C1. Al final de la maduración, las diferencias no fueron significativas. En cuanto a la fracción NS-TCA, no se observaron diferencias significativas para ninguno de los factores estudiados. La evolución del NS TCA en función del tiempo de maduración se observa en la Figura 1b.

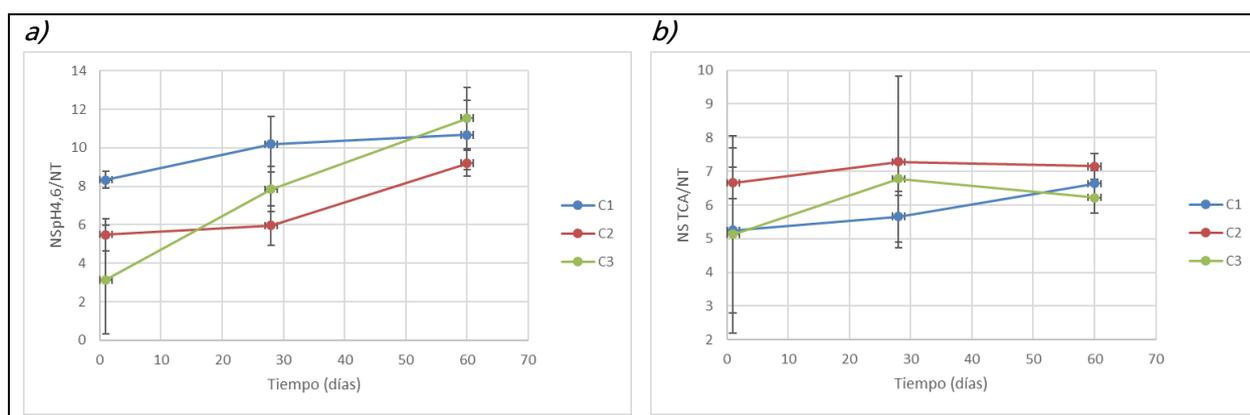


Figura 1. Evolución del NS-pH 4,6 (a) y del NS-TCA (b), expresados en relación al nitrógeno total (NT), en función del tiempo de maduración.

Perfiles peptídicos por HPLC

Los perfiles peptídicos de los quesos mostraron variaciones a lo largo del cromatograma según el coagulante empleado, tanto al inicio como al final de la maduración. Los perfiles de los quesos C1 fueron los que presentaron mayores diferencias en relación a los otros quesos. En la Figura 2a se puede observar que varios picos, sobre todo en la parte media del cromatograma (entre 25 y 65 minutos de tiempo de elución) presentaron mayor altura en los quesos C1. En general, los perfiles de los quesos C2 y C3 fueron similares, aunque para algunos péptidos se observó una mayor altura en los quesos C3. En los perfiles al final de la maduración (Figura 2b) se acentuaron las diferencias mencionadas anteriormente del queso C1 en relación a los otros. También se observó que un grupo de péptidos al final de la maduración (tiempo de retención alrededor de 80 minutos) se incrementó en mayor nivel en los quesos C1. Los péptidos en la zona final del cromatograma (entre 60 a 80 minutos) son probablemente hidrofóbicos, ya que su elución se produce cuando la fase móvil disminuye su polaridad. De esta manera, los quesos C1 tuvieron mayores niveles de estos péptidos hidrofóbicos. Los quesos C2 y C3 al final de la maduración fueron bastante similares pero se observaron también algunas diferencias entre ellos. En particular, los quesos C2 presentaron menores alturas de algunos picos en la zona inicial del cromatograma y en la zona de tiempos de elución entre 45 y 70 minutos.

Estos resultados demuestran una influencia significativa del coagulante empleado en el proceso de proteólisis durante la maduración.

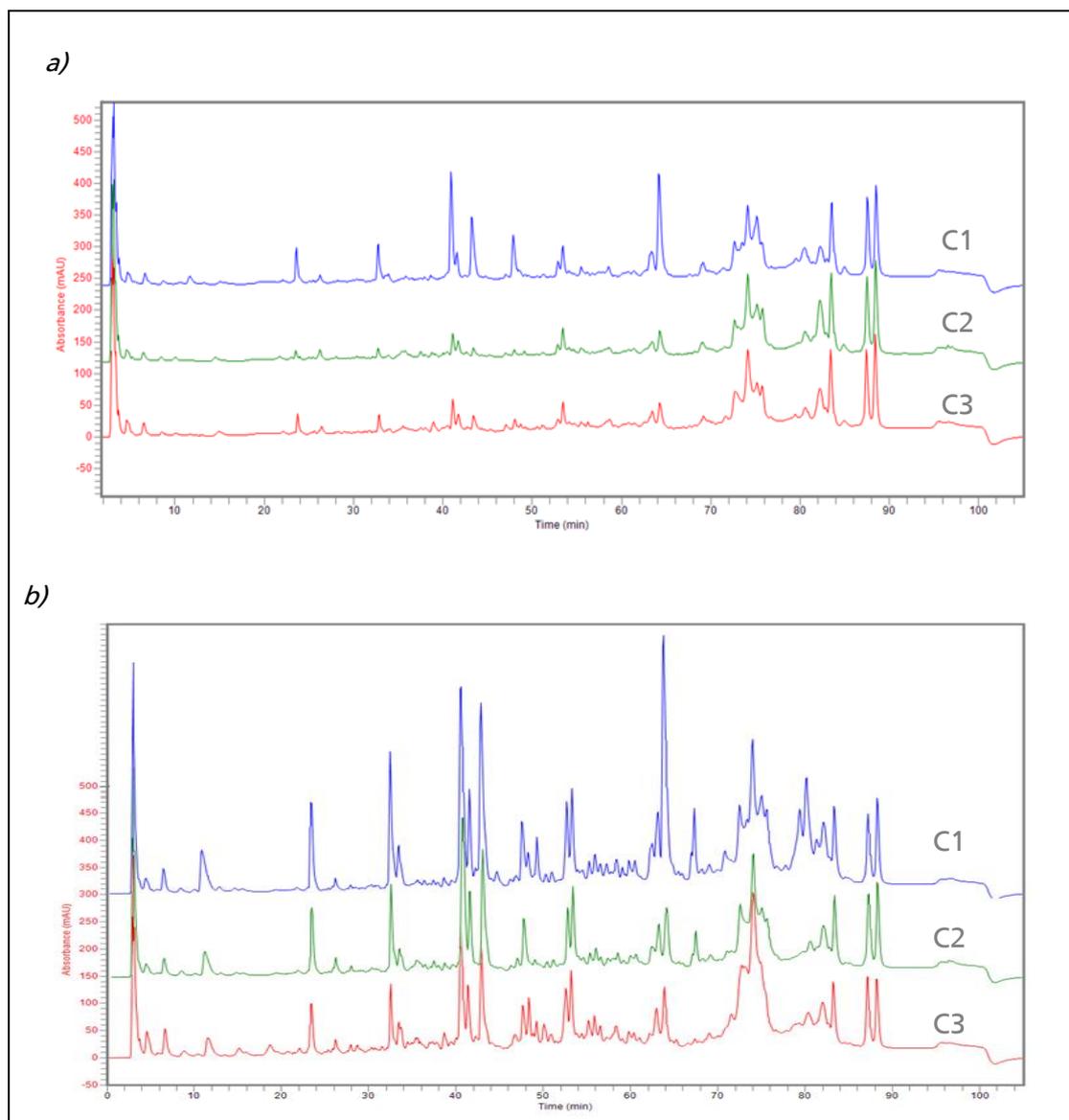


Figura 2. Perfiles peptídicos de los quesos: a) 6 días de maduración; b) 60 días de maduración, según el coagulante correspondiente (C1: azul; C2: verde; C3: rojo).

Los quesos elaborados con quimosina de camello y con ultra quimosina microbiana, presentaron menor proteólisis durante la maduración, lo cual fue verificado por menores niveles de ciertos índices de proteólisis en los mismos. Según datos del proveedor de la enzima microbiana (La Raiz S.A., el maestro quesero), el coagulante ultra quimosina es obtenido a partir de un mutante natural de *Rhizomucor miehei*, microorganismo comúnmente usado en la producción de coagulantes microbianos, lo cual le otorga una mejor performance industrial. No existen referencias bibliográficas asociadas al uso de este coagulante. En el presente trabajo, el resultado obtenido acerca de la influencia de este coagulante en la proteólisis secundaria sugiere un comportamiento similar al de la quimosina de camello.

Los resultados obtenidos comparando quimosina bovina y de camello coinciden con lo hallado por Bansal et al. (2009) en quesos Cheddar elaborados con estas mismas enzimas coagulantes, al comprobar que la utilización del coagulante de camello condujo a menores niveles de proteólisis en

comparación con la quimosina bovina. Estudios previos de caracterización de la enzima coagulante de camello (Kappeler et al., 2006) informaron una mayor especificidad de la misma y una actividad proteolítica no específica menor en comparación con la quimosina bovina (relación coagulación/proteólisis más elevada). En quesos Cheddar con contenido de grasa reducido, el uso de quimosina de camello condujo a menor proteólisis y menor sabor amargo, comparando los quesos con los elaborados utilizando quimosina bovina. Este último efecto se atribuyó a la disminución de la producción de péptidos hidrofóbicos a partir de la caseína β (Govindasamy-Lucey et al., 2010; Børsting et al., 2012). Møller et al. (2012) también verificaron menor actividad proteolítica de la quimosina de camello *in vitro* sobre las caseínas α_{s1} y β en comparación con la quimosina bovina. Møller et al. (2013) encontraron que quesos Cheddar reducidos en sal y elaborados con quimosina bovina tuvieron menores cantidades de caseína α_{s1} intacta que aquellos elaborados con quimosina de camello, especialmente durante etapas tempranas de la maduración. En quesos Mozzarella de baja humedad parcialmente descremado, Moynihan et al. (2014) también encontraron menores niveles de proteólisis en los aquellos elaborados con quimosina de camello que en los elaborados con quimosina bovina, lo cual es considerado beneficioso por los autores, ya que alargaría la vida útil de estos quesos.

Azúcares y ácidos orgánicos

El nivel de azúcares (lactosa y galactosa) y ácidos orgánicos (láctico, cítrico, acético, pirúvico y orótico) en los quesos al inicio y final de maduración se muestra en la figura 3. Los factores estudiados no mostraron ningún efecto sobre los niveles de ácido cítrico, pirúvico, acético y galactosa, cuyos valores promedio fueron: 217,4 \pm 8,9, 7,1 \pm 0,7, 21,1 \pm 1,2 y 848,5 \pm 34,5 mg/100 g queso. Para el resto de compuestos analizados no se observó ningún efecto del tipo de coagulante empleado, pero sí hubo una influencia significativa del tiempo de maduración. El ácido láctico se encontró en elevados niveles en las muestras al inicio de la maduración (promedio: 1292,1 mg/100 g queso); este compuesto es el principal ácido orgánico producido por las bacterias lácticas durante la fermentación. Además, se observó un aumento durante la maduración alcanzando un valor promedio de 1351,0 mg/100 g queso en los quesos a los 60 días. En correlación con este resultado, el nivel de lactosa fue muy bajo al inicio de la maduración (promedio: 101,1 mg/100 g queso) como consecuencia de su consumo durante la fermentación, y también hubo una disminución significativa durante la maduración (nivel final promedio: 56,4 mg/100 g queso). El ácido orótico disminuyó durante la maduración, lo que puede ser atribuido a su consumo por la microbiota presente en el queso.

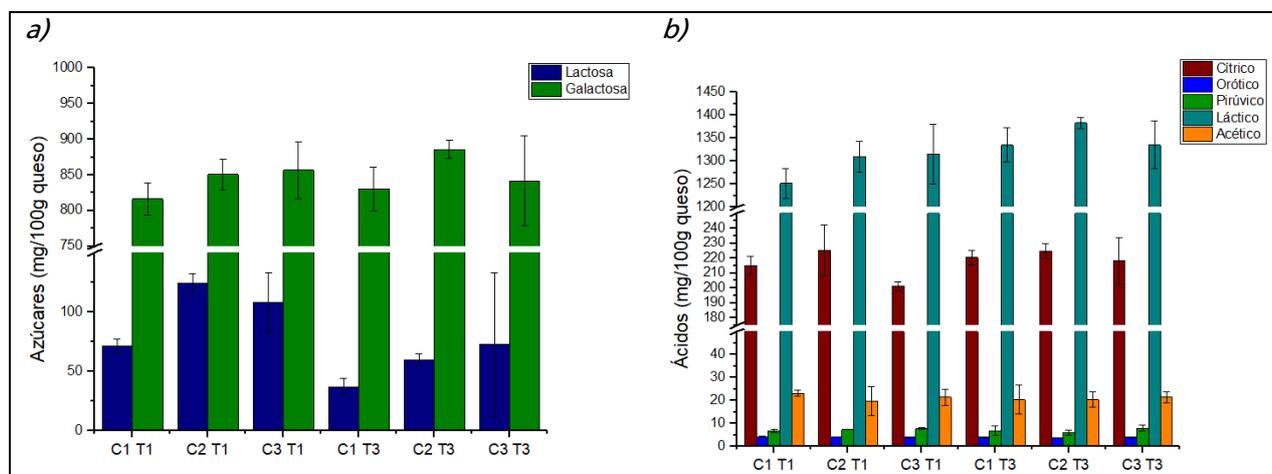


Figura 3. Niveles de azúcares (a) y ácidos orgánicos (b) en los quesos elaborados con los coagulantes C1, C2 y C3 al inicio (T1) y final de maduración (T3).

Textura

Para los parámetros dureza, gomosidad, elasticidad y masticabilidad, el efecto tiempo de maduración resultó estadísticamente significativo ($P < 0,05$), independientemente del tipo de coagulante utilizado. A tiempo inicial, los quesos tuvieron mayores valores para estos parámetros que a los 28 y 60 días, sin existir diferencias a esos tiempos de maduración (Figura 4). Los parámetros cohesividad y adhesividad no presentaron diferencias significativas en función de los factores evaluados ($P < 0,05$). Similares resultados en la evolución de la dureza con el tiempo de maduración fueron citados por Bertola et al. (1991) para queso blando Port Salut Argentino. A diferencia de lo observado en el presente trabajo, en ese estudio se detectó además un aumento de la cohesividad y adhesividad a lo largo de la maduración.

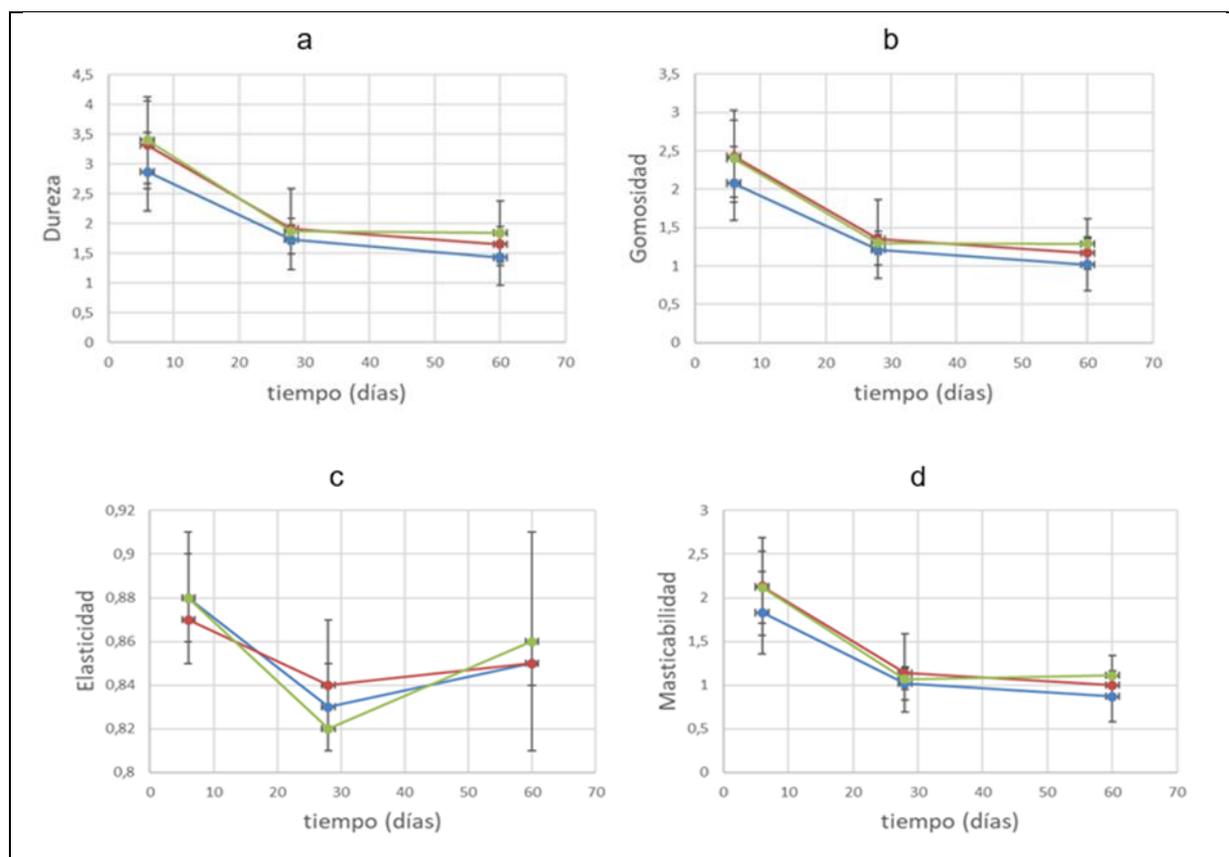


Figura 4. Evolución de los parámetros de textura evaluados a lo largo de la maduración.

Análisis sensorial

En el análisis sensorial con panel entrenado se detectaron diferencias significativas: los quesos C1 tuvieron mayor gusto amargo y menor gusto ácido que los quesos C2 y C3 (Figura 5). Los resultados para el gusto amargo se correlacionan con los mayores valores de área de los péptidos hidrofóbicos observado en los perfiles peptídicos de los quesos C1, y con lo reportado por diferentes autores (Govindasamy-Lucey et al., 2010; Børsting et al., 2012).

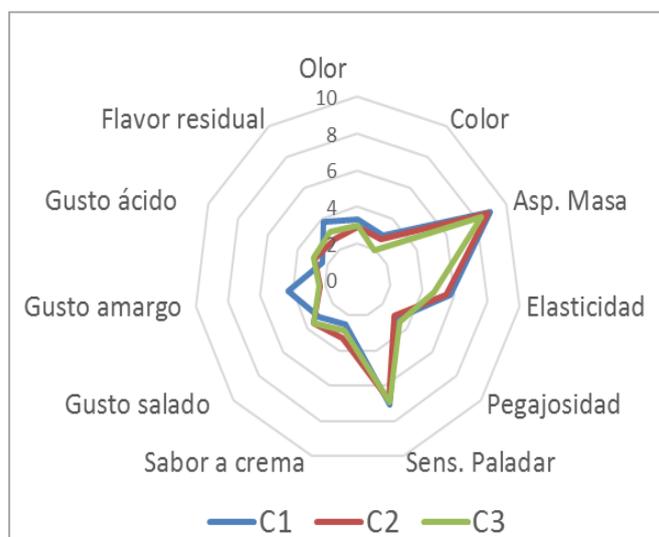


Figura 5. Análisis sensorial de los quesos elaborados con los 3 coagulantes ensayados a los 60 días de maduración.

CONCLUSIÓN

El empleo de diferentes enzimas coagulantes en queso blando tuvo un impacto significativo en la proteólisis de los quesos, que fue menor en los quesos elaborados con la quimosina de camello y quimosina microbiana. Estos últimos presentaron un menor desarrollo de sabor amargo comparados con los quesos elaborados con quimosina bovina.

BIBLIOGRAFÍA

- AUDERO, G.; BERGAMINI, C.; PERALTA, G.; SANOW, C.; VAUDAGNA, S.; COSTABEL, L. 2016. Efecto de diferentes enzimas coagulantes en la maduración de queso blando. CICYTAC, Córdoba.
- BANSAL, N.; DRAKE, M. A.; PIRAINO, P.; BROE, M. L.; HARBOE, M.; FOX, P. F. Y MCSWEENEY, P. H. L. 2009. Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 19: 510-517.
- BANSAL, N.; FOX, P., Y MCSWEENEY P.H.L. 2007. Factors affecting the retention of rennet in cheeses curd. *J. Agric. Food Chem.* 55: 9219-9225.
- BERTOLA, N. C.; BEVILACQUA, A. E. Y ZARITZKY, N.E. 1991. Changes in rheological and viscoelastic properties and protein breakdown during the ripening of Port Salut Argentino cheese. *Int. J. Food Sci. Technol.* 26: 467-478.
- BØRSTING, M. W.; QVIST, K. B.; RASMUSSEN, M.; VINDELØV, J.; VOGENSEN, F. K. Y ARDÖ, Y. 2012. Impact of selected coagulants and starters on primary proteolysis and amino acid release related to bitterness and structure of reduced-fat Cheddar cheese. *Dairy Sci. Technol.* 92: 593-612.
- BRADLEY, R. L.; ARNOLD, E.; BARBANO, D. M.; SEMERAD, R. G.; SMITH, D.E. Y VINES, B. K. 1993. Chemical and physical methods. En: *Standard methods for the examination of dairy product.* (Ed.: Marshall, R.). American Public Health Association (APHA), Washington, Estados Unidos, pág. 433-531.
- COSTABEL, L., BERGAMINI, C.V., POZZA, L.; CUFFIA, F.; CANDIOTI, M.; HYNES, E. 2015. Influence of chymosin type and curd scalding temperature on proteolysis of hard cooked cheeses. *J. Dairy Res.*, 82, 375-384.

- COSTABEL, L.M. 2015. Estrategias tecnológicas para aumentar la proteólisis y peptidólisis en quesos duros. Tesis doctoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.
- DALGLEISH, D. G. Y CORREDIG, M. 2012. The Structure of the casein Micelle of Milk and Its Changes during Processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 3: 449–67.
- ESCOBAR, D., PELAGGIO, R., GRILLE, L., COLZADA, E., RAMPOLDI, C., CARRO, S., DELUCHI, I., VIOLA, N., NOLLA, J.P., REINARES, R., CHILIBROSTE, P., PIEDRABUENA, L. 2014. Efecto del perfil de caseínas, recuento de células somáticas y composición de la leche en el rendimiento del queso Danbo. *INNOTEC*, 9 (31-42)- ISSN 1688-3691-31
- FOX, P. F. 2003. Biochemistry of cheese ripening. En *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol. 1. (Eds. Roginsky, H.; Fuquay, J y Fox P.) Academic Press, Kidlington, Reino Unido. pág. 320-326
- FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M. Y MCSWEENEY, P. L. 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. (Ed. Fox, P. F.) Aspen Publishers, Maryland, USA.
- GOVINDASAMY-LUCEY, S.; LU, Y.; JAEGGI, J. J.; JOHNSON M. E. Y LUCEY. J. A. 2010. Impact of camel chymosin on the texture and sensory properties of low-fat cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 65: 139–142.
- GRIPON, J. C.; DESMAZEAUD, M. J.; LE BARS, D. Y BERGÈRE, J. L. 1975. Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la pression commerciale. *Lait* 55 : 502-516.
- HYNES, E. R.; APARO, L. Y CANDIOTI, M. C. 2004. Influence of residual milk-clotting enzyme on α -s1 casein hydrolysis during ripening of Reggianito Argentino cheese *J. Dairy Sci.* 87: 565-573.
- HYNES, E. R.; BERGAMINI, C. V.; SUÁREZ, V. B. Y ZALAZAR, C. A. 2003. Proteolysis on Reggianito Argentino cheeses manufactured with natural whey cultures and selected strains of *Lactobacillus helveticus*. *J. Dairy Sci.* 86: 3831–3840.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). 1993. Milk. Determinations of nitrogen content. Nº 20: B. Bruselas, Bélgica.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). 1997. Milk and milk products. Determination of fat content (general guidance on the use of butyrometric methods). Nº 152: A. Bruselas, Bélgica.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF). 2004. Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content (reference methods). Nº 4: A. Bruselas, Bélgica.
- IRAM 20002 1985. Análisis Sensorial. Guía General para la Metodología. Buenos Aires, Argentina. 24 pág.
- KAPPELER, S. R.; VAN DEN BRINK, H. J. M.; RAHBK-NIELSEN, H.; FARAH, Z.; PUHAN, Z.; BECH HANSEN, E. Y JOHANSEN, E. 2006. Characterization of recombinant camel chymosin reveals superior properties for the coagulation of bovine and camel milk. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342: 647–654.
- MCSWEENEY, P. L. H. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *Int. J. Dairy Technol.* 57: 127-144.
- MØLLER, K. K.; RATTRAY, F. P. Y ARDÖ, Y. 2012. Camel and bovine chymosin hydrolysis of bovine α ₅₁- and β -Caseins studied by comparative peptide mapping. *J. Agric. Food Chem.* 60: 11421–11432.
- MØLLER, K. K.; RATTRAY, F. P. Y ARDÖ, Y. 2013. Application of selected lactic acid bacteria and coagulant for improving the quality of low-salt Cheddar cheese: Chemical, microbiological and rheological evaluation. *Int. Dairy J.* 33: 163-174.
- MOYNIHAN, A. C.; GOVINDASAMY-LUCEY, S.; JAEGGI, J. J.; JOHNSON, M. E. Y LUCEY J. A. 2014. Effect of camel chymosin on the texture, functionality, and sensory properties of low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *J. Dairy Sci.* 97: 85-96.
- PERALTA, G.H., BERGAMINI, C.V., AUDERO, G., PÁEZ, R., WOLF, V.I., PEROTTI, M.C. Y HYNES, E.R. 2017. Spray-dried adjunct cultures of autochthonous non-starter lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microb.* 255; 17-24

- SHEEHAN, J. J.; OLIVEIRA, J. C.; KELLY, A. L. Y MCSWEENEY, P. H. L. 2007. Effect of cook temperature on primary proteolysis and predicted residual chymosin activity of a semi-hard cheese manufactured using thermophilic cultures. *Int. Dairy J.* 17: 826-834.
- SOUSA, M. J.; ARDÖ, Y. Y MCSWEENEY, P. H. L. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.* 11: 327-345.
- UPADHYAY, V.; MCSWEENEY, P. L. H.; MAGBOUL, A. Y FOX, P. F. 2004. Proteolysis in cheese during ripening. En *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (Eds. Fox P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. y Guinee, T.), Elsevier Ltd (Pub.) Essex, Reino Unido. pág. 393-396.
- YEGIN, S. Y DEKKER, P. 2013. Progress in the field of aspartic proteinases in cheese manufacturing: structures, functions, catalytic mechanism, inhibition, and engineering. *Dairy Sci Technol.* 93: 565-594.

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

COMPORTAMIENTO INGESTIVO DE AGUA DE VACAS LECHERAS DURANTE UNA OLA DE CALOR

Costamagna, D.^{1*}; Toffoli, G.D.²; Leva, P.²; Mendez, L.²; Landucci, T.²; Taverna, M.¹

¹ INTA EEA Rafaela (Santa Fe).

² Fac. Cs. Agrarias. Universidad Nacional del Litoral.
costamagna.dianela@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

En la cuenca lechera santafesina existen períodos del año durante los cuales las condiciones meteorológicas afectan el desempeño de los rodeos, que están mayormente integrados por vacas Holando Argentino. El efecto es aún mayor cuando se dan episodios de olas de calor (OC). Una definición operativa de OC es cuando al menos tres días consecutivos el índice de temperatura y humedad (ITH) permanece por encima de 68 (Hahn *et al.*, 1999). En estos eventos, se observa una disminución del consumo de alimento y aumento en la ingesta de agua. Cabe recordar, que el agua es uno de los factores más importante que ayuda a atenuar el estrés calórico (Salvador, 2010). El objetivo del presente trabajo fue analizar el comportamiento ingestivo de agua en vacas de alta producción en un sistema tipo pastoril intensivo con suplementación en corrales con ordeño voluntario (VMS) durante una OC.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en el VMS del INTA Rafaela durante el verano 2019, con 63 vacas Holando argentino, de alta producción (30 ± 9 L). Desde las 07:00 hasta las 22:00 h, las vacas permanecieron en el patio de alimentación, provisto de media sombra de 4 m² por animal y sistema de refrigeración BCS De Laval. Durante la noche desde las 22:00 hasta las 07:00 h accedieron a la pastura. Una vez por día se suministró alimento con mixer (07:30 h). Los bebederos (tres en total) ubicados en la zona de acceso al VMS. Las mediciones de la "conducta de beber" (BB) se grabaron en forma continua desde el 4 de febrero hasta el 25 de marzo en los bebederos. Se presentó una OC entre el 19 al 23 de febrero inclusive. El BB comprendió: la "visita", momento en que el animal se encuentra en el bebedero sin tomar agua y el "beber", cuando el animal introduce el hocico en el bebedero. El BB se particionó en cuatro momentos del día: 1) desde las 06:00 a las 12:00 h, el período de más visitas al VMS 2) desde las 13:00 a las 16:00 h, ocurrencia de altas temperaturas, 3) desde las 16:00 a las 22:00 h período intermedio y 4) desde las 22:00 h, cuando que se habilita la salida a la pastura hasta las 07:00 h. Con los datos suministrados por la estación meteorológica EEA INTA Rafaela se estimaron los ITH (Thom, 1959) horarios y diarios con la siguiente formula.

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

dónde: t_a temperatura del aire; hr: humedad relativa al tanto por uno.

Los datos de comportamiento fueron analizados con un chi cuadrado (obtención de frecuencia) y con un ANOVA ajustado a un modelo de diseño de parcelas divididas con mediciones repetidas en el tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la OC, el ITH horario se mantuvo por encima de 68; la temperatura media de la OC fue de $29,3 \text{ }^\circ\text{C} \pm 4,8$ y la humedad relativa de $73,3 \% \pm 20,6$. Durante la OC no se encontró correlación entre BB y el ITH ($P = 0,86$)

La BB no estuvo afectada por el día ($P = 0,64$), pero sí por el momento del día ($P < 0,01$). La mayor frecuencia de BB se registró durante la mañana (6:00 - 12:00 h) con el 33,3%, y a la tarde (17:00 - 22:00 h) con 29,8%. Durante la siesta (13:00 - 16:00 h) la frecuencia fue de 18,6%, periodo de ocurrencia de las temperaturas más elevadas del día. Además, durante el período nocturno se observó una frecuencia de BB de 21,6% (figura 1). Estos resultados son similares a los presentados por otros investigadores (Cardot et al., 2008 y Toffoli et al., 2018).

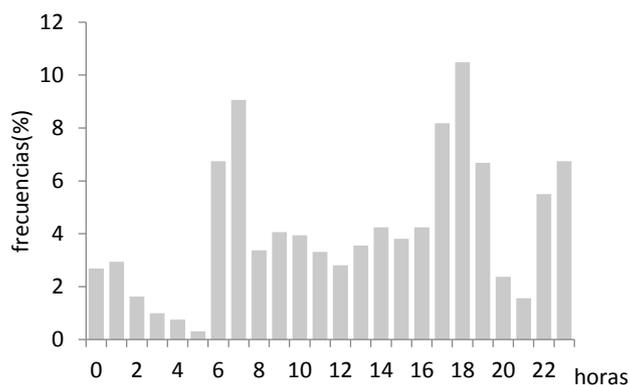


Figura 1. Distribución de la conducta beber, (frecuencias, %) a lo largo del día durante la ola de calor.

CONCLUSIONES

Durante la ola de calor no se observó relación entre la conducta beber y el índice de temperatura y humedad. Tampoco se observó un efecto del día, pero si se observó un efecto del momento que coincide con las visitas de los animales con el tambo robot.

BIBLIOGRAFÍA

- CARDOT, V., LE ROUX, Y. y JURJANZ, S. 2008. Drinking Behavior of Lactating Dairy Cows and Prediction of Their Water Intake. *J. Dairy Sci.* 91:2257
- HAHN, G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Dairy Sci.* 77(suppl 2):10-20.
- SALVADOR, A. 2010. Documento técnico efecto del estrés calórico en vacas lecheras (en línea). Disponible en: <http://www.dpa.com.ve/documentos/cd1/page12.html>. Consultado el 29 de marzo de 2019.
- THOM, E.C. 1959. The discomfort index. *Weatherwise* 12: 57-59.
- TOFFOLI, G.D., LEVA, P.E., GHIANO, J., MILLAPÁN, L., COSTAMAGNA, D., TAVERNA, M.; WALTER, E., CORONEL, V. y NUÑEZ, S. 2018. Comportamiento ingestivo de agua en vacas lecheras (Datos preliminares) In Asociación Argentina de Agrometeorología ed: UniRio. Libro digital, PDF. ISBN 978-987-42-9620-7. XVII Reunión Argentina de Agrometeorología. Página 62-63. 19 al 21 de septiembre de 2018. Merlo, San Luis (Argentina).

PERCEPCIÓN SOBRE EL IMPACTO AMBIENTAL DE LOS TAMBOS Y LA IMPORTANCIA DE LA FORMULACIÓN DE UNA DIETA PARA DISMINUIR DICHO IMPACTO

Tieri, M.P.^{1,2*}; Herrero, M.A.³; Faverin, C.⁴; Iacopini, M.L.¹; Comerón, E.A.^{1,2}; Gonda, H.L.⁵

¹ INTA, Estación Experimental Rafaela, Ruta 34 km 227, Santa Fe – Argentina.

² UTN, Regional Rafaela.

³ Actividad Privada.

⁴ INTA EEA Balcarce.

⁵ Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Swedish.

* tieri.maria@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

El mundo se enfrenta al desafío de alimentar, durante los próximos 50 años, a una población en crecimiento, y se prevé que la industria lechera enfrentará este desafío con la aplicación de conocimientos y tecnología para el desarrollo de animales más eficientes y sistemas lecheros más productivos (Britt *et al.*, 2018). Sin embargo, dicha producción debe ser llevada a cabo de manera sostenible, sin dejar de lado las cuestiones ambientales relacionadas con la intensificación de la producción animal. Los efectos combinados de un aumento en el costo de los alimentos y la legislación introducida en varios países sobre el almacenamiento y la aplicación de estiércol y purines, han resultado en un renovado interés por reducir los niveles de proteína en las dietas de vacas lecheras (Sinclair *et al.*, 2014).

El contenido de proteína en la dieta es el factor de mayor impacto en la determinación de la eficiencia en el uso del nitrógeno (N), y por lo tanto de la magnitud de las pérdidas de N en el ambiente (Hristov y Giallongo, 2014). Sin embargo, disminuir la concentración de proteína bruta en la dieta puede resultar en una disminución de la productividad de los animales y del contenido proteico de la misma (Lee *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012; Cabrita *et al.*, 2014) y por lo tanto del resultado económico de la empresa. Es por ello que en diferentes países se está trabajando para el futuro de los sistemas lecheros, por ejemplo, en generar genéticamente vacas lecheras que excreten menor cantidad de N al ambiente (García, 2018).

La industria láctea es un sector importante en Argentina. A partir de principios de la década del '90, la lechería bovina ha incrementado su producción de una manera destacada, como consecuencia de una mayor eficiencia productiva acompañada por un sostenido proceso de intensificación a través de un mayor uso de insumos, siendo cuestionado el impacto ambiental de dicho proceso. Al mismo tiempo, actualmente la lechería argentina se rige por el resultado económico de los sistemas productivos, generando dificultad en la adopción de estrategias que permitan mejorar la eficiencia en el uso de ciertos insumos, como es el caso del N. Conocer la percepción de los productores sobre la problemática ambiental asociada a la producción lechera y el impacto que puede tener sobre ello la alimentación, es importante para la evaluación de la relevancia de los fenómenos y las estrategias a implementar a futuro (Engler y Prada, 2017). Esta temática ha sido estudiada en diversas regiones del mundo (Petit y Van der Werf, 2003; Rahman, 2003; Toma y Mathijs, 2007) generando información útil para el desarrollo de políticas. Más recientemente se ha realizado una evaluación preliminar regional que permite definir la importancia de este tema en el cono sur (Herrero *et al.*, 2018).

El objetivo de este trabajo fue analizar la percepción de la problemática ambiental asociada con la producción de leche y la importancia de la alimentación proteica sobre la contaminación por N. Este trabajo explora la forma en que los productores lecheros, vendedores de insumos, estudiantes y operarios rurales, entre otros, perciben la problemática ambiental de la lechería. La obtención de información a través de encuestas, permite reflexionar acerca de cuáles estrategias serían posibles llevar a cabo para una lechería más amigable con el ambiente en el mediano y largo plazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron encuestas para obtener información sobre las percepciones en general y las prácticas de manejo de las dietas de sistemas lecheros en particular, con el objetivo de interpretar y explicar el grado de comprensión de diferentes actores (Jackson, 2009; Saunders *et al.*, 2012).

Los datos se recopilaron entre octubre de 2017 y octubre de 2018. Las encuestas fueron realizadas de forma voluntaria y anónima, y llevadas a cabo en reuniones y conferencias técnicas a las cuales concurrían diferentes tipos de públicos. La zona de estudio se circunscribió a la región pampeana y contempló a 212 encuestados. Las encuestas fueron realizadas a productores (PR), asesores (AS), operarios de tambo (OP), vendedores de insumos (VE) y estudiantes de carreras afines (ES).

La encuesta incluía dos secciones. En la primera se abordaron temas relacionados con la identificación de la problemática en general y con la percepción de la importancia y gravedad de los problemas ambientales en la ganadería y en particular en los sistemas lecheros. Para ello se generaron diez preguntas de tipo cerradas con única respuesta (Tabla 1). Las preguntas de la primera sección fueron seleccionadas de estudios anteriores (Herrero *et al.*, 2010; Herrero *et al.*, 2011; Herrero *et al.*, 2018). Las respuestas se midieron a través de una escala estándar de 5 puntos del tipo Likert, desde totalmente de acuerdo (5 puntos), parcialmente de acuerdo (4 puntos), indiferente (3 puntos), parcialmente en desacuerdo (2 puntos) hasta totalmente en desacuerdo (1 punto), considerando la opción No responde como cero (Likert, 1932; Barnes y Toma, 2012; Sullivan y Artina, 2013). En la segunda sección se realizaron 5 preguntas orientadas exclusivamente a los PR, AS y OP. Se evaluó el conocimiento de dichos actores sobre las dietas que utilizan en sus tambos, la cantidad de proteína entregada en las mismas y la posibilidad de la implementación de prácticas de manejo que mejoren la Eficiencia en el Uso del Nitrógeno (EUN), aunque esta situación no necesariamente impacte en un mejor resultado económico. Además, cada encuestado debía indicar su interés o no por una disminución del nivel de proteína bruta (PB) entregada en la dieta habitual de su establecimiento.

Como último punto, y con el objeto de comprender los mecanismos de difusión de noticias para desarrollar programas de gestión ambiental, se evaluó la frecuencia con la cual las cuestiones ambientales en lechería fueron mencionadas en los medios de comunicación. Para ello, se realizó un análisis de las últimas noticias de los medios sectoriales (Infortambo, Sociedad Rural Argentina (Rosario), Crea/CRA, Coninagro, Federación Agraria, etc), y se valoró el nivel de presencia (en porcentaje) de los temas ambientales en dichos medios. En total se evaluaron 540 noticias durante el período octubre de 2017/octubre de 2018.

Todos los datos de las encuestas fueron descargados y compilados en un archivo de Microsoft Excel 2010. Las respuestas se limpiaron y se verificaron en busca de inconsistencias. Se realizó un análisis descriptivo de los resultados de ambas secciones de la encuesta (mediana, rangos, frecuencias y porcentajes) para cada tipo de encuestado y para todos los resultados. Además, los resultados fueron analizados mediante un análisis de correspondencias múltiples para el total de los encuestados y según grupo de encuestados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El perfil de los encuestados

Se completaron un total de 212 encuestas. De todos los encuestados, el 24% eran productores de leche (n = 51), el 16% eran vendedores de insumos (n = 34), 24% eran asesores (n = 51), 19% eran operarios de tambo (n = 41) y 17% estudiantes de carreras afines al agro (n = 35). La Figura 1 muestra una visión general del nivel de estudio de los encuestados, en función del perfil.

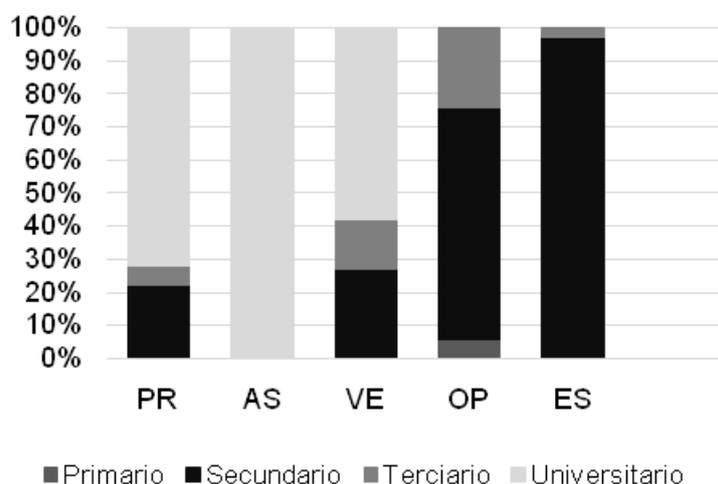


Figura 1. Distribución de los niveles de estudio de los diferentes perfiles encuestados.

La percepción general

Al llevarse a cabo el análisis de todas las respuestas mediante el análisis de correspondencias, no se identificaron grupos homogéneos entre los grupos encuestados. Respecto a la percepción sobre el término sustentabilidad, el 50 % estuvo totalmente en desacuerdo en que se trata de una cuestión netamente ambiental, siendo los AS (67%), PR (59%) y VE (53%) los que se agruparon en mayor porcentaje en el menor puntaje de la escala Likert (1 punto). El 9% estuvo parcialmente en desacuerdo con dicha afirmación, especialmente los OP (24%). Sólo el 27% estuvo parcial o totalmente de acuerdo (valores 4 y 5), siendo en su mayoría ES (51%), AS (33%) y VE (29%). Por lo tanto, aquellos que percibieron en mayor proporción que la sustentabilidad no se trata de una cuestión netamente ambiental, fueron los asesores, productores y vendedores de insumos.

Respecto a la percepción sobre el impacto ambiental de la ganadería en general, se observó que las menores valoraciones (valores 1 y 2) se obtuvieron para “la ganadería es una de las principales causas del calentamiento global”. No obstante, el 39% estuvo de acuerdo con dicha afirmación. Cabe destacar que no existieron casos indiferentes a dicha afirmación, por lo cual todos los perfiles tuvieron una opinión formada ante el tema. En el caso de los ES, el 75% estuvo de acuerdo con dicho enunciado, mientras que el 100% de los OP y el 78% de los AS se mostraron en desacuerdo. Para el caso de los VE y PR, la percepción fue similar (53 % de acuerdo y 47 % en desacuerdo en ambos casos). Contrariamente, para el caso de “la ganadería es una de las principales causas de la contaminación del agua de las napas con nitratos” el 47% estuvo en desacuerdo y el 14% de los encuestados se mostró indiferente a dicha afirmación. La mayor indiferencia la mostraron los ES con un 49% de los casos. Los OP y los PR fueron los que más en desacuerdo se mostraron (63% y 53%, respectivamente). Es decir que se observó una opinión más formada ante el impacto de la ganadería sobre el calentamiento global que sobre la calidad del agua, siendo aquellos con una mejor percepción sobre los impactos negativos de la ganadería, los productores y los vendedores. En el caso de los estudiantes, la problemática ambiental con respecto a la

ganadería con la cual estuvieron más de acuerdo fue sobre el calentamiento global. Los asesores se mostraron más formados sobre el impacto de la ganadería en la calidad de agua subterránea que sobre el calentamiento global, y los operarios fueron aquellos que presentaron una menor percepción.

El 83% de los encuestados estuvieron de acuerdo con el enunciado “la producción lechera es una actividad poco amigable con el ambiente”. Sin embargo, en el caso de los OP, ninguno estuvo totalmente de acuerdo, y el 39% se mostró indiferente. No existieron casos en desacuerdo para ninguno de los perfiles evaluados. Con respecto al tamaño de los tambos y su capacidad de contaminación, el 49% estuvo de acuerdo con que los tambos más grandes contaminan más que los más chicos, principalmente en el caso de los VE (76%), los PR (64%) y los ES (52%). El 17% se mostró indiferente (principalmente en el caso de los OP) y el 34% no estuvo de acuerdo con dicho enunciado, siendo los perfiles más en desacuerdo el de los AS y el de los ES (49% ambos). Dicho enunciado es una creencia instalada en algunos sectores, que considera que solamente por el hecho de que un tambo sea más grande, es más contaminante, sin embargo, lo que más determina el riesgo de contaminación son las prácticas de manejo aplicadas dentro de cada sistema. Los estudiantes y los asesores fueron los más conscientes de dicho proceso.

Al evaluar la percepción sobre la eficiencia en el uso del N (N secretado en leche / N consumido) por las vacas lecheras, el 66% estuvo de acuerdo, principalmente los AS y los PR (71 y 74% respectivamente) en que las vacas excretan al ambiente más del 70% de la proteína (o nitrógeno) consumida en la dieta, utilizando como mucho el 30% de dicho nitrógeno como proteína en leche. Sin embargo, el 28% se mostró indiferente a esta afirmación, siendo dicha respuesta más frecuente en los ES (49%) y los OP (37%). Por lo tanto, si bien gran parte de los encuestados de todos los perfiles es consciente de dicho enunciado, aquellos encargados de administrar las dietas a las vacas (operarios) y los futuros profesionales (estudiantes), fueron los que mostraron un mayor desconocimiento. Al consultar sobre la percepción de si las dietas con niveles de proteína por encima de la recomendación pueden generar consecuencias ambientales o económicas negativas (Figura 2), el 67% estuvo de acuerdo con las cuestiones ambientales (100% de los PR; 70% de los AS; 65% de los VE; 51% de los ES y 39% de los OP), y el 77% con las cuestiones económicas (92% de los PR; 79% de los AS; 75% de los ES; 63% de los OP y 63% de los OP). Por lo tanto, existe una mayor conciencia de los posibles efectos negativos sobre el resultado económico que sobre los posibles impactos ambientales, principalmente en el caso de los operarios. En el caso del impacto negativo sobre el ambiente, los OP (24%) y VE (9%) fueron los únicos en desacuerdo. Sin embargo, los ES (49%) fueron los que más indiferentes se mostraron ante dicho enunciado. Para el tema económico, aquellos que se mostraron en desacuerdo fueron los ES (26%) y los PR (8%). En base a estos resultados, se puede concluir que existe una conciencia de los impactos negativos, con respecto al resultado económico y al ambiente, de suministrar niveles de PB en las dietas por encima de los requerimientos, siendo los productores el perfil con una mayor percepción de esta cuestión.

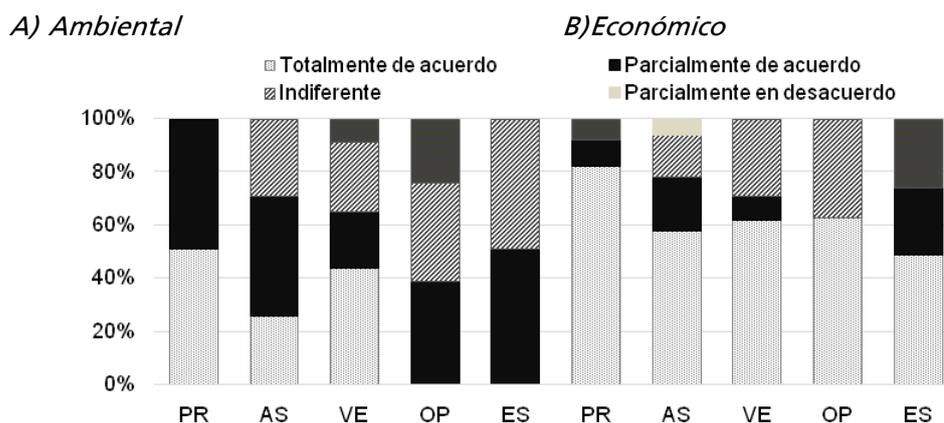


Figura 2. Resumen de percepción de los diferentes perfiles encuestados con respecto a las consecuencias ambientales (A) o económicas (B) de dietas con niveles de proteína por encima de la recomendación.

Finalmente, y para el caso de la importancia de los registros para una producción más eficiente, el 81% de los casos estuvo totalmente de acuerdo, 11% parcialmente de acuerdo y el 8% se mostró indiferente. En el caso de los OP, quienes son los responsables de llevar los registros, solo el 63% se mostró totalmente de acuerdo, mientras que el 37% restante estuvo parcialmente de acuerdo. En el caso de los ES se observó una importante proporción de los encuestados indiferente a dicha afirmación (26%). En general, la misma percepción se observó sobre la importancia de los análisis de calidad de alimentos para la formulación de una dieta adecuada, siendo los ES los únicos con casos que se mostraron en desacuerdo con dicho enunciado (26%), probablemente porque tienen mayor acceso a información de calidad de alimentos (tablas), para la ejercitación práctica en sus universidades.

Evaluación de las posibilidades de aplicación de diferentes estrategias

La segunda sección de la encuesta fue respondida por 119 participantes, de los cuales participaron el total de los PR (n = 51), el total de los OP (n = 41) y el 53% de los AS (n = 27). Las características de los establecimientos a los que referían las respuestas eran: superficie de los tambos de 257,3 ha (mín. 29; máx. 1600) y número de vacas totales (VT = ordeño + secas) de 376,6 VT (mín. 50; máx. 2500), consistentes con estudios nacionales para las cuencas lecheras de la región pampeana (Centeno, 2013; Gastaldi *et al.*, 2018).

El 72% de los encuestados respondió que cuentan con un nutricionista en el establecimiento, en su mayoría para el caso de los PR (84%) y los OP (76%). El 56% de los AS respondió que no cuenta con un especialista en nutrición para que les formule las dietas. Con respecto al nivel de PB de las dietas entregadas a las vacas, sólo el 43% conoce dicho valor (75% de los PR y 48% de los AS). Ningún OP estuvo al tanto del % de PB de la dieta. Del 43% de los casos, el valor promedio de PB fue de 17,83 ± 1,31 % de PB, observándose máximos de 20 y mínimos del 14% de PB. En la Figura 3 se observan las frecuencias de los valores utilizados por los productores y asesores que participaron de la encuesta, donde el 69% utilizó más del 18% de contenido de PB en la dieta, siendo dicho valor el recomendado por el National Research Council (NRC). Sin embargo, cuando se pretende trabajar con niveles de PB que no generen excesos de N que termine excretado en el ambiente, el valor recomendado internacionalmente es entre el 16 y 17% PB.

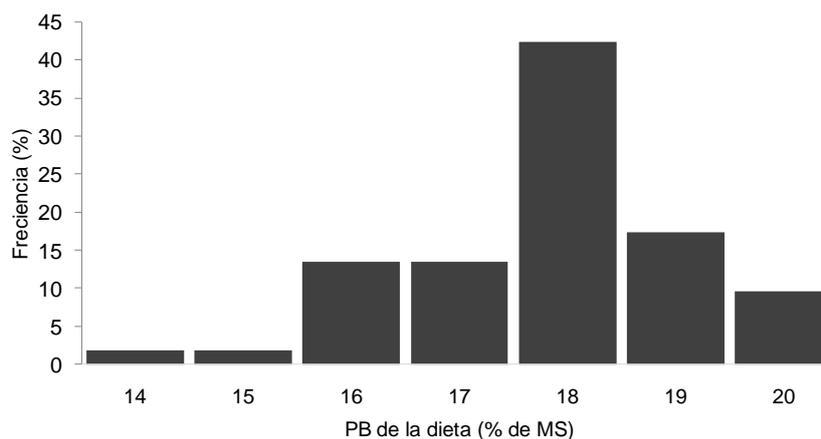


Figura 3: Frecuencia relativa (%) de los niveles de PB de las dietas en los productores y asesores encuestados.

Con respecto a los análisis de calidad de alimentos, el 78% respondió que realiza análisis, principalmente de silajes (100%) y pasturas (60%). En concentrados proteicos, rollos y granos, el número de casos fue menor (44, 41 y 16% respectivamente). Al consultarles sobre la posibilidad de bajar la cantidad de proteína de la dieta de las vacas, pudiendo sufrir una disminución de la productividad individual, pero contaminando menos, el 50% respondió que estaría dispuesto y el 50% que no. Los AS fueron los que mostraron mayor predisposición (59%), seguidos de los PR (57%) y por último los OP (37%).

El rol de la problemática ambiental

Como último punto, en base a las 540 noticias evaluadas, menos del 2 % de las mismas refirieron a temas ambientales, centrándose la mayoría en los siguientes temas principales: comercialización, principalmente apertura/cierre de mercados (29%) y fijación de precios de la producción primaria (14%), cierre de tambos y fábricas (27%), financiamiento (6%), variables climáticas y su impacto en la producción (10%), intensificación de la lechería (6%) y robotización (6%). Este resultado en parte podría estar relacionado con el proceso de crisis que se encuentra atravesando el país en general, y la lechería en particular. Por lo tanto, los temas correspondientes a las cuestiones económicas, son los que mayor presencia han presentado en dicho período de tiempo, seguidos de las variables climáticas, que acrecientan dicho proceso de crisis.

CONCLUSIONES

Si bien la lechería es una de las actividades más importantes del campo argentino junto a la agricultura y la ganadería de carne, en los últimos dos años ha sido una de las más castigadas. No sólo por la suba de costos y las contingencias climáticas, sino también por la falta de inversiones en capital productivo, bajos niveles de eficiencia y problemas de infraestructura y condiciones laborales en los tambos. Esta situación genera la necesidad de subsistencia económica de los sistemas lecheros y, por lo tanto, se le resta importancia a las cuestiones de manejo que afectan al ambiente y a la sustentabilidad ambiental de los mismos. Sin embargo, los diferentes actores involucrados en la producción lechera deben tener internalizados los problemas ambientales que genera la actividad para poder adoptar tecnologías para reducirlos o medidas de mitigación.

Los resultados encontrados en este trabajo son importantes porque en políticas de mitigación del cambio climático y contaminación de los cursos de agua, los productores y asesores se sienten parte del problema y por lo tanto es posible que se involucren en posibles estrategias de solución. Sin embargo, en políticas para el control de los niveles de PB utilizados en las dietas, es necesario trabajar la percepción de la mayoría de productores y asesores para su involucramiento, sin olvidarse de los operarios, quienes van a ser los que realmente formularán y entregarán las dietas a los animales a diario, y por lo tanto es a quienes más se les debe concientizar sobre la importancia de una correcta formulación de las mismas.

La transferencia de conocimiento a través de diferentes actividades tecnológicas será importante, siendo necesario desarrollar estrategias de educación/formación (escritas y orales) para que los productores, empleadores y asesores dispongan de información técnica sobre cómo gestionar y transferir los conocimientos relacionados con la alimentación de las vacas lecheras y su impacto en el ambiente y en el resultado económico. También es importante incorporar esta cuestión en los planes de estudio de la Universidad y en los debates técnicos de las partes interesadas. Además, un objetivo importante de transferencia de tecnología serán las federaciones de agricultores, las empresas lácteas y el sector público, a los que deberá transferir información de base científica para completar ese conocimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- BARNES, A., TOMA, L. 2012. A typology of dairy farmer perceptions towards climate change. *Clim. Change* 112, 507.
- BRITT, J.H., CUSHMAN, R.A., DECHOW, C.D., DOBSON, H., HUMBLLOT, P., HUTJENS, M.F., JONES, G.A., RUEGG, R.S., SHELDON, I.M., STEVENSON, J.S. 2018. Invited review: Learning from the future—A vision for dairy farms and cows in 2067. *J. Dairy Sci.* 101, 1–20.
- CABRITA, A.R.J., FONSECA, A.J.M., DEWHURST, R.J. 2014. Short communication: Relationship between the efficiency of utilization of feed nitrogen and 15N enrichment in casein from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97, 7225–7229.
- CENTENO, A. 2013. Intensificación en el tambo. ¿Qué cambió? Hoja de información técnica N°33 INTA UEEA San Francisco. Julio de 2013. ISSN: 2250-8546. <https://inta.gob.ar/documentos/hoja-de-informacion-tecnica-no-33-intensificacion-en-el-tambo.-bfque-cambio>.
- ENGLER, P.L., DE PRADA, J.D. 2017. Percepción de problemáticas ambientales y toma de decisión en tambos de Entre Ríos, Argentina. *Comunicación. Rev. Arg. Prod. An.* 37 (1), 221.
- GARCÍA, S. 2018. Modelo y perfil de los establecimientos lecheros dentro de 10 años. Presentación en el 15° Panamericano de la Leche. Buenos Aires, Argentina.
- GASTALDI, L., CUATRIN, A., MAEKAWA, M., LITWIN, G., MARINO, M., CENTENO, A., MORETTO, M. 2018. Lechería pampeana resultados del ejercicio resultados del ejercicio del ejercicio 2016-2017 informe técnico. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <https://inta.gob.ar/documentos/lecheria-pampeana-resultados-encuesta-sectorial-ejercicio-2016-2017>.
- HERRERO, M.A., SARDI, G.M., REBUELTO, M., GIL, S.B., AND FLORES, M.C. 2010. Changes in environmental perception and knowledge in stakeholders after waste management courses. 14th RAMIRAN International Conference (Lisboa). Available online at: [http://ramiran.uvlf.sk/ramiran 2010/ docs/Ramiran2010_0178_final.pdf](http://ramiran.uvlf.sk/ramiran%202010/docs/Ramiran2010_0178_final.pdf)
- HERRERO, M.A., SARDI, G.M.I., FLORES, M.C. 2011. Environmental perception of dairy farmers to develop training programs 34° Argentine Congress of Animal Production, Mar del Plata, Argentina. *Rev. Arg. Prod. An.* 31 (1), 190.
- HERRERO, M.A., PALHARES, J.C.P., SALAZAR, F.J., CHARLÓN, V., TIERI, M.P., PEREYRA, A.M. 2018. Dairy Manure Management Perceptions and Needs in South American Countries. *Front. Sustain. Food Syst.* 2, 22.

- HRISTOV, A.N., GIALONGO, F. 2016. Feeding protein to dairy cows—what should be our target?. Proc Tri-State Dairy Nutr Conference; Fort Wayne, IN. 75–84.
- JACKSON, S. L. 2009. Research Methods and Statistics: A Critical Thinking Approach, 3rd Edn. Wadsworth, OH: Belmont.
- LEE, C., HRISTOV, A.N., HEYLER, K.S., CASSIDY, T.W., LONG M., CORL, B.A., KARNATI, S.K.R. 2011. Effects of dietary protein concentration and coconut oil supplementation on nitrogen utilization and production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 5544–5557.
- LEE, C., HRISTOV, A.N., HEYLER, K.S., CASSIDY, T.W.C., LAPIERRE, H., VARGA, G.A., ARYS, C.P. 2012. Effects of metabolizable protein supply and amino acid supplementation on nitrogen utilization, milk production, and ammonia emissions from manure in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 9 (5), 5253–5268.
- LIKERT, R. 1932. A technique for the measurement of attitudes. *Arch. Psychol.* 22, 55.
- PETIT, J., VAN DER WERF, H.M. 2003. Perception of the environmental impacts of current and alternative modes of pig production by stakeholder groups. *J. Environ. Manage.* 68: 377–386.
- RAHMAN, S. 2003. Environmental impacts of modern agricultural technology diffusion in Bangladesh: An analysis of farmers' perceptions and their determinants. *J. Environ. Manage.* 68: 183-191.
- SAUNDERS, M., LEWIS, P., THORNHILL, A. 2012. Research Methods for Business Students, 6th Edn. Essex: Pearson Education Limited.
- SINCLAIR, K.D., GARNSWORTHY, P.C., MANN, G.E., SINCLAIR, L.A. 2014. Reducir la proteína de la dieta en las dietas de vacas lecheras: implicaciones para la utilización del nitrógeno, la producción de leche, el bienestar y la fertilidad. *Animal*, 8 (2), 262-274.
- SULLIVAN, G.M., ARTINO, A.R.JR. 2013. Analyzing interpreting data from likert-type scales. *J. Grad. Med. Educ.* 5, 541–542.
- TOMA, L., MATHIJS, E. 2007. Environmental risk perception, environmental concern and propensity to participate in organic farming programmes. *Journal of Environmental Management* 83(2), 145-57.

TRABAJO EN EQUIPO: EXPERIENCIA EN LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE LECHE INTENSIVA (UPLI)

Pece, M.A. , Maciel, M.; Salado, E.E.; Romero, L.; Vera, M.; Scandolo, D.; Vitulich, C.*

INTA EEA Rafaela (Santa Fe).
**pece.mariela@inta.gob.ar.*

Una Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) de la EEA Rafaela (INTA) ha transitado, a lo largo de más de tres décadas de funcionamiento, distintas etapas que comprendieron modificaciones estructurales y planteos productivos (Tieri et al, 2014). Según Tommasino et al (2007) un sistema de producción se puede definir como un conjunto de las producciones (vegetales y animales) y los factores de producción (tierra, trabajo y capital) existentes a nivel del predio, que se manejan a los efectos de satisfacer sus objetivos socio-económicos y culturales. Así, cualquier sistema de producción implica una combinación de una forma de organización social de la producción con un nivel de desarrollo tecnológico determinado, junto con una base natural dada (Rodríguez et al, 2003).

En la UPLI, desde el año 2011 se realiza el seguimiento y valoración del proceso de intensificación a través del aumento de la carga, con un abordaje sistémico y multidisciplinario de la sustentabilidad (Pece et al, 2019). Producto del trabajo en equipo, en pos de un objetivo común, se han publicado resultados productivos, reproductivos y ambientales (Pece et al, 2016, Vera et al, 2016, Pece et al, 2018, Maciel et al, 2018).

La producción de leche es compleja y requiere de la aplicación de tecnología de insumos y de procesos. Así en un sistema de producción de leche todos los participantes tienen la responsabilidad de la aplicación de dichas tecnologías para cumplir los objetivos definidos. Esto hace que el equipo de trabajo sea un componente necesario y muy importante. En la UPLI, el equipo incluye a las personas que planifican, implementan las prácticas definidas, toman decisiones, realizan el seguimiento y transfieren los resultados.

El objetivo del presente artículo es compartir la experiencia del trabajo en equipo adquirida a lo largo de 8 años.

La UPLI tiene una superficie de 85,6has y está ubicada en el predio de la EEA Rafaela del INTA sobre la ruta nacional N° 34 en el km 227 a 7 km de la ciudad de Rafaela. En ella se implementa una rotación de cultivos que comprende un ciclo de 5 años que incluye 3 años de pasturas y 2 años de cultivos anuales destinados a la confección de reservas para la alimentación del rodeo. El rodeo está formado por vacas cruzas (holando x jersey) obtenidas por un cruzamiento rotacional alternado, que consiste en alternar las razas de los toros utilizados en cada generación. Las pariciones están biestacionadas (B₁: febrero, marzo y abril; B₂: julio, agosto y setiembre). La crianza de ternera/os y su recría se realizan en la Unidad de Crianza y Recría, respectivamente. La alimentación de las vacas en ordeño está compuesta por pasturas base alfalfa aprovechadas a través de pastoreo rotativo en franjas diarias. El resto de la dieta se completa con silaje planta entera de maíz y/o sorgo, grano de maíz y/o sorgo seco molido, semilla de algodón, pellets de soja o girasol, ingredientes mezclados y distribuidos a través de un mixer. Un balanceado comercial se suministra durante los ordeños.

En el año 2011 se elaboró y acordó una propuesta de trabajo a aplicar en el sistema, que incluyó objetivos, planificación, seguimiento y evaluación de resultados a través de indicadores productivos, reproductivos, sanitarios, ambientales y económicos calculados. Para ello se realizaron reuniones de discusión e intercambio. Su implementación comprendió actividades en oficina y en el campo. Se compartieron novedades y avances a través de la presentación de resultados parciales (trimestrales y semestrales) y finales (al cierre de ciclo productivo) y se realizaron encuentros ante la presencia de algún evento extremo (ruptura de maquinaria, inundación, sequía entre otros), que demandara una re-planificación. Los resultados se publicaron en informes mensuales en página web de INTA, en revistas con referato y de divulgación. Se recibieron visitas nacionales e internacionales, (las que se dieron en el marco de actividades programadas por la Estación Experimental) solicitadas por universidades, escuelas agrotécnicas, productores, alumnos del curso desarrollado por el INTA denominado “El profesional tambero”, organizaciones de productores, técnicos, seminario de producción lechera para estudiantes universitarios entre otras. La modalidad de las visitas incluyó presentación en salón y recorrida posterior de la Unidad; las mismas se programaron de manera tal de contar con la presencia del equipo de trabajo completo para propiciar un intercambio con información de distintas disciplinas (pasturas y forrajes conservados, alimentación, reproducción, mejoramiento animal, trabajo en equipo, sistema de producción), siempre en el marco del sistema. Se organizaron reuniones técnicas por demanda de temas en particular (recomposición de estructura luego de inundación, manejo de alimentación y reproducción, implementación de cruzamientos) con recorrida del sistema y también se asistió a reuniones técnicas en otros sistemas de producción. Cabe aclarar que es uno de los sistemas institucionales que participa de proyectos nacionales y territoriales.

El asesoramiento técnico lo realiza un grupo de profesionales¹ del **Área de Investigación de Producción Animal** que junto al tambero y su equipo² se constituyen en un **grupo operativo** encargado de implementar todas las prácticas de manejo y de realizar el seguimiento del sistema. Dicho grupo de trabajo se completa con técnicos que desarrollan actividades en distintas disciplinas³ en pos del cumplimiento del objetivo general planteado para el sistema. Todos en continua interacción con técnicos de la Asociación Cooperadora de la EEA Rafaela del INTA.⁴

En función de la propuesta de trabajo planteada en el sistema se identifican 2 tipos de participantes (técnicos y tambero y equipo) que interactúan en pos de intensificar la producción de leche aumentando la carga animal (Figura 1).



Figura 1. *Participantes que integran el sistema Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) de la EEA Rafaela del INTA.*

¹ Grupo de técnicos: un responsable técnico, un técnico de pasturas y forrajes conservados, un técnico en reproducción y un técnico en alimentación y nutrición

² Tambero y dos empleados.

³ Mejoramiento y Genética Animal, Reproducción, Alimentación y Nutrición, Sanidad general, Sanidad de ubres, Ambiente y Sistematización de la información.

⁴ Ingeniero Agrónomo, Médico Veterinario y Contador.

La interacción se plasmó en actividades que los participantes compartieron en distintas instancias planificadas o no, generando espacios para socializar, comunicar, resolver, transferir un tema en particular o concretar una práctica (Tabla 1)

Tabla 1. Actividades realizadas en forma individual o compartida por los participantes de la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) de la EEA Rafaela del INTA.

| Participación | Actividad |
|------------------------|---|
| INDIVIDUAL | |
| Técnicos | Planificación Resolución de imprevistos Recorridos semanales Evaluación del pastoreo Inventario mensual Recepción de visitas Jornadas técnicas Reuniones técnicas Participación en proyectos Presentación de informes Publicación de trabajos |
| Tamero y equipo | Ordeño Limpieza de instalaciones Detección de celos Atención partos y ternero recién nacido Alimentación Armado de parcelas Corte pre-oreo, desmalezado Manejo del rodeo (separación por categorías) Registros Mantenimiento de instalaciones y maquinarias |
| COMPARTIDA | |
| Técnicos | Planificación de tareas semanales Resolución de imprevistos Trabajo en manga (Manejo reproductivo, tratamientos, vacunación, pesada, determinación de condición corporal) Ronda de novedades y resultados parciales en épocas de parición y servicio Encuentros para evaluar alimentación rodeo Reunión para analizar valores no esperados de algún indicador como por ej.: elevados de Recuentos de células somáticas y unidades formadoras de colonias |
| Tamero y equipo | Capacitación según necesidad e inquietudes (detección celo, cuidado del ternero recién nacido, calidad higiénico-sanitaria de la leche, manejo del mixer, trabajo en equipo) Reunión para compartir resultados parciales y finales del sistema y evaluar desempeño y proponer ajustes Recepción de visitas Encuentros para compartir objetivos personales, grupales y expectativas para orientar la continuidad en el trabajo |

Para que un sistema de producción pueda cumplir con sus objetivos, el trabajo en equipo eficiente, es indispensable. Osan (2012) citado por Castignani et al (2015), a través de un mapa de procesos muestra la complejidad de un sistema de producción de leche. En dicho mapa, se identifican y detallan tres módulos: 1) producción y reproducción, 2) proceso de nutrición y 3) proceso de cosecha y almacenaje de leche, a partir de los cuales se desprenden funciones y responsabilidades. Esta complejidad, demanda una labor basada en el saber individual según la disciplina para que a través del diálogo se tenga una mirada compartida y se pueda llegar así a una idea consensuada. Este proceso implica un aprendizaje constante en el tiempo por parte del equipo de trabajo. En este sentido, hay que tener presente que cada integrante tiene personalidad, capacidades e intereses propios pero como hay un compromiso común por el sistema es necesario tener disposición para escuchar y estar preparado para aceptar ideas distintas y cambiar de opinión en algunas oportunidades.

Como muestra de que la gestión del equipo ha sido favorable se puede mencionar la continuidad del trabajo en el tiempo, la estabilidad en altos niveles de uno de los principales indicadores productivos (litros/ha VT; CV 11%; Figura 2). Otra muestra que puede mencionarse es la activa participación de los integrantes del equipo de trabajo en la recepción de visitas (a lo largo de los años) de 8 grupos nacionales, 14 grupos internacionales, visitas de 3 grupos de escuelas agrotécnicas, de 8 grupos de estudiantes universitarios con docentes, de 2 grupos en el marco del curso empresarial, de 2 cursos del profesional tamberos, la participación en 9 seminarios de lechería para estudiantes universitarios, en el desarrollo de 2 jornadas y en 4 reuniones técnicas. En todos estos eventos, los técnicos contribuyeron con conocimientos y vivencias desde su disciplina, siempre ensamblados en forma adecuada con las prácticas planteadas desde otra disciplina sin dejar de perder de vista el sistema y sus objetivos. Todo esto producto del continuo trabajo en equipo.

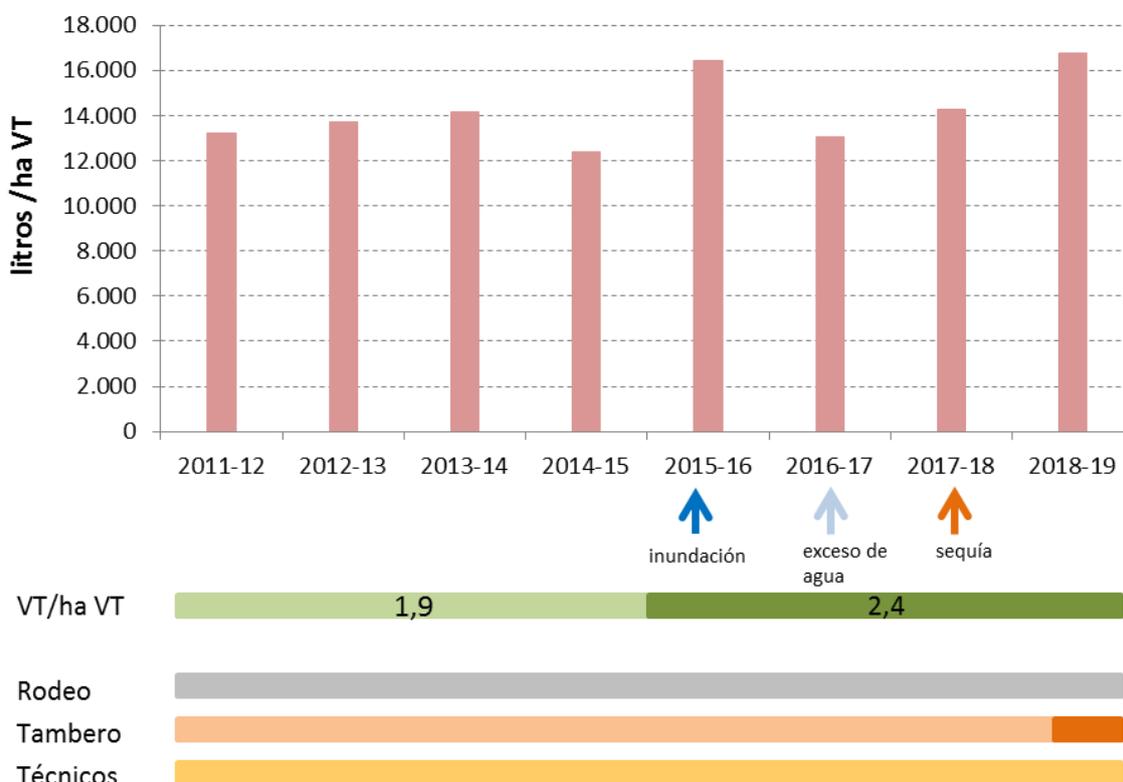


Figura 2. Productividad, carga (VT/haVT), rodeo e integrantes del grupo de trabajo de la Unidad de Producción de Leche Intensiva (UPLI) de la EEA Rafaela del INTA por ciclo en el período 2011-2019 (variación de color en una misma barra horizontal indica un cambio; VT: vaca total).

León et al (2003) definen una organización inteligente como aquella que busca asegurar constantemente que todos los miembros de la organización estén aprendiendo y poniendo en práctica todo el potencial de sus capacidades. Esto es, la capacidad de comprender la complejidad, de adquirir compromisos, de asumir su responsabilidad, de buscar el continuo auto-crecimiento, de crear sinergias a través de trabajo en equipo. En esta línea, se ubica el concepto de “Tambo inteligente” que se refiere a aquellas empresas lecheras que apuestan a trabajar y desarrollar su capacidad de reflexionar y aprender a través de la evolución de sus equipos humanos (Ramos Ramas, 2018). Así es que se construyó el trabajo en equipo, efectivizado en la Unidad de Producción de Leche Intensiva.

COMENTARIO FINAL

A lo largo de ocho años se han dado situaciones muy variadas, propias de un sistema productivo, que se resolvieron integrando la visión de cada participante del equipo de trabajo. La metodología implementada ha sido muy favorable para abordar una tarea compleja como es la producción de leche. Cada persona tiene un bagaje intelectual y emocional y cada sistema de producción de leche tiene características y realidades distintas que están condicionadas por factores socio-económicos y ecológico-ambientales externos. Ante esta diversidad sostener el trabajo de un equipo fue y es un desafío.

La experiencia del trabajo en equipo se basó en el sentido de pertenencia, en el respeto, en el compromiso y en la confianza en el modo de trabajar de cada integrante (este aspecto es un proceso ininterrumpido de construcción en el tiempo) desde su disciplina integrada al sistema con una visión compartida que cada uno ha conocido, entendido y acordado. Esto favoreció el avance de la propuesta de trabajo con un objetivo común y la generación de nuevas propuestas, sin dejar de lado las limitaciones para poder plantear cómo salvarlas.

AGRADECIMIENTOS

A Darío Arias, Gabriel Schmidt, Oscar Warnke, Ariel Plattner, a los tamberos y equipos, a Jorge Domínguez y al personal de campo de la EEA Rafaela por su muy buena predisposición y valiosa colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

- CASTIGNANI, M.I., TRAVADELO, M., OSAN, O., MAINA, M., SUERO, M., ROSSLER, N., BRIZI, C. 2015. Aspectos vinculados al cambio tecnológico y la gestión de recursos humano en la implementación de buenas prácticas en una empresa tampera. IX JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS DE ESTUDIOS AGRARIOS Y AGROINDUSTRIALES.
- LEÓN M., ROGER., TEJADA G., EBERTH., YATACO T., MARCO. 2003. Las Organizaciones Inteligentes. *Industrial Data*. Vol.6, (2): 82-87 [Consulta 6 de Octubre de 2019]. ISSN: 1560-9146. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81660213>
- MACIEL, M., PECE, M.A., SALADO, E.E., ROMERO, L., VERA, M. Y SCANDOLO, D. 2018. Desempeño reproductivo en la Unidad de Producción de Leche Intensiva con servicio biestacionado. INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2018. Pág. 139. EEA Rafaela. AIPA.
- PECE, M.A., MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., CUATRÍN, A., VERA, M. Y SCANDOLO, D. 2018. Caracterización de curvas de lactancia en un sistema con vacas cruzas con pariciones biestacionadas. INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2018. EEA Rafaela. AIPA.
- PECE, M.A., MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., SCANDOLO, D., TIERI, M.P., VERA, M., VITULICH, C. Y CHARLÓN, V. 2016. Unidad de Producción de leche intensiva: resultados 2011-2016. INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2016 ISSN 2314-3126 Publicación Miscelánea Año 4 – N° 2. Pág. 16. EEA Rafaela. AIPA.

- PECE, M.A., MACIEL, M., SALADO, E.E., ROMERO, L., VERA, M., SCANDOLO, D., VITULICH, C., TIERI, M.P. Y CUATRÍN, A. 2019. Un sistema de producción de leche intensificado a partir del aumento de la carga. Comunicación. Rev. Arg. de Prod. Animal. Vol 39, Supl. 1. Pág. 250.
- VERA, M., MACIEL, M., PECE M., SALADO, E., SCANDOLO, D., ROMERO, L. 2018. Cruzamiento rotacional aplicado en sistemas de producción lechera. Resultados preliminares de la composición racial del rodeo. INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2018. Pág. 113. EEA Rafaela. AIPA.
- RAMOS RAMA, JM. 2018. Gestión de Personas como Medicina Preventiva en tambos comerciales. Proceedings, XLVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
- RODRIGUEZ, A., TOMMASINO, H., FOLADORI, G. Y GREGORZCUC, A. 2003. "Es correcto pensar la sustentabilidad a nivel local?. Un análisis metodológico a partir de un estudio de caso en un área de protección ambiental en el litoral sur de Brasil". Revista THEOMAI, Universidad Nacional de Quilmes.
- TIERI, M.P., PECE, M., COMERÓN, E., MACIEL, M., SCANDOLO, D., CASTIGNANI, H., SALADO, E., ROMERO, L., BERCA, R., VERA, M., HERRERO, M.A., CHARLÓN, V. Y GARCÍA, K. 2014. INTA. ISSN 2314-3126. Año 2 – N° 2.
- TOMMASINO, H.; GÓMEZ TERRA, J.; GONZÁLEZ, M.N.; SANTOS, C.; FRANCO, L. 2007. "La sustentabilidad en la producción familiar y sus indicadores". IX Encuentro de Nutrición y Producción en Animales Monogástricos, Montevideo, Uruguay.

EXPERIENCIA DE ENGORDE A CAMPO CON NOVILLOS HOLANDO

Callaci, C.¹; Faure, D.²

¹ INTA AER Castellanos. callaci.carlos@inta.gob.ar

² Cambio Rural. faure.daniela@inta.gob.ar

RESUMEN

El trabajo consistió en hacer un seguimiento a campo de un sistema real de producción, de un productor de la zona de Presidente Roca, Departamento Castellanos, Provincia de Santa Fe, que dedica parte de su empresa al engorde de novillos mayoritariamente derivados de los tambos de la zona.

A partir del mismo se obtuvieron resultados sobre aspectos relacionados a eficiencia productiva y financiera.

INTRODUCCIÓN

La producción de carne a partir del novillo proveniente de los tambos, es una práctica de escasa difusión en las zonas mixtas donde conviven la producción láctea, la agrícola y la de carne, como es el caso del Departamento Castellanos.

Muestra de esto, es que a partir del análisis de los datos de vacunación del SENASA del año 2017, se observa que sólo se vacunan en campaña el 57% de los terneros machos nacidos, esto quiere decir que casi la mitad de los mismos salen del departamento, antes de llegar a la campaña de vacunación⁽¹⁾. De los terneros nacidos que permanecen en el departamento, sólo 27% se vacuna como novillito⁽²⁾, es decir que un 30% de los terneros se van del departamento antes de llegar a esta categoría. Lo más significativo es que sólo un escaso 7% llega a la categoría de novillo⁽³⁾. Esto quiere decir que muy pocos terneros se terminan como novillo de un peso promedio de 600 kg, en el departamento Castellanos. Datos muy similares respecto a estos guarismos se dan en la totalidad de la provincia de Santa Fe, o sea que se desaprovecha un gran potencial para producir carne a partir del novillo proveniente de los tambos.

En los últimos años la apertura de las exportaciones y nuevos mercados demandantes de carne argentina, generaron buenas expectativas para la producción y el negocio ganadero de carne. En el primer semestre de 2019, las toneladas exportadas aumentaron un 47% respecto del mismo período del año anterior. (“Argentina, el país que más crece en exportaciones de carne del Mercosur”. AGROVOZ 29/07/2019 fuente ROSGAN)

De seguir esta tendencia, a futuro pueden faltar animales para cubrir la demanda, incluso se llevan dos años consecutivos donde la faena de vientres se encuentra por encima del punto de equilibrio, casi 50% en el primer semestre de 2019, situación que pone en riesgo el futuro del stock nacional. (“Resurge la ganadería; pero se advierte sobre la liquidación de vientres” Diario Litoral 12/07/2019)

El novillo proveniente del tambo, podría utilizarse para cubrir parte de la demanda internacional o la de consumo interno, esto dependerá entre otros factores, de la eficiencia de los sistemas de invernada. (“Invernadas pastoriles de alta productividad”. Kloster, A., Latimori, N.)

¹ Se realizan dos campañas de vacunación contra aftosa al año. Una en marzo/abril y la segunda en setiembre/octubre.

² Categoría novillito son animales que llegan a la segunda vacunación en campaña, con un peso aproximado de 180 a 300kg

³ Categoría novillo son animales para consumo interno o exportación con un peso aproximado de 500 hasta 650kg

En general los productores de zonas mixtas, pero con predominancia en la producción de leche, por estar más dedicados a dicha actividad, no les brindan a las categorías de invernada de novillos la atención necesaria. Hacen el engorde de una forma “tradicional”, son destinados a las peores pasturas y la suplementación es escasa, recibiendo una alimentación inadecuada para obtener un buen ritmo de crecimiento y engorde (esto da como resultado, animales de gran tamaño, muy pesados y una larga permanencia en el campo).

Para promover una mayor producción de carne a partir del novillo holando proveniente de los tambos de la región, se planteó el siguiente trabajo sobre la factibilidad de implementar un sistema de manejo sencillo, de baja dedicación, con un ritmo de engorde eficiente, un costo acorde y un margen bruto atractivo.

DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA EVALUADO

Ubicación:

Distrito Presidente Roca, Departamento Castellanos, Provincia de Santa Fe. Ubicado sobre la Ruta Provincial N° 13 a 4 kilómetros al Norte del cruce de Rutas Provinciales 13 y 70. (coordenadas de georreferenciación 31°12'04" S - 61°31'17" O).

Suelos y rotaciones:

El establecimiento cuenta con suelos de aptitud II a IV, en los suelos de aptitud agrícola/ganadera (aproximadamente el 50% del campo) se realiza una rotación agrícola de Trigo/Soja o Maíz/soja. En los suelos de aptitud ganadera/agrícola o ganadera (aproximadamente el otro 50% del campo), se realizan pasturas consociadas (especies perennes y de resiembra) o verdeo de invierno, que se rotan con Sorgo para silaje o muy eventualmente soja también para silaje. Se trata de que la rotación sea flexible debido a las condiciones de riesgo edafo-climático y oportunidad de uso de los potreros.

Superficie y uso:

La invernada se realiza sobre 66 hectáreas (Aptitud III y IV) y el grano de maíz se obtiene de unas 20 hectáreas de la parte agrícola (la superficie que se utiliza es variable debido a las variaciones de rendimiento entre años, si sobra se comercializa como grano).

Manejo:

Los animales entran al sistema con un peso promedio de 170 kg/cab y se terminan con 600 kg/cab (promedio de animales vendidos durante el seguimiento 603 kg/cab).

El rodeo total está compuesto de 150 a 170 cabezas, dividido en tres tropas de entre 50 a 60 cabezas cada una. Las tropas se arman en base a tamaño y peso estimado de los animales. Tropa 1: conformada por animales desde 170 a 300 kg, Tropa 2: con animales desde 300 a 450 kg, y Tropa 3: animales desde 450 kg hasta terminación.

La alimentación es a base de pasturas y verdeos, con pastoreo directo en franjas generalmente semanales, y se realiza autoconsumo⁽¹⁾ de silajes y heno.

Un detalle a destacar es que los animales se suplementan con grano de maíz entero, durante todo el ciclo de la siguiente manera:

Tropa 1: 2 kg/cab/día

Tropa 2: 3 kg/cab/día

Tropa 3: 4 kg/cab/día

¹ Los animales tienen acceso directo a las reservas de alimentos, la extracción del forraje conservado la hace el mismo animal, para cuidar las reservas y hacer un uso lo más eficiente posible, se implementa con reja frontal en las bolsas de silaje y porta rollo en el heno.

Esto equivale aproximadamente al 0,8 % del peso vivo en todos los animales. Además, a la Tropa 3, se le suministra un 10% (de lo suministrado de maíz), de un balanceado para terminación 0,4 kg/cab/día.

Mano de obra:

Las tareas para la internada son realizadas por el productor y un empleado. En ambos casos la dedicación es de ½ E.H./día. Las tareas son: siembra, confección y apertura de franjas de pastoreo, desmalezado, movimiento de rejas para autoconsumo de silaje, puesta de rollos de heno en porta rollos, movimiento de las tropas para tratamientos sanitarios y adecuación en cada tropa⁽¹⁾, ingreso o egreso de animales y suministro diario del grano de maíz. Además, el productor incluye dentro de este tiempo operativo, tareas administrativas y comerciales.

Datos del sistema ganadero:

Superficie 66 has + 20 has de maíz grano

Carga: 170 cabezas promedio, 1,9 cab/ha ajustada⁽²⁾, 696 kg/ha ajustada

Demanda de forraje: 7658 kg MS/ha (MS necesaria a producir considerando un 70% de aprovechamiento).

METODOLOGÍA

Como ya se detalló anteriormente, el seguimiento se realizó, en un establecimiento ubicado en el Distrito Presidente Roca, Departamento Castellanos de la Provincia de Santa Fe, cuyas características figuran en el ítem “Descripción del sistema evaluado”

Durante el período comprendido entre marzo de 2018 a marzo de 2019, se fueron registrando y analizando datos suministrados por el productor en cuanto a: gastos en insumos, compras y ventas de hacienda, costo de mano de obra y sistema de alimentación.

Con respecto a la respuesta animal y eficiencia del sistema, se efectuó un control de peso de los animales durante un año. Las pesadas se realizaron cada 60 días aproximadamente, estableciendo los ritmos de engorde por categoría y en las diferentes etapas del año y calculando la ganancia de peso vivo promedio de todo el rodeo durante todo el año. Como el productor no posee balanza, se utilizó una balanza portátil propiedad del INTA que fue trasladada por personal de la AER INTA Castellanos, en las seis oportunidades en que se tomaron los pesos. Se efectuaron más de 300 pesadas y mediciones totales, sobre 158 animales, los cuales fueron pesados entre una a seis veces cada uno, durante el período considerado.

Puede observarse, en la presente experiencia a campo, que los resultados son alentadores para un sistema de internada, los mismos indican que los valores obtenidos, tanto productivos como económico/financieros, están por encima de aquellos sistemas que se mencionaron como “tradicionales” en los cuales la internada de novillo holando, se realiza como una actividad secundaria y sin brindarle la atención necesaria.

¹ Cuando algún animal llega o pasa el límite de peso máximo establecido para cada tropa, se lo incorpora a la tropa siguiente (de mayor peso)

² Se consideran también las hectáreas que se utilizaron para producir el grano de maíz

| Concepto | Valor |
|--|-----------|
| Ganancia de peso, promedio de todas las categorías (g/cab/día) | 742 |
| Duración promedio del engorde (días de ingreso hasta salida a venta) | 580 |
| Productividad superficie ajustada (kg/ha ajustada/año) | 521 |
| Producción total estimada (kilogramos totales del sistema/año) | 46.000 |
| Ingreso Bruto (\$ totales/año) | 2.995.862 |
| Costo Total (\$ totales/año) | 2.037.467 |
| Margen Bruto (\$ totales/año) | 958.395 |
| Margen Bruto por hectárea (\$/ha ajustada/año) | 10.890 |
| Costo promedio por kg producido todo el ciclo (\$/kg) | 44,21 |

Descripción de los costos

| | Costo \$/kg de carne producido por componente de la dieta | | |
|------------------------|---|---------|---------|
| | Tropa 1 | Tropa 2 | Tropa 3 |
| Pastura | 4,0 | 6,2 | 7,6 |
| Silo | 2,1 | 3,2 | 3,9 |
| Grano de Maíz | 15,9 | 25,0 | 29,6 |
| Rollo | 1,8 | 2,8 | 3,5 |
| Mano de obra | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| Sanidad y otros | 1,0 | 1,0 | 0,9 |
| Balanceado terminación | | | 7,9 |
| Costo \$/kg producido | 29,4 | 42,9 | 50,2 |

Algunos Costos y precios utilizados al 27/09/2019

Costo Silaje de maíz (\$/kg MS): \$1,8

Costo Maíz grano (\$/kg): \$6

Costo Pasturas (\$/kg MS): \$1,09

Precio Novillo pesado exportación en pie (\$/kg): \$63

Precio Balanceado (\$/kg): \$16

Precio del dólar BNA 27/09/19: \$59

Precio Soja \$/quintal cotización Rosario 27/09/19: \$1340

CONCLUSIONES

– El aumento promedio de peso vivo diario de 742 gramos por animal, es un valor que marca la eficiencia del sistema, esto coincide con la información aportada por la Unidad de Invernada de INTA en Ceres, donde se compararon dos sistemas (suplementación con maíz todo el ciclo vs suplementación con maíz al final del proceso de engorde). La suplementación con maíz durante todo el ciclo, acorta el período de engorde, le da a los animales una buena calidad carnicera (a percepción de los compradores, favoreciendo la facilidad de venta) y mejora los resultados de la empresa (expresados en el MB, MB/ha y un menor costo por kg producido).

– Por los resultados obtenidos, en un contexto de demanda de la carne bovina, esta puede ser una buena alternativa para complementar los ingresos en los tambos y disminuir el riesgo para las empresas.

– El margen bruto por hectárea equivale a 8,12 quintales de soja (cotización Rosario \$13.400/tn), la equivalencia sería aún mayor a 8,12 quintales, si se descontara al precio de la soja fletes, acarreos y comercialización.

– El sistema no implica una gran dedicación de tiempo, ya que entre lo que trabaja el productor y el empleado, suman 1 EH/día, lo que demuestra que otras empresas podrían implementarlo.

– Los resultados pueden variar por diferencias de precios en la relación ternero/novillo gordo, que en determinadas épocas puede ser favorable para una categoría o la otra.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Diego Sara (propietario del establecimiento) y a su empleado, por la predisposición y acompañamiento durante todo el período de estudio.

Al Ing. Agr. Javier Caporgno y personal de la AER INTA Ceres, por los consejos y sugerencias para llevar adelante el seguimiento de la experiencia.

Al aporte técnico realizado por el Asesor del Grupo de Cambio Rural Ing. Agr. Marcelo Molfino.

A los productores del Grupo de Cambio Rural 12 de setiembre (Pte. Roca) por la permanente colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

MINETTI, M. Claves para el engorde exitoso del ternero macho holando. www.grupopilar.com.ar

GONSOLÍN, R. Como hacer negocio con el engorde de machos holando. Dietas simples y eficientes. www.produccion-animal.com.ar

MARTOGLIO, M., RAUSCH, A., CAPORGNO, J., HESS, C., LATIMORI, N. Experiencia de engorde con novillos macho holando. www.produccion-animal.com.ar

BRUNO, J. GANGE, J. SERÓ, C. VITTONI, S. OTERO, G. MONJE, A. Y GERACI, J. Experiencia de Engorde de terneros macho holando. <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-experiencia-de-engorde-de-terneros-macho-holando.pdf>

TURINETTO, G. Producción intensiva de novillos holando argentino para consumo con dieta hiperenergética e hipoproteica. www.produccion-animal.com.ar

KLOSTER, A., LATIMORI, N. Invernadas pastoriles de alta productividad. <https://www.agrositio.com.ar/noticia/37918-invernadas-pastoriles-de-alta-productividad>

INFORMACIÓN TÉCNICA DE PRODUCCIÓN ANIMAL 2020

Publicación Miscelánea Año VIII – N° 1

CENTRO REGIONAL SANTA FE

ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGROPECUARIA RAFAELA

Ruta 34 km 227 (2300) Rafaela, Santa Fe

Teléfonos: (03492) 440121/440125

inta.gob.ar/rafaela

earrafaela@inta.gob.ar

ISSN en línea 2314-3126



Secretaría
de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación