

FACULTAD DE VETERINARIA
DPTO. DOC. Y BIBLIOTECA
ENTRADO Y ANOTADO
El de de 20...06
16 de Junio de 2006
Blanco

Veterinaria /

2006 Vol. 41 nro. 161-162



VETER

FV-VMO0641/161-162.2



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXVI Vol. 41 N° 161-162 Enero - Junio de 2006

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay - Tel-Fax (598-2) 408 6174 - 409 9458 - E-mail: smvet@adinet.com.uy

Página Web: www.smvu.com.uy

Contenido

Editorial

Homenaje

Prof. Emérito Acad. Emérito Dr. Marx Cagnoli Lansot 7

Nutrición animal

Cálculo y manejo en pastoreo controlado. I) Nivel de oferta forrajera y utilización de la pastura
Reinosso Ortiz, V.; Soto Silva, C. 9

Cálculo y manejo en pastoreo controlado. II) Pastoreo rotativo y en franjas
Reinosso Ortiz, V.; Soto Silva, C. 15

Cálculo y manejo en pastoreo controlado. III) Pastoreo por horas. Determinación de la disponibilidad y crecimiento de la pastura
Reinosso Ortiz, V.; Soto Silva, C. 25

Diagnóstico

Desarrollo de técnicas moleculares para el diagnóstico de patógenos apícolas bacterianos y virales
Antunez, K.; D'Alessandro, B.; Piccini, C.; Zunino, P. 31

Comunicación corta

Evaluación preliminar del riesgo de aparición de toxemia de la gestación en ovejas bajo diferentes manejos nutricionales y sometidas a ayuno de 48 horas
Cal, P.L.; Benech, A.; Abreu, M.N.; Borteiro, C.; Cruz, J.C.; Ricciardi, L.; Godiño, L.; Nieves, C.; Rodas, E.; González Montaña, J.R. 39

Academia Nacional de Veterinaria

Reparación quirúrgica de defectos esqueléticos en pequeños animales mediante implantes óseos xenogénicos desantigenizados: resultados preliminares
Semiglia, G.; Izquierdo, D.; Zunino, J.H. 45

Esta edición consta de 2000 ejemplares y se distribuye sin costo a todos los socios de la SMVU.

Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.

Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16-12-1988), el Dpto. de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

VETERINARIA

ISSN 0376 - 4362 - Indizada en: Vet-CD/BEASTCD



REDACTOR RESPONSABLE:

Jorge Slavica, DMV

CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":

Pedro Bañales, DMV

Uruguaysito Benavides DMV

Jacqueline Maisonnave, DMV, PhD

María A. Solari, DV

Asesor Bibliotecológico:

Elba Domínguez

ARBITROS de los TRABAJOS CIENTÍFICOS (1997 - 2006)

Berthelot, X.	(DMV)	FRANCIA	Maisonnave, J.	(DMV)	URUGUAY
Camarotte, D.	(DMV)	URUGUAY	Martin, E.	(DMV)	URUGUAY
Cajarville, C.	(DMV)	URUGUAY	Meikle, A.	(DMV)	URUGUAY
Cardelino, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY	Orcasberro, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY
Cardozo, E.	(DMV)	URUGUAY	Pérez Clariget, R.	(DMV)	URUGUAY
Cardozo, H.	(DMV)	URUGUAY	Pimentel, C.	(DMV)	BRASIL
Castells, D.	(DMV)	URUGUAY	Riet Correa, F.	(DMV)	BRASIL
Cattaneo, G.	(DMV)	CHILE	Rodríguez, H.	(DMV)	SUECIA
Cuore, U.	(DMV)	URUGUAY	Sienra, R.	(DV)	URUGUAY
De Marco, R.	(MD)	URUGUAY	Theis, J.H.	(DVM)	USA
Eddi, C.	(DMV)	ARGENTINA	Traldi, A.	(DMV)	BRASIL
Feinstein, R.	(DMV)	SUECIA	Trejo González, A.	(DC)	MÉXICO
Fernández, G.	(DMV)	URUGUAY	Trica, G.	(DMV)	URUGUAY
Flores, E.	(DMV)	CHILE	Tortora, J.	(DMV)	MÉXICO
Gil, A.	(DMV)	URUGUAY	Toscazo, H.	(DMV)	URUGUAY
Lazaneo, E.	(DMV)	URUGUAY	Uriarte, G.	(DMV)	URUGUAY
Leites, O.	(DMV)	URUGUAY	Vargas, L.	(DMV)	BRASIL
			Weiblen, R.	(DMV)	BRASIL

CONSEJO DIRECTIVO (Período 2004 - 2006)

Presidente:	Dr. Jorge Slavica
Titulares:	
Vicepresidente:	Dr. Ignacio Pereyra
Secretario:	Dr. Jorge Marra
Tesorero:	Dr. Carlos Morón
Vocales:	Dr. Eduardo Paradiso Dr. Carlos Esteves Dr. Jorge Batthyany
Colaborador:	Dr. Winston Rodríguez Soto

COMISIÓN FISCAL (Período 2004 - 2006)

Titulares:	Dr. Rodolfo Azaretto Dra. Ma. Angélica Solari Dr. Gastón Cossia
-------------------	---

CENTROS VETERINARIOS DE LA SMVU

CANELONES

Julio César Paternostro
vrussi@adinet.com.uy

CERRO LARGO

Daniel Aroztegui Brum
elrefugio@adinet.com.uy

COLONIA

Pablo Armand Ugon
padugon@adinet.com.uy

CHUY

Carlos Aristimuño
carlosar@adinet.com.uy

DURAZNO

Luis Callero
jcallero@internet.com.uy

FLORES

Mónica Oholeguy
gld@adinet.com.uy

FLORIDA

Rodolfo Azaretto
azaretto@montevideo.com.uy

LA LÍNEA

Diego Rega
dicla@adinet.com.uy

LAVALLEJA

Susana Camaño
sandraru202@hotmail.com

MALDONADO

Diego San Martín
diesan@movinet.com.uy

PASO DE LOS TOROS

Carlos Casadei
rucacasadei@hotmail.com

PAYSANDÚ

Miguel Dubra
cmv pdu@adinet.com.uy

PANDO

Javier Pereyra
segubar@adinet.com.uy

RÍO BRANCO

Pedro Fleitas
elceibovet@hotmail.com

RÍO NEGRO

Gustavo Fischer
pminoli@adinet.com.uy

RIVERA

Rafael Carriquiry
carri@adinet.com.uy

ROCHA

Eduardo Corradi
educorr@adinet.com.uy

RUTA 7

Cleber Cardozo
Tel: 0464 5304

SALTO

Pedro Herrmann
vetdondo@adinet.com.uy

SAN JOSÉ

Jorge Marra
cvets@adinet.com.uy

SORIANO

Laura Vallejo
lauravallejo678@hotmail.com

TACUAREMBO

Guzmán López
guzmanlopez@hotmail.com

TREINTA Y TRES

Carla Faliveni
rolima@adinet.com.uy

ASOCIACIONES ESPECIALIZADAS QUE INTEGRAN LA SMVU

Comisión de Reproducción e Inseminación Artificial (CRIA)

Sociedad de Buiatría del Uruguay

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Pequeños Animales (SUVEPA)

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en
Animales Silvestres (SUVEAS)

Soc. Veterinaria Especialistas en Cerdos (SVEC)

Asoc. Uruguaya de Veterinarios Laboratoristas (AUVELA)

Asoc. Vet. Esp. Protección Alimentos (ANEPA)

INTEGRACIÓN de COMISIONES

SEDE SOCIAL

Rafael Varela
Jorge Butthyany

MERCOSUR

Hugo Fontaña
Julio García Lagos
Ignacio Pereira
Eugenio Perdomo
Angela Rista
Luis Barros
Jorge Baraibar
Orgelio Cabrera

FESTEJOS

Elbio Sosa
Rafael Varela
Cecilia Corso

FINANZAS

Hugo Fontaña
Juan Dogliotti

BOLETÍN Y R.R.P.P.

Daniel Alza
Alvaro Fernández

CULTURA Y

DEPORTE
Walter Faliveni
Raquel Pérez

REVISTA

María Solari
Jacqueline Maisonnave
Pedro Bañales
Uruguaysito Benavides
Elba Domínguez

ESTATUTOS Y

REGLAMENTO
Margarita de Miquelerena
Adriana Rodríguez
Marcelo Rodríguez

ASUNTOS

UNIVERSITARIOS
Eduardo Martín
Carlos Estévez

DECRETO 160/97

Griselda de Gregorio
Luis Delucchi
Alvaro Trinidad

REPRODUCCIÓN

Luis Cuenca
Guillermo de Nava
Sergio Kmaid

RABIA

Cristina Filippini
Daniel Rossi
Alvaro Fernández
Ernesto Giambruno

PODALES

Roberto Acuña
Daniel Alza

BRUCELOSIS

Virginia Diana
Analia Cobo Leturia
Ricardo Segundo
Darío Hirigoyen
Ignacio Pereyra

BIOTECNOLOGÍA

Carlos Azambuja
Eduardo Terranova
Lucía Kelly
Silvia Llambí
Analia Cobo Leturia

PÁGINA WEB Y

MULTIMEDIA

Humberto Tomassino
Oscar Caponi
Juan Dogliotti
Dreiner Fariás

TRIBUNAL ARBITRAL

DE HONOR Y DISCIPLINA

Adolfo Bortagaray
Julio García Lagos
Juan José Mari
Cecilia Martín
Adriana Rodríguez

SOBRE ILEGALIDADES Y DISTRACCIONES

Siempre han existido, pero recientemente, han surgido con mayor incidencia en el seno de nuestra Sociedad, denuncias concretas realizadas por colegas, sobre ejercicio ilegal de la Medicina Veterinaria. Esta usurpación de funciones sobre nuestra profesión es atribuida a diversos actores, que significan, diferentes responsabilidades y también merecen de nuestra parte distintas consideraciones.

Consideramos que el conocimiento no debe ser privativo de ninguna profesión, pero sí debe existir responsabilidad social de ejercer ese conocimiento. En definitiva, a nadie en una sociedad libre y democrática se le debería impedir que adquiriera conocimientos. Es más, correspondería proporcionar todos los medios necesarios para que cada vez más ciudadanos obtengan más y mejores conocimientos y gocen de mayor Libertad. Adquiriríamos conocimientos –entre otras cosas–, para servir a la sociedad a la que pertenecemos y no para mejor servirnos de ella.

En tanto y en cuanto somos seres pensantes y compartimos un mismo espacio físico, temporal y social, nuestra primera responsabilidad es respetar a nuestros conciudadanos

Respetar significa, no solo acatar las normas legales existentes, sino también las

que emanan de nuestra propia conciencia. No debemos hacer a los demás lo que no estamos dispuestos a aceptar. Es casi imposible que las normas legales cubran toda nuestra actuación social y profesional, aun en un país sobre regulado como Uruguay. Por tanto, nuestro comportamiento como ciudadano debe ser la primera regulación que deberíamos tener en cuenta en nuestra interrelación social. Y aquí hay una diferencia importante entre los diferentes actores. No es lo mismo la usurpación de funciones realizadas por un lego que las perpetradas por un profesional extranjero que ingresa al país. En el primer caso, es posible asumir, que ciertas personas piensen que, algunos conocimientos aislados obtenidos en cursillos de dudosa regulación, lo habilitan a usarlos como un medio de vida sin ningún tipo de responsabilidad.

En el segundo caso, sinceramente es difícil creer que un profesional universitario que ingresa a otro país a ejercer su profesión, desconozca que al menos debería informarse de las normas que rigen el ejercicio de la profesión en ese país. En este caso la usurpación de funciones es más grave porque es realizada por personas informadas y capacitadas, persiguiendo un fin económico y posiblemente de mala fe.

El otro actor con responsabilidad es el Estado Uruguayo, que intenta regular a sus ciudadanos y no a los extranjeros, los cuales no han revalidado sus títulos, no pagan impuestos e ingresan al país con instrumental y medicamentos propios y sin los controles sanitarios necesarios, amenazando nuestro Status Sanitario.

Los veterinarios uruguayos también tenemos responsabilidades. Debemos analizar nuestro propio desempeño y capacitación y considerar que servicios le estamos ofreciendo a los usuarios. Debemos evaluar también, cual es la interrelación con nuestros colegas y que grado de compromiso asumimos con los problemas de nuestra Profesión.

EN TODOS ESTOS CASOS LA SOCIEDAD DE MEDICINA VETERINARIA DEL URUGUAY

(smvu@smvu.com.uy) está actuando para hacer más transparente y justo nuestro desempeño profesional. Entre ellas, realizaremos acciones para cambiar la permanente distracción del Estado Uruguayo respecto a su responsabilidad en el cumplimiento y control de las normas educativas, sanitarias y tributarias que regulan el ejercicio de la Profesión Veterinaria en Uruguay.

Dr. Jorge Slavica



Prof. Emérito Acad. Emérito Dr. Marx Cagnoli Lansot

Recordar la historia de un hombre puede parecer una tarea difícil, pero evocar los hechos que rodearon su transitar en la vida es aún más difícil y nuestros recuerdos no van a estar libres de las subjetividades que rodean esas actividades emprendidas de una manera tan fraterna.

Conocimos al Prof. Cagnoli en los inicios de nuestros estudios universitarios y su presencia imborrable ha persistido en forma permanente en el desarrollo de nuestras actividades profesionales, ya que muchas fueron las actividades compartidas durante más de 40 años ... y que grandes recuerdos atesoramos de ese compartir profesional y humano.

Al Dr. Cagnoli le recordamos por sus cualidades humanas para ejercer la docencia terciaria, muchos consideran que no fue un docente con nivel académico que hace una puesta en escena de su actividad docente deslumbrando sus a alumnos, por nuestra parte recordamos que la docencia la trasmítía de manera práctica y en forma muy exigente, dándonos las herramientas básicas para el ejercicio profesional.

Nos enseñaba con ello a como encontrar el camino, como resolver los problemas inesperados en la práctica profesional, ya que las herramientas nos las había dado.

Esa actitud docente la marcan los maestros, al paso del tiempo así los recordamos que no solo nos enseñan a mirar, sino que su sabiduría se transmite al enseñarnos a ver, nos inspiran confianza y fortalecen nuestra autoestima.

Le toco vivir momentos muy difíciles en la historia de nuestro país y los enfrentó con sus convicciones las que nunca ocultó o renunció y eso también engrandece su figura humana.

La Universidad en su formación pasó por él y así nos lo remarcó al inicio de nuestros estudios universitarios, diciéndonos objetivamente como hacerlo nosotros al indicarnos nuestras responsabilidades en el marco del co-gobierno universitario, y nos señalaba: "siempre fundamentados en la tolerancia y la vía democrática para ejercerlas. Nunca renunciar al dialogo constructivo".

Su permanente recuerdo a su esposa, a su hija y nietos siempre estaban presentes cuando nos contaba de sus anécdotas acerca de su ejercicio profesional, que desde sus inicios en los años '30 que los transito junto a grandes colegas. Nunca se le escucharon hacer críticas a los mismos, aún en las más duras discrepancias y el recuerdo su maestro el Prof. Dr.

Miguel C. Rubino fue siempre su guía hacia el horizonte de sus actividades.

Recordaba permanentemente la figura del Dr. Rubino y su deseo de que cuando le llegara el momento de su descanso eterno pudiera descansar al pie del busto que recuerda la memoria de su maestro, ese era su aspiración final luego del paso por esta vida.

Cuando juntamos los recuerdos nos surge la figura de un hombre que enfrentó la vida con un espíritu constructivo, su lema era ayudar y no hacer sufrir al prójimo o a sus familiares más queridos y ... nos lo demostró en sus últimos días cuando afectado por su dolencia, haciendo caso omiso a la misma, nos daba su ejemplo de vida ante la adversidad comentándonos sus proyectos hacia el futuro.

No nos despedimos del Dr. Cagnoli, no lo quería, los homenajes se hacen en la vida y se disfrutan y así nos lo hizo saber diciéndonos que no era merecedor de los mismos, tal era su humildad, por tanto no nos despedimos ya que su recuerdo vivirá en quienes lo conocimos, reconocemos su ejemplo y disfrutamos de su amistad.... a su familia muchas gracias por permitirnos ser parte de la vida del Dr. Cagnoli.



Cálculo y manejo en pastoreo controlado. I) Nivel de oferta forrajera y utilización de la pastura

Reinosso Ortíz, V.; Soto Silva, C.¹

INTRODUCCIÓN

Uruguay posee más del 80% de su superficie pastoreada por bovinos de carne y ovinos (28) lo cual nos da una idea de la dependencia de nuestro sistema de producción del aporte que realizan las pasturas las que se encuentran sujetas a variaciones climáticas y estacionales que le imponen profundos cambios en su composición (9).

Los bajos porcentajes de destete del rodeo de cría nacional, que rondan el 63% en años de clima normal, responden fundamentalmente a un pobre estado nutricional de los vientres (26) producto de una falta de sincronía entre la demanda y la oferta de forraje dado que la mayoría de los productores no realizan ningún tipo de cálculo de balance forrajero como método de ajuste de la carga.

Formoso (1996, citado por 28) determinó el comportamiento reproductivo del rodeo de cría en campo natural sobre suelos de Cristalino, encontrando una alta correlación entre la carga (vacas/ha) y el porcentaje de destete. De los 13 años analizados, en 10 de ellos la carga real empleada (0.8 UG/ha) fue superior a la capacidad de carga soportada por el campo debido a las variaciones climáticas entre años, esto se tradujo en bajos índices de procreo. A conclusiones similares llegó Pereira Machin (27) para la zona de Basalto, analizando los datos de 15 años de producción forrajera, carga y porcentaje de destete, en 11 de los años analizados la carga fue superior a la soportada por el campo. Probablemente muchas de las ineficiencias en los sistemas ovejeros, lecheros y de invernada también puedan ser explicados por un defasaje entre la oferta y la demanda de forraje.

De lo expuesto surge la importancia de manejar correctamente el pastoreo y la carga animal para ajustar en forma adecuada la oferta de forraje con la demanda animal (18). Actualmente la zona basáltica (5) así como muchas otras regiones del país cuentan con abundante información sobre la capacidad de carga del campo natural.

Esta serie de tres trabajos sobre cálculo y manejo del pastoreo pretenden contribuir a la difusión de los fundamentos básicos del tema. Los autores han desarrollado un programa informático (SACPC Ver. 1.1)² que permite resolver todos los cálculos mencionados en estos trabajos para situaciones reales concretas¹.

NIVEL DE OFERTA FORRAJERA

El nivel de oferta forrajera (NOF) o asignación diaria de forraje es la cantidad de forraje que disponen los animales por unidad de peso vivo y por día durante un periodo determinado de tiempo (16, 15), normalmente se expresa como porcentaje del peso vivo (PV), por ejemplo un NOF del 3% significa que el animal tendrá una disponibilidad diaria de 3 kg MS de forraje por cada 100 kg de PV. La oferta forrajera condiciona la producción animal individual y por unidad de superficie.

Diversos autores coinciden en señalar que la relación entre NOF y producción animal individual es de tipo cuadrática (2), a medida que se incrementa el NOF aumenta el consumo de forraje por animal hasta un cierto punto donde se hace máximo y de ahí en mas comienza a declinar (4, 18).

Tanto niveles de oferta forrajera reducidos como demasiado elevados conducen a un bajo consumo, en el primer caso

fundamentalmente por una reducción en la cantidad de forraje ingerido en cada bocado (bajo peso de bocado), mientras que en el segundo caso fundamentalmente por acción de un pastoreo muy selectivo que culmina con el sobrepastoreo de algunas zonas y el aumento del área desaprovechada por parcela compuesta por forraje rechazado endurecido (33, 9, 13, 17, 18). Lo anteriormente señalado es bien evidente en un ensayo en el cual se evaluó el comportamiento de novillos pastoreando en forma rotativa una cobertura de Lotus corniculatus con NOF de 5, 7.5, 10 y 12.5%, donde se obtuvieron las mayores ganancias individuales con NOF de 10% (36, 37).

Los niveles de producción a un determinado NOF varían según la categoría y el estado fisiológico del animal y según la estructura, calidad y fitomasa³ de la pastura en cuestión (2, 36).

Para alcanzar un máximo consumo en pastoreo el NOF debe ser 3 a 5 veces superior a la demanda (18, 4, 25), por ejemplo, si el máximo consumo es 3% del peso vivo el NOF debe ser de 9 a 15%, sin embargo otros autores consideran que se requiere un NOF de 1.8 a 2 veces el máximo consumo para poder lograrlo (Galioistro y Cangiano 1994, citado por 7, 33). En la práctica para evitar una baja utilización de la pastura y un deterioro en la calidad de la misma debido a un NOF muy elevado se recomienda proporcionar un NOF dos veces superior al máximo consumo esperado o 25 kg de MS/animal/día en vacas lecheras en producción cuando además son suplementadas (4). Cuando el NOF es dos veces superior al máximo consumo esperado inevitablemente comienza a producirse pérdidas de forraje por subutilización (18).

¹DMV, actividad privada, Manuel Oribe 389, Artigas-Uruguay. CP. 55000. E-mail: srvet@adinet.com.uy.

²SACPC Ver. 1.1 se distribuye en forma gratuita a quienes lo soliciten al correo electrónico de los autores.

³Fitomasa: disponibilidad de forraje por unidad de superficie (kg MS/ha). En la tercera parte de este trabajo se describe en forma práctica como determinar el crecimiento y la disponibilidad de la pastura.

Recibido: 19-09-05 Aprobado: 19-12-05

La mayor ganancia de peso en corderos se lograría cuando la oferta forrajera es 4 veces superior al máximo consumo esperado, aproximadamente con un NOF de 14 a 15% y una fitomasa cercana a los 3000 kg MS/ha (Carvalho 2002, según 2). Peppi y col. (1987, según 2) consideran que corderos en crecimiento (engorde) lograrían el máximo consumo de forraje con disponibilidades de entre 1500 a 2000 kg MS/ha y una oferta por cordero de 3 a 4 kg MS/día. Recientemente a nivel nacional se evaluó la respuesta física de la invernada de corderos bajo diferentes NOF (6, 9, 12 y 15%) lográndose la mayor ganancia diaria individual con NOF del 15% (24).

En ganado de carne sobre praderas y verdeos de buena calidad se puede lograr mantenimiento de peso y buenas ganancias con un NOF de 1.5% y 3-4% respectivamente (39, 40, 29) mientras que en ovinos se logran con un NOF de 2-2.5% y 7-8% respectivamente (15, 3).

La respuesta a la suplementación es buena cuando el NOF es bajo, menor a 1.5-2% en ganado de carne (39, 29) y menor a 3-4% en ovinos (15), con niveles superiores la sustitución que realiza el animal de pastura por concentrado es alta y por lo tanto la repuesta a la suplementación disminuye. (Cuadro 1).

Para obtener un corto anestro post-parto en los rodeos de cría se debería proporcionar un NOF de 3% en los dos últimos meses de gestación, incrementándolo a 4-5% en el periodo comprendido entre el parto y el entore (Nicol y Nicol 1987, citado por 33).

San Julián y col. (35), establecieron que para lograr que mas del 80% de las borregas sean encarnadas a los 2 dientes, durante su primer invierno deberían pastorear en forma rotativa al menos por 2.5 meses un verdeo de avena, con un periodo de permanencia por parcela no

mayor a 7 días y con un NOF de 2.5-5% (aproximadamente 40 a 100 borregas/ha), para lograr el 100% de animales encarnados a esa edad se deben emplear cargas de 40 a 60 borregas/ha.

Holmes (1993, según 7) considera que en sistemas rotativos con vacas lecheras la oferta por animal debería ser de 40-50 kg/día con una fitomasa inicial de 2200 kg MS/ha. Esta oferta por animal corresponde a un NOF de aproximadamente 7.5 a 9% en una vaca de 550 kg, lo cual sumado a la alta fitomasa recomendada para iniciar el pastoreo busca maximizar el consumo voluntario individual. Debe tenerse en cuenta que a pesar de proporcionar un NOF adecuado si la disponibilidad de forraje por hectárea es baja no se alcanzaran altos consumos por una dificultad del animal en cosechar el forraje (17, 18, 13).

Risso y Zarza (32), encontraron una relación directa entre la fitomasa del rechazo, es decir, lo que queda de forraje en la parcela luego de culminado el pastoreo y la ganancia diaria de ganado de carne en invernada. A medida que el rechazo descendió de 2000 hasta 650 kg MS/ha, se observaron caídas lineales en la ganancia diaria de peso vivo, probablemente debido a una disminución en el peso de bocado (18, 13). Sin embargo aumentos en el rechazo por encima de 2000 kg MS/ha no mostraron incrementos en la producción (32). Cuando la disponibilidad de forraje desciende por debajo de los 2000 kg MS/ha el peso de bocado y el consumo disminuyen (Minson 1990, según 25).

Por otro lado Vaz Martins y Bianchi (41), empleando pastoreo rotativo sobre pradera con diferentes NOF, encontraron una estrecha relación entre altura del rechazo y ganancia de peso vivo en novillitos. A medida que aumentó la altura del rechazo de 5 a 18 cm se incrementó lineal-

mente la ganancia diaria por animal. A similares conclusiones llegaron San Julián y col. (34) con ovinos, a medida que aumentó la altura del rechazo también lo hizo la ganancia diaria de peso vivo. Hodgson (18), Bargo y col. (4) y Forbes (13) señalan que a medida que disminuye la altura de la pastura disminuye el peso del bocado. De todo esto surge la importancia no solo de manejar un NOF adecuado sino también una adecuada disponibilidad y altura del forraje.

El máximo consumo voluntario tanto en bovinos como ovinos se obtiene cuando la disponibilidad de forraje es superior a 2250-2500 kg MS/ha (Rayburn 1987 según 25, 1, 33), a medida que disminuye la disponibilidad por debajo de estos valores la reducción en el consumo se va haciendo cada vez mayor debido a una disminución en el peso del bocado (13, 17) y posiblemente a causa de la fatiga que ocasiona el pastoreo (Jagush y col. 1979, según 9).

Si se quiere lograr aumentos importantes de peso tanto en animales en crecimiento como en engorde, la disponibilidad de forraje no debe ser inferior a 1800-2000 kg MS/ha (9), cuando la disponibilidad es inferior a 1000 kg MS/ha la performance animal comienza a declinar (30). Bajas disponibilidades de forraje por unidad de superficie y/o bajos NOF llevan a un bajo consumo y por ende disminuye la producción animal individual.

En el cuadro 2 se presentan ecuaciones para calcular la carga en base a un determinado NOF preestablecido.

La primera ecuación (desarrollada a partir de 23, 25 y 42) es una ecuación genérica para ajustar la carga en base a un determinado NOF, las demás ecuaciones se obtuvieron simplemente despejando de la primera los términos correspondientes.

Cuadro 1. Relación entre NOF y ganancia diaria en terneros pastoreando verdeos y pasturas mejoradas (tomado de Pigurina y col. 1997).

%NOF	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	4.0	
ganancia (kg/día)		0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.6
carga (terneros/ha)		12		6		4	3

Cuadro 2.

$$\text{Carga inst. (anim/ha)} = \frac{\text{MSi} + (\text{crecimiento} * \text{días})}{\text{PV} * \% \text{NOF} * \text{días}} * 100$$

$$\% \text{NOF} = \frac{\text{MSi} + (\text{crecimiento} * \text{días})}{\text{PV} * \text{carga inst.} * \text{días}} * 100$$

$$\text{días} = \frac{\text{MSi}}{(\text{PV} * \text{carga inst.} * \% \text{NOF}) / 100 - \text{crecimiento}}$$



donde:

- MSi** = fitomasa al comenzar el pastoreo, en kg MS/ha.
- crecimiento** = crecimiento del forraje, en kg MS/ha/día.
- PV** = peso vivo promedio en kg de los animales.
- %NOF** = es el nivel de oferta forrajero deseado, en % del PV.
- días** = número de días que dura el pastoreo.
- Carga inst.** = número de animales por hectárea que posee la parcela o potrero que está siendo pastoreada en curso.

Ejemplo 1:

- Se dispone de una parcela de 5 Ha que al inicio del pastoreo presenta una disponibilidad forrajera de 1200 kg MS/ha, el crecimiento de la pastura se estima en 12 kg MS/ha/día y el periodo de pastoreo considerado es de 6 días. ¿Cuál es la carga (animales/ha) necesaria para que los animales dispongan de un NOF de 9.5% si su peso vivo promedio es de 420 kg?

$$\text{carga inst.} = \frac{1200 + (12 * 6)}{420 * 9.5 * 6} * 100 = 5.31 \text{ animales/ha}$$

- Número total de animales necesario para el pastoreo con un NOF del 9.5% de las 5 ha:

$$5.31 \text{ animales/ha} * 5 \text{ ha} = 26.57 \text{ animales.}$$

Ejemplo 2:

- Se ha reservado un potrero de 50 ha para ser pastoreado en invierno con 90 vacas de cría preñadas (carga = 90/50 = 1.8 animales/ha) cuyo peso vivo promedio es de 390 kg. Al inicio del pastoreo la disponibilidad forrajera es de 1500 kg MS/ha, el crecimiento de la pastura se estima en 3 kg MS/ha/día y el NOF deseado es de 4%. ¿Cuántos días soporta el potrero con dicha carga y a ese NOF?

$$\text{Días} = \frac{1500}{(390 * 1.8 * 4) / 100 - 3} = 59.81 \text{ días}$$

Muchas veces cuando se ajusta la carga en base al NOF, por razones de simplicidad no se incluye en el cálculo el crecimiento de la pastura, lo cual subestima en mayor o menor grado la asignación de forraje, especialmente si el período de permanencia por parcela es largo y/o el crecimiento diario del forraje es alto. La subestimación aumenta cuando la fitomasa al inicio del pastoreo es baja, cuando aumenta la tasa de crecimiento del forraje o aumenta el tiempo de permanencia por parcela.

Para periodos breves de permanencia por parcela no considerar el crecimiento de la pastura no acarrearía demasiadas imprecisiones en la asignación diaria del forraje (23), esto es especialmente marcado si existe una importante fitomasa inicial.

Con períodos relativamente largos de permanencia por parcela, mayores a 2 días, el crecimiento del forraje debe ser incluido en el cálculo del NOF o en la determinación de la carga (16). Pero también es importante destacar que el crecimiento de una pastura sometida a la defoliación del pastoreo puede llegar a ser muy diferente al crecimiento medido en una jaula de exclusión por corte al ras del suelo o por diferencia con la fitomasa inicial preexistente (21). Dicha tasa de crecimiento debería ser corregida por un factor apropiado (23, 21), pero dicha corrección aun no se ha podido establecer correctamente (8). Thomas (38) señala que el corte del forraje equivale sólo a un efecto del animal o sea la defoliación, no reproduce otros factores del pastoreo como la selección, el pisoteo y la excreción. Whiteman y Lulham (1970, citados por 38) evaluaron una pastura bajo corte y bajo pastoreo rotativo con ovinos. El pastoreo fue más severo que el corte, redujo más el tamaño de las plantas y los rendimientos del forraje, lo cual se atribuyó a los efectos de la defoliación selectiva y del pisoteo.

En condiciones de campo cuando no es posible determinar el crecimiento forrajero o no se cuenta con datos confiables, el crecimiento generalmente no es considerado en los cálculos de carga y NOF (se emplea en las fórmulas crecimiento = 0).

Cuando el período de pastoreo de una misma parcela o potrero es prolongado,

como sucede en el pastoreo continuo (18) la carga suele estimarse en función del

crecimiento y de la utilización de la pastura en relación al consumo potencial de los animales.

$$Carga \text{ (anim/ha)} = \frac{\text{Crecimiento (kg MS/ha/día)} * (\% \text{ Utilización} / 100)}{\text{Consumo (kg MS/anim/día)}}$$

La estimación precisa del consumo a pastoreo es muy dificultosa dada la compleja interacción pastura - animal (12, 19, 10). Para fines prácticos en ganado de carne alimentado con forrajes suele estimarse un consumo constante del 2% del peso vivo en vacas de cría y del 2.5% en animales en crecimiento (6). Se asume habitualmente una utilización de la pastura en campo natural del 50% (5) y del 60% en campo natural mejorado (22).

UTILIZACIÓN DE LA PASTURA

El porcentaje de utilización de una pastura es la relación entre el forraje ofrecido (disponible + crecimiento) y el forraje desaparecido (por consumo, senescencia, pisoteo, etc.) durante el período de pastoreo, por ejemplo una utilización del 70% asume que el 70% del forraje ofrecido fue consumido. La utilización de la pastura es una medida del aprovechamiento del forraje.

Generalmente la utilización del forraje del campo natural y de la mayoría de las pasturas mejoradas es menor al 60%. En pasturas mejoradas con manejo intensivo del pastoreo la utilización se ubica entorno al 70% pudiendo llegar al 80% únicamente con pastoreos muy controlados y con alta carga (31). Mas valores de utilización se pueden encontrar en Crempien (11) y Leborgne (20).

En general a medida que aumenta la carga por unidad de superficie disminuye el NOF y el consumo individual, pero se incrementa el porcentaje de utilización de la pastura, dado que el consumo total aumenta ya que el bajo consumo individual es compensado por la alta carga (18). En general una alta producción por animal esta asociada a una baja utilización de la pastura.

La utilización de una pastura se calcula como (14) (Cuadro 3).

Por practicidad, en algunos trabajos no se considera el crecimiento de la pastura en el cálculo de la utilización, pero de la fórmula anterior se desprende que si no se considera se obtiene un porcentaje de utilización menor al real y que para un mismo nivel de disponibilidad inicial y de rechazo cuanto mayor sea el forraje acumulado por el crecimiento mayor será el porcentaje de utilización de la pastura. Por lo cual en todos los casos la utilización "aparente" (sin considerar el crecimiento) va a ser siempre menor a la utilización "real" de la pastura, especialmente si se mide en períodos largos de pastoreo, así como también el porcentaje de utilización aislado de un solo pastoreo va a ser siempre menor que la utilización de toda la temporada de pastoreo (estación, año, etc.) (9).

Cuadro 3.

$$\% \text{ Utilización} = \frac{(MSi + \text{crecimiento} * \text{días}) - \text{rechazo}}{MSi + \text{crecimiento} * \text{días}} * 100$$

donde:

- MSi** = fitomasa al comenzar el pastoreo, en kg MS/ha.
- crecimiento** = crecimiento del forraje, en kg MS/ha/día.
- días** = número de días que dura el pastoreo.
- rechazo** = fitomasa al finalizar el pastoreo, en kg MS/ha.

Referencias Bibliográficas

1. **Aguirrezabala, M. y Oficialdegui, R.** (1993): "Simulación del consumo bovino y ovino en condiciones de pastoreo". *Producción Ovina* 6:88-110.
2. **Azzarini, M.; Piaggio, L.; Gaggero, C. y Cardellino, R.** (2002): "Efectos de la carga y suplementación con grano de sorgo en la producción de corderos pesados tipo SUL, de raza ideal, sobre pasturas sembradas". *Producción Ovina* 15:13-22.
3. **Banchero, G.; Montossi, F.; San Julián, R.; Ganzabal, A. y Ríos, M.** (2000): "Tecnologías de producción de carne ovina de calidad en sistemas ovinos intensivos del Uruguay", INIA, Serie Técnica 118, pp 36.
4. **Bargo, F.; Muller, L.; Kolver, E. y Delahoy** (2003): "Invited review: Production and Digestion of supplemented dairy cows on pasture" *J. Dairy Sci.* 86:1-42.
5. **Berretta, E. y Bemhaja, M.** (1998): "Producción estacional de comunidades naturales sobre suelos de basalto de la unidad Queguay Chico". *En: Seminario sobre actualización de tecnologías para el basalto*, INIA, Serie Técnica 102, pp. 11-20.
6. **Burns.** (1982): "Integration of grazing to other feed resources". *En: J. B. Hacker* (Ed.), *Nutritional limits to animal production from pasture*. Farnham Royal, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux.
7. **Cangiano, C.** (1997): "Consumo a pastoreo. Factores que afectan la facilidad de cosecha". *En: C. A. Cangiano* (ed.) "Producción animal en pastoreo", INTA Balcarce, pp 41-63.
8. **Cangiano, C.** (1997b): "Métodos de medición de la fitomasa aérea". *En: C. A. Cangiano* (ed.) "Producción animal en pastoreo", INTA Balcarce, pp 117-128.
9. **Carámbula, M.** (1996): "Pasturas naturales mejoradas", Ed. Hemisferio Sur, pp. 524.
10. **Coleman, S.** (2005): "Predicting forage intake by grazing ruminants", *Proc. 16th Florida Ruminant Nutrition Symposium*, University of Florida, pp. 72-90.
11. **Crempien, C.** (1983): "Antecedentes técnicos y metodología básica para utilizar en presupuestación en establecimientos ganaderos", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 72.
12. **Forbes, J. M.** (1995): "Voluntary food intake and diet selection in farm animals". CAB International, Wallingford, UK, pp 532.
13. **Forbes, T.** (1988): "Researching the plant-animal interface: the investigation of ingestive behavior in grazing animals". *J. Anim. Sci.* 66:2369-2379.
14. **Formoso, D.** (1999): "Estrategias de fertilización e influencia del pastoreo de ovinos y bovinos en una cobertura de *Lotus subbiflorus* cv El Rincón". *Producción Ovina* 12:63-78.
15. **Ganzabal, A.** (1997): "Alimentación de ovinos con pasturas sembradas", INIA, Serie Técnica 84, pp. 43.
16. **Hodgson, J.** (1979): "Nomenclature and definitions in grazing studies", *Grass and Forage Science* 34:11-18.
17. **Hodgson, J.** (1982): "Ingestive behaviour". *En: J. D. Leaver* (Ed): *Herbage Intake Handbook*, British Grassland Society, pp 113-138.
18. **Hodgson, J.** (1990): "Grazing management. Science into Practice", *Longman Handbooks in Agriculture*, p. 201.
19. **Leaver, J.** (1982): "Herbage intake handbook", British Grassland Society, pp 143.
20. **Leborgne, R.** (1983): "Antecedentes y metodología para presupuestación en establecimientos lecheros", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp. 54.
21. **Meijs, J.; Walters, R. y Keen, A.** (1982): "Sward methods". *En: J. D. Leaver* (Ed): *Herbage Intake Handbook*, British Grassland Society, pp 11-36.
22. **Montossi, F; Pigurina, G; Santamarina, I. y Berretta, E.** (2000): "Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos: teoría y práctica". INIA, Serie Técnica Nro. 113.
23. **Morley, F. H. W.** (1968): "Pasture growth curves and grazing management". *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 8:40-45.
24. **Norbis, H. y Piaggio, L.** (2004): "Estrategias de alimentación y manejo en la recría e invernada de corderos". *En: Seminario de Producción Ovina: Propuesta para el negocio ovino*, Secretariado Uruguayo de la Lana, Paysandú 29 y 30 de Julio del 2004, pp 26-35.
25. **NRC** (2000): "Nutrient requirements of beef cattle", 7th revised edition, Update 2000, Washington D.C., National Academy Press, pp. 242.
26. **Orcasberro, R.** (1996): "Manejo para mejorar la eficiencia reproductiva de los rodeos de cría". *Anuario Hereford* 1996, pp. 103-121.
27. **Pereira Machin, M.** (1999): "Pasturas naturales: algunas consideraciones a tener en cuenta" *En: Foro Organización De La Cría Vacuna*, Instituto Plan Agropecuario, 12-15 Octubre 1999, Tacuarembó-Uruguay, pp. 32-43.
28. **Pereira, G. y Soca, P.** (1999): "Aspectos relevantes de la cría vacuna en el Uruguay" *En: Foro Organización De La Cría Vacuna*, Instituto Plan Agropecuario, 12-15 Octubre 1999, Tacuarembó-Uruguay, pp. 5-29.
29. **Perez, A.; Cardozo, O. y Aguerre, V.** (2004): "Invernada intensiva en predios de área reducida", INIA, Boletín de Divulgación Nro. 85, p. 32.
30. **Pigurina, G.; Brito, G.; Pittaluga, O.; Scaglia, G. y Berretta, E.** (1997): "Suplementación de la recría en vacunos". *En: Suplementación estratégica de la cría y recría ovina y vacuna*, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 129, pp. IV 1-6.
31. **Pigurina, G. y Santamarina, I.** (2000): "El pastoreo por horas", *El País Agropecuario* 68:25-28.
32. **Risso, D.; y Zarza, A.** (1981): "Producción y utilización de pasturas para engorde". *En: Utilización de pasturas y engorde eficiente de novillos*, Miscelánea 28, La Estanzuela, CIAAB, pp 7-27.
33. **Rovira, J.** (1996): "Manejo nutritivo de los rodeos de cría en pastoreo", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 287.
34. **San Julián, R.; Montossi, F.; Berretta, E.; Levrato, J.; Zamit, W. y Ríos, M.** (1998): "Alternativas de

alimentación y manejo invernal de la recria ovina en la región de basalto". En: Seminario sobre actualización de tecnologías para el basalto, INIA, Serie Técnica 102, pp 209-227.

35. **San Julián, R.; Montossi, F.; Risso, D.; Berreta, E.; Zamit, W. y Levrato, J.** (1997): "Estrategias de alimentación y manejo invernal de la recria ovina en el basalto". *En:* Tecnologías de producción ganadera para basalto, INIA, Serie Actividades de Difusión No. 145, pp II 7-14.

36. **Soca, P.; Espasandin, A.; Berruti, I.; Rinaldi, C. y Bentancur, O.** (1993): "Parámetros de la pastura y crecimiento de vacunos en pastoreo". *En:* 2do Curso de reciclaje para egresados, 21-23 Julio 1993, EEMAC, Facultad de Veterinaria, Paysandú-Uruguay. pp. BD 1-18.

37. **Soca, P.; Rinaldi, C., y Espasandin, A.** (1998): "Presiones de pastoreo, reducción del área pastoreada y comportamiento animal". *En:* XIV reunión del grupo técnico regional del cono sur en mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical: grupo campos. Anales, INIA, Serie Técnica 94, pp. 157-162.

38. **Thomas, D.** (1993): "Evaluación de pasturas sin animales: consideraciones metodológicas". *En:* J. Puignau (ed.): Metodología de evaluación de pasturas. IICA-PROCISUR, Diálogo XXXVIII, Montevideo-Uruguay, pp. 9-15.

39. **Vaz Martins, D.** (1997): "Suplementación energética en condiciones de pastura limitante". *En:* Suplementación estratégica para el engorde de ganado, INIA, Serie Técnica 83, pp 17-22.

40. **Vaz Martins, D.; Cibils, R.; Aunchain, M. y de Lamare, M.** (1998): "Engorde de novillos en base a silo de maíz suplementado con pasturas o expeller de girasol". *En:* Utilización de ensilaje de maíz para el engorde de novillos, INIA, Serie Técnica 98, pp 1-12.

41. **Vaz Martins, D. y Bianchi, J.** (1982): "Relación entre distintos parámetros de la pastura y el comportamiento animal en pastoreo". *En:* Utilización de pasturas. Miscelánea 39, La Estanzuela, CIAAB, pp 1-16.

42. **White, H. y Wolf, D.** (1996): "Control grazing of Virginia's pasture". Virginia Cooperative Extension. Internet: <http://www.caf.wvu.edu/~forage/vpi/418-012/418-012.htm>.

Cálculo y manejo en pastoreo controlado. II) Pastoreo rotativo y en franjas

Reinosso Ortiz, V.; Soto Silva, C.¹

Los sistemas rotativos son aquellos que luego del pastoreo permiten a la pastura descansar por un periodo de tiempo lo suficientemente largo como para que las plantas recuperen sus reservas y puedan volver a rebrotar (25, 26, 23, 5, 14).

En la práctica, el pastoreo rotativo consiste en subdividir un campo o potrero en varias parcelas que serán pastoreadas sistemáticamente de modo que mientras una parcela es pastoreada las demás descansan.

Existen diferentes variantes de pastoreo rotativo que pueden ser clasificadas según el número de parcelas involucradas y la velocidad de rotación (McCoster 1993, según 18), lo cual a llevado a un gran número de denominaciones como por ejemplo pastoreo rotativo, controlado, racional, racionado, intensivo, en franjas, etc. (25), pero los principios en los cuales se basan son en esencia los mismos.

Una de las variantes más empleadas es el pastoreo en franjas, en esencia es un pastoreo rotativo ideal (11) donde la superficie de las parcelas (franjas) y el tiempo de estadía en ellas es muy breve (23, 14). La gran diferencia con el pastoreo rotativo convencional es que este último presenta un número menor de parcelas y por lo tanto un mayor período de permanencia en cada una de ellas.

Dado que los cálculos y los conceptos sobre el pastoreo rotativo convencional y el pastoreo en franjas son básicamente los mismos, en este trabajo se emplearan de aquí en más ambos términos como sinónimos, así como los términos parcela y franja.

El pastoreo rotativo puede ser aplicado tanto sobre pasturas mejoradas (verdeos, praderas, siembras en cobertura) como sobre campo natural (26, 12).

Existen especies forrajeras que necesitan ser manejadas bajo pastoreo rotati-

vo. Las plantas de porte erecto como alfalfa, trébol rojo, lotus, pasto ovilla (*dactylis*), cebadilla, sorgo, etc., no se adaptan al pastoreo continuo y requieren luego de la defoliación un periodo de descanso largo para recuperar el área foliar y las reservas, en cambio las especies de crecimiento prostrado como trébol blanco, lotus anual, holcus, festuca, raigrás, trébol subterráneo y *lotononis bainessi* soportan mejor el pastoreo continuo que las especies erectas (8, 5, 9).

Los ensayos que han pretendido comparar la producción animal entre el pastoreo continuo y el rotativo han dado resultados contradictorios (8, 9), el pastoreo rotativo resultaría mejor con respecto al continuo frente a alguna de las siguientes situaciones: altas dotaciones, épocas de bajo crecimiento forrajero como invierno o veranos muy secos, pasturas compuesta por especies que no toleran la defoliación muy frecuente o muy severa (5). Pastoreos continuos con baja carga, con especies forrajeras bien adaptadas a las defoliaciones frecuentes o en periodos de gran crecimiento forrajero (ej. primavera) no presentarían desventaja frente a los sistemas rotativos (5).

A pesar que en muchos casos el pastoreo controlado no ofrece ventajas sobre el continuo, la presencia de una reserva

forrajera en pie acumulada en los periodos de descanso, el mejor equilibrio en la composición botánica de la pastura y el menor enmalezamiento constituyen beneficios muy importantes (5, 9).

La figura 1 pretende sintetizar la esencia del pastoreo rotativo, mientras el descanso adecuado favorece a la pastura, los periodos breves de permanencia por parcela favorecen la producción animal, siendo el número de parcelas el factor que permite la adecuada interrelación entre el descanso y la permanencia.

A continuación se expondrán brevemente una serie de conceptos que son importantes a tener en cuenta al momento de implementar un sistema de pastoreo rotativo.

Tiempo de descanso:

El tiempo de descanso es el periodo (días) en el cual cada parcela luego de ser pastoreada permanece sin animales de modo de poder recuperarse de la defoliación. El descanso optimo varia según el tipo de pastura, la intensidad del pastoreo y la estación del año (13, 14).

Cada potrero o parcela de campo natural se podría pastorear hasta los 3 a 5 cm de altura del forraje y dejarlo descansar hasta que la pastura alcance los 12 a 18 cm de

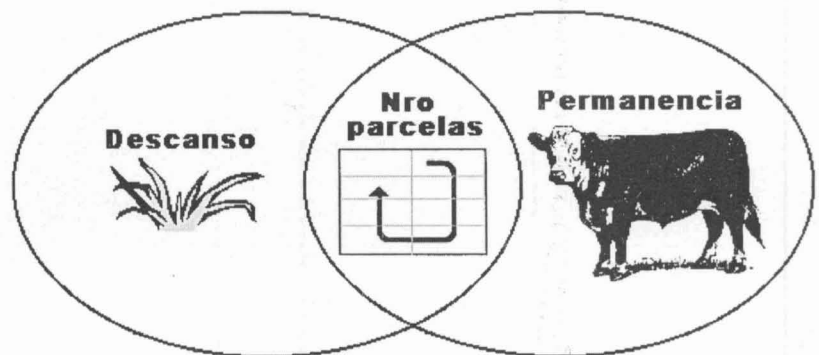


Figura 1.

¹DMV, actividad privada, Manuel Oribe 389, Artigas-Uruguay. CP. 55000. E-mail: srvet@adinet.com.uy.
Recibido: 19-09-05 Aprobado: 19-12-05

altura (12). Por otra parte Carámbula (5) sugiere como recomendación general que las especies prostradas pueden ser pastoreadas hasta los 2.5 cm y las erectas hasta 5 a 7.5 cm dejando descansar la pastura hasta que alcance 25 cm de altura. Los pastoreo muy severos afectan el rebrote, cuando la masa de forraje cae por debajo de 600 a 800 kg MS/ha por acción del pastoreo, disminuye la producción de la pastura debido a una caída brusca en la fotosíntesis, lo cual es consecuencia de la escasa área foliar remanente (5).

Es importante tener en cuenta que las rotaciones muy aceleradas con descansos muy cortos llevan a una menor producción de la pastura por debilitamiento de las plantas, mientras que las rotaciones demasiado largas con mucho descanso llevan a una pérdida de calidad de la pastura por madurez de la planta y mayor grado de senescencia del forraje (26, 5, 7, 23, 28, 12, 14).

Para que se acumule suficiente cantidad de forraje los descansos deben ser relativamente largos en periodos de bajo crecimiento forrajero (Ej. invierno, épocas de sequía, etc.), en cambio en épocas de alto crecimiento vegetal (ej. primavera) deben ser mas cortos para que la pastura acumulada no se encañe y pierda rápidamente calidad (26, 5, 7, 23, 28, 12).

En pasturas mejoradas el descanso oscila generalmente entre 30 a 60 días según el tipo de pastura y la estación del año (21, 15). (Cuadro 1).

A modo de guía para el pastoreo rotativo sobre campo natural en nuestras condiciones, Hill Secco (12) establece descansos de:

- 60 días desde principios de verano hasta mediados de otoño.
- 90 días desde mediados de otoño hasta principio de primavera.

Cuadro 1. Descanso e intensidad del pastoreo para praderas cultivadas (Brougham 1970, según Smetham 1981).

	Otoño	Invierno	Primavera	Verano
Descanso (semanas):	4 - 6	6 - 8	3 - 4	4 - 5
Pastorear hasta una altura del forraje de (cm):	2.5 - 5	2.5 - 5	2.5 - 7.5	7.5 - 10

- 30 a 40 días en primavera.

Hill Secco (12) además señala que es importante comenzar con los descansos largos (90 días) a mediados del otoño ya que permiten la acumulación de cierta cantidad de forraje que es transferido al invierno, época de menor crecimiento de la pastura. En otoño no solo se debería incrementar el tiempo de descanso si no también el tiempo de permanencia por parcela para favorecer el consumo de los restos secos provenientes del verano, logrando así una buena penetración de la luz lo cual favorece el crecimiento de las especies invernales (28).

Por otro lado Zanoniani (28) sugiere los descansos para el campo natural según los diferentes tipos de suelos de las principales zonas ganaderas del país, lo cual puede apreciarse en el cuadro 2.

Tiempo de permanencia

El tiempo de permanencia es el periodo de tiempo (en horas o días) en el cual se pastoreada cada parcela (13, 14).

Cuanto mas corto es el tiempo de permanencia mayor y mas uniforme es la producción animal ya que al inicio del pastoreo los animales despuntan la pastura y consumen aquellas partes de la planta de mayor digestibilidad. A medida que transcurre el pastoreo va restando forraje en menor cantidad y calidad (mas tallos y menos hojas) (14, 9, 26, 11, 24, 6, 4). Además con el paso del tiempo se va reduciendo la disponibilidad de forraje por unidad de superficie y por animal, lo cual afecta el tamaño y peso del bocado, reduciéndose así el consumo voluntario (14, 4, 10).

El tiempo de pastoreo de cada parcela debería ser lo suficientemente corto como para que el rebrote no se encuentre disponible para ser cosechado (26, 20). Cuando la permanencia supera los 10 a

14 días son muchas las posibilidades que una misma planta sea cortada 2 veces o mas por el diente de los animales, lo cual reducirá el siguiente rebrote y por ende la producción de la pastura (20).

Es recomendable que el tiempo de permanencia de los animales en la parcela no supere los 7 días (11, 6, 20) siendo preferible menos de 3 a 4 días (6, 20). Lo ideal seria un tiempo de permanencia de 12 horas a 1 día (26, 6, 20) para lograr una máxima producción animal.

Cuanto más exigente es la categoría animal en cantidad y calidad de forraje, más importante será proporcionar tiempos breves de permanencia. Las vacas lecheras en lactación son la categoría mas exigente en la demanda de nutrientes, para mantener alto y constante el nivel de producción de leche el periodo de permanencia no debería superar los 2 días (6, 20, 26). En categorías menos exigentes como por ejemplo vacas y ovejas secas se puede proporcionar periodos de permanencia algo más largos sin mayores consecuencias en la producción (6, 20).

En el cuadro 3 se presenta una guía de los periodos recomendados de permanencia.

De la ecuación anterior se desprende que el tiempo de descanso de la pastura depende directamente del numero de parcelas y del tiempo de permanencia en las mismas, cuando se reduce el tiempo de permanencia en procura de una mejora en la performance animal necesariamente se debe aumentar el numero de parcelas para que el tiempo de descanso no disminuya (26).

Número de parcelas

El número de parcelas determina la flexibilidad en el control del tiempo e intensidad del pastoreo (20, 26), ya que se relaciona directamente con el tiempo de descanso de la pastura e inversamente con el tiempo de permanencia por parcela lo cual puede apreciarse en la siguiente ecuación:

$$\text{Nro. de parcelas} = (\text{Descanso} / \text{Permanencia}) + 1$$

Voisin y Lecomte (26) señalan que es más importante el número de parcelas involucradas en la rotación que su tama-

Cuadro 2. Descansos apropiados para las pasturas naturales de las principales zonas ganaderas del país (tomado de Zanoniani 1999). Se asume un forraje remanente de aproximadamente 5 cm.

Zonas	Características del tapiz	Descansos (días)		
		otoño-invierno	primavera	verano
Litsoles superficiales de Cristalino y Basalto (<15 cm profundidad)	Gramíneas invernales mínimas y estivales adaptadas a déficit hídrico. Tapices ralos.	----	----	----
Litsoles negros sobre Basalto y Cristalino superficial	Gramíneas prostradas y malezas enanas muy entramadas.	60	40	60
Brunosoles sobre Libertad, F.Bentos y Basalto profundo.	Tapices con buena proporción de invernales y estivales de buen valor forrajero. Ocasionalmente con doble estructura.	60	40	50 - 60
Argisoles y Brunosoles sobre Cretácico, suelo bajo pastoreables.	Tapices predominantemente estivales, con especies de alto porte que forman maciegas. Generalmente con doble estructura.	60	35 - 40	35 - 40

Cuadro 3. Periodos recomendados de permanencia (adaptado de Emmick y Fox 1993).

Categoría	días
Vacas lecheras en lactación	½ a 2
Ovejas en ordeño	1 a 2
Recría (novillitos, vaquillonas, corderos)	3 a 4
Vaca de cría con ternero, ovejas de cría con cordero	3 a 4
Otras categorías adultas secas (no lactando)	4 a 7

Descanso = (Nro. parcelas - 1) * Permanencia.

ño. Gran número de parcelas se justifica más para el pastoreo con vacas lecheras en producción que con ganado de carne (20), ya que en los primeros los periodos de permanencia por parcela son generalmente menores.

Con ganado de carne en invernada un número de 8 a 9 parcelas sería bastante adecuado para el pastoreo rotativo sobre praderas (15). Hill Secco (12) señala que se podría comenzar un sistema de pastoreo rotativo con un mínimo de 6 potreros.

Forma de las parcelas:

Las parcelas de forma cuadrada son más eficientes comparadas con las otras formas (torta, abanico, rectángulos estrechos) porque los animales obtienen el forraje diario en un menor tiempo, con

menor caminata y pisoteo de la pastura. Además el costo en alambrado de las parcelas cuadradas es menor al de las otras formas (17). La parcela ideal no debería tener su largo mayor a 4 a 5 veces el tamaño del ancho (27).

Las parcelas con formas demasiado alargadas o con estrangulaciones llevan a un mayor daño de la pastura por el pisoteo de los animales (26). (Figura 2).

Disposición de las parcelas y acceso al agua:

La disponibilidad y acceso al agua de bebida de buena calidad por parte de los animales es un factor muy importante a considerar y puede limitar en algunos casos el diseño y manejo del pastoreo en los sistemas rotativos (27).

La solución ideal sería colocar bebederos regulados por boyas o sistemas similares en cada parcela pero indudablemente incrementaría los costos del sistema.

Una alternativa adecuada sería crear corredores con alambrado eléctrico desde la parcela hasta el lugar del agua (26), tal como se muestra en la siguiente figura. Las vacas lecheras en producción no deberían caminar más de 150 a 180 metros hasta el punto de agua y no más de 300 a 360 metros las demás categorías (27).

Ajuste de la carga:

Se denomina carga instantánea al número de animales que existe por unidad de superficie en la parcela que esta siendo pastoreada y carga global al número de animales por unidad de superficie que posee todo el potrero que fue subdividi-

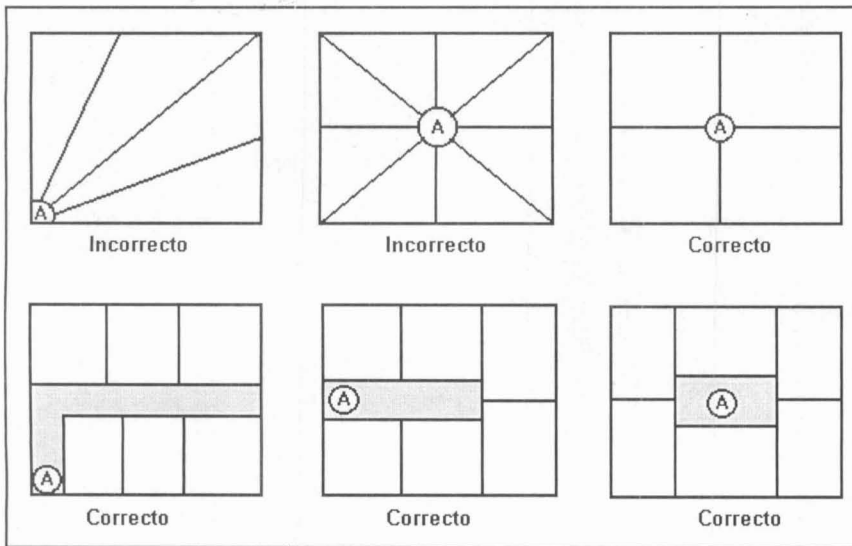


Figura 2. Formas de parcelas correctas e incorrectas (Adaptado de Voisin, 1963).
Nota: la letra A representa la aguada. Las tres últimas figuras muestran la forma correcta de realizar un corredor de acceso al agua.

do en parcelas (13, 14, 25). Por ejemplo, si un potrero de 100 ha es dividido en 20 parcelas de 5 ha cada una, siendo pastoreada cada parcela por 200 animales, la carga instantánea es de 40 animales/ha (200 animales/5 ha) y la carga global de 2 animales/ha (200 animales/100 ha).

En pastoreos rotativos el ajuste de la carga suele hacerse en base a un determinado nivel de oferta forrajera (NOF) que varía según los objetivos de producción que se persigan. En condiciones comer-

ciales, para mantener más o menos constante un determinado NOF se debe cada 20 a 25 días en invierno o cada 7 días en primavera determinar el peso vivo de los animales y la disponibilidad de la pastura (kg MS/ha) para ir ajustando en caso de ser necesario la carga o el tamaño de la parcela (19, Zanoniani 2002 comunicación personal).

En el cuadro 4 se presentan formulas para calcular la carga en base a un determinado NOF preestablecido (adaptado de 16).

Cuadro 4.

Carga inst.	=	$\frac{MSi + (\text{crecimiento} * \text{permanencia})}{PV * \%NOF * \text{permanencia}} * 100$
Carga global	=	$\frac{MSi + (\text{crecimiento} * \text{permanencia})}{PV * \%NOF * \text{Largo Rotación}} * 100$

donde:

- Carga inst.** = carga instantánea en animales /ha.
- Carga global** = carga global en animales /ha.
- MSi** = fitomasa al comenzar el pastoreo, en kg MS/ha.
- crecimiento** = crecimiento del forraje, en kg MS/ha/día.
- PV** = peso vivo promedio de los animales en kg.
- %NOF** = es el nivel de oferta forrajero deseado en % del PV.
- permanencia** = tiempo de permanencia por parcela en días.
- Largo Rotación** = largo de la rotación en días.

El largo de la rotación se define como el período de tiempo que transcurre entre el inicio de dos pastoreos sucesivos de una misma parcela, equivale a la suma del período de permanencia de todas las parcelas (13, 14), se calcula como:

$$\text{Largo Rotación} = \text{Nro. parcelas}$$

* Permanencia

$$\text{Largo Rotación} = \text{Descanso} + \text{Permanencia}$$

Recuérdese que:

$$\text{Permanencia} = \text{Descanso} / (\text{Nro. parcelas} - 1)$$

Como es de esperar, la carga instantánea y la global son dos caras de una misma moneda, y por lo tanto presentan una relación constante entre ellas, conociendo el valor de una se llega fácilmente a la otra.

$$\frac{\text{Carga instantánea}}{\text{Carga global}} = \frac{\text{Largo Rotación}}{\text{Permanencia}} = \text{N}^\circ \text{ Parcelas}$$

Muchas veces en condiciones de campo por practicidad se desprecia el crecimiento del forraje en el cálculo de la carga, para periodos breves de permanencia por parcela no considerar el crecimiento de la pastura no acarrearía demasiadas imprecisiones en la asignación diaria del forraje (16) pero con períodos de permanencia por parcela mayores a 2 días el crecimiento del forraje debe ser incluido en el cálculo (13). (Cuadro 5).

Adecuación del sistema a las fluctuaciones en la producción de forraje:

Para atenuar las fluctuaciones estacionales en la producción de forraje es necesario ir modificando a lo largo del año los períodos de descanso de la pastura (26).

Cuando se pasa de una rotación larga a una más corta (con menos días de descanso de la pastura) se debe reducir el número de parcelas o el tiempo de permanencia en ellas. A su vez cuando se pasa de una rotación corta a una más larga sucede exactamente lo contrario.

A modo de ejemplo, supongamos que se está pastoreando en forma rotativa una pradera de 124 ha de superficie dividida en 31 parcelas de 4 ha cada una

Cuadro 5. Relación entre Nivel de Oferta Forrajera y producción animal.

Categoría	%NOF	Producción	Referencias
Novillos	1.5	<i>mantenimiento de peso</i>	(a)
Novillos	- 4	<i>buenas ganancias de peso</i>	(a)
Vacas de cría:			
ultimo tercio gestación	3	<i>buen performance reproductiva</i>	(b)
lactación (periodo parto-entore)	4 - 5	<i>buen performance reproductiva</i>	(b)
Vacas lecheras	4- 4.5	<i>en producción</i>	(c)
Ovinos	2 - 2.5	<i>mantenimiento de peso</i>	(d)
Ovinos	7 - 8	<i>buenas ganancias de peso</i>	(e)
Corderos en engorde	14- 15	<i>máximo consumo</i>	(f)

Nota: en todos los casos se supone pasturas de buena calidad, con disponibilidades aceptables.

Referencias

a) Vaz Mantinz, 1997; b) Nicol y Nicoll 1987, citados por Rovira 1996; c) Bargo y col. 2003
d) Ganzabal 1997; e) Banchemo y col. 2000; f) Carvalho 2002, según Azzarini y col. 2002.

(124 / 31 = 4 ha) con un tiempo de permanencia de 2 días por parcela, y se pasa de un descanso de 60 días en invierno a uno de 30 días en primavera. Para contemplar esta modificación en el sistema se puede adoptar una de los siguientes alternativas:

a) *modificar el tiempo de permanencia.*

Permanencia = Descanso / (Nro. parcelas - 1)

Permanencia en invierno = 60 / (31 - 1) = 2 días

Permanencia en primavera = 30 / (31 - 1) = 1 día

En este ejemplo al ingresar a la primavera debemos reducir el periodo de permanencia por parcelas a 1 día.

b) *modificar el número de parcelas.*

Nro. parcelas = (Descanso / Permanencia) + 1

Nro. parcelas en invierno = (60 / 2) + 1 = 31 parcelas

Nro. parcelas en primavera = (30 / 2) + 1 = 16 parcelas

Como se puede apreciar en este caso sobran 15 parcelas (31 - 16 = 15) que se pueden desacoplar de la rotación y destinarlas a otro fin (otra categoría de animales, producción de fardos de heno, ensilaje de pasturas, etc.). Cuando se pasa de una rotación corta a una larga, van a faltar parcelas y hay que acoplar aquellas parcelas que fueron destinadas a otra actividad.

Otra variante dentro del punto b) es redimensionar el tamaño de las parcelas, es decir trabajar con 16 parcelas pero con superficie de 7.75 ha. (124 ha/16 = 7.75 ha). En el cuadro 6 se presenta una síntesis del ejemplo.

División del rodeo en grupos: cabeza y cola de rotación:

En ciertas ocasiones se divide al rodeo o a la majada en dos o más grupos, de modo que una misma parcela luego de ser pastoreada por el primer grupo es pastoreada inmediatamente por el segundo y así sucesivamente con los demás grupos (26).

Para la mayoría de las situaciones no se recomienda emplear más de 2 grupos de animales (26), ya que a medida que aumenta el número de grupos, los últimos que entran a la parcela tendrán una pastura de menor cantidad y calidad, lo cual disminuye el consumo y por ende la producción.

El primer grupo (cabeza de rotación) debe ser formado con los animales de mayores requerimientos (vacas lecheras en lactación, novillos en terminación, borregos diente de leche, etc.) ya que al

Cuadro 6.

Concepto	Descanso (días)	Permanencia (días)	Nro. Parcelas	Sup. (ha)	Sup. Total (ha)
Original (pastoreo en invierno)	60	2	31	4	124
a) Modificar tiempo de permanencia	30	1	31	4	124
b) Modificar Nro. de parcelas (1)	30	2	16	4	64
c) Modificar Nro. y superficie parcela	30	2	16	7,5	124

(1) Se desacoplan 15 parcelas (15 * 4 ha = 60 ha); 60 ha desacopladas + 64 ha pastoreadas = 124 ha

ser los primeros en ingresar despuntan la pastura consumiendo así una dieta de mayor calidad. Luego de transcurrido el período de permanencia preestablecido los animales del primer grupo pasan a la siguiente parcela y los del segundo grupo ingresan a la parcela parcialmente pastoreada. Los animales del segundo grupo (cola de rotación) deben ser aquellos de menores requerimientos (vacas secas, recria, ovejas falladas, etc.) porque consumirán una dieta de menor cantidad y calidad (26, 27, 8).

Los lanares y los vacunos pueden pastorear juntos o en grupos separados. Cuando se manejan en grupos separados sería conveniente que los vacunos integrasen el grupo cabeza de rotación y los ovinos el grupo cola, ya que estos últimos realizan un pastoreo mas selectivo que los vacunos.

El número de parcelas, tiempo de descanso y tiempo de permanencia se pueden calcular con la siguiente ecuación (26):

$$\text{Nro. parcelas} = (\text{Descanso/Permanencia}) + \text{Nro. grupos}$$

Debe tenerse en cuenta que a medida que aumenta el número de grupos, para obtener un mismo periodo de descanso de la pastura se debe aumentar el tiempo de permanencia o el número de parcelas (26).

EJEMPLOS DE CALCULOS DE PASTOREO ROTATIVO Y EN FRANJA

Ejemplo 1:

Se desea realizar un pastoreo en franjas con vacas lecheras de 550 kg de peso vivo, en una pradera de 18.82 hectáreas que presenta una fitomasa inicial de 2200 kg MS/ha y un crecimiento de 15 kg MS/ha/día. Se desea un descanso de la pastura de 40 días y una permanencia de los animales en cada parcela de 2 días, a un NOF del 4.5%.

Si el potrero tuviese un ancho de 160 metros, el frente de la franja tendría que ser de 56 metros, es decir cada 2 días se debe proporcionar a los animales una nueva franja de 160 * 56 metros lo que equivale a 0.896 ha.

(0.896 ha * 10000 m²) / 160 m = 56 metros.
Nota: 1 hectarea equivale a 10000 metros cuadrados.

$$\begin{aligned} \text{Nro. parcelas} &= (\text{descanso} / \text{permanencia}) + 1 \\ \text{Tamaño parcela} &= \text{tamaño potrero} / \text{Nro. parcelas} \\ \text{Animales por parcela} &= \text{tamaño parcela} * \text{carga inst.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nro. parcelas} &= (40 / 2) + 1 = 21 \text{ franjas} \\ \text{Tamaño parcela} &= 18.82 / 21 = 0.896 \text{ hectáreas} \end{aligned}$$

$$\text{Carga inst.} = \frac{2200 + (15 * 2)}{550 * 4.5 * 2} * 100 = 45.05 \text{ animales/ha}$$

$$\text{Animales por parcela} = 0.896 * 45.05 = 40.36 \text{ animales}$$

Ejemplo 2:

Se desea realizar un pastoreo en franjas con 250 corderos de 33 kg de peso vivo, en una pradera que posee una fitomasa inicial de 1400 kg MS/ha y un cre-

cimiento forrajero de 12 kg MS/ha/día. Se desea un descanso de la pastura de 60 días y una permanencia de los animales en cada parcela de 4 días, a un NOF del 8%. Determinar la superficie total de pradera necesaria para realizar el pastoreo.

$$\begin{aligned} \text{Tamaño parcela} &= \text{Nro. animales} / \text{carga inst.} \\ \text{Nro. parcelas} &= (\text{descanso} / \text{permanencia}) + 1 \\ \text{Superficie total necesaria} &= \text{Tamaño parcela} * \text{Nro. parcelas} \end{aligned}$$

$$\text{Carga inst.} = \frac{1400 + (12 * 4)}{33 * 8 * 4} * 100 = 137.12 \text{ animales/ha}$$

$$\begin{aligned} \text{Tamaño parcela} &= 250 / 137.12 = 1.82 \text{ hectáreas} \\ \text{Nro. parcelas} &= (60 / 4) + 1 = 16 \text{ franjas} \\ \text{Superficie total necesaria} &= 1.82 * 16 = 29.17 \text{ hectáreas} \end{aligned}$$

Ejemplo 3:

Existen situaciones en el cual las parcelas son de superficie desigual, esto ocurre frecuentemente cuando los potreros (parcelas) están divididos con alambrados permanentes, al ser las parcelas de diferente tamaño los días de permanencia en cada una de ellas será diferente.

A modo de ejemplo, se realizara un pastoreo rotativo empleando 6 potreros (parcelas), sumando entre todos ellos una superficie de 108 hectáreas, con descanso de 60 días. La superficie de cada potrero se lista en el siguiente esquema:

Potrero:	A	B	C	D	E	F	6 potreros
Sup. (ha):	16	20	15	25	13	19	108 hectáreas

Se desea saber cuantos días deben permanecer los animales en cada potrero.

$$\text{Permanencia media por parcela} = \text{descanso} / (\text{Nro. parcelas} - 1)$$

$$\text{Tamaño medio de parcela} = \text{tamaño total del campo} / \text{Nro. parcelas}$$

$$\text{Permanencia por Ha} = \text{Permanencia media por parcela} / \text{Tamaño medio de parcela}$$

$$\text{Permanencia parcela A} = \text{superficie parcela A} * \text{Permanencia por Ha.}$$

$$\text{Permanencia media por parcela} = 60 / (6 - 1) = 12 \text{ días}$$

$$\text{Tamaño medio de parcela} = 108 / 6 = 18 \text{ ha}$$

$$\text{Permanencia por hectárea} = 12 / 18 = 0.6667 \text{ días /ha}$$

permanencia potrero A	=	16	*	0.6667	=	10.67 días
permanencia potrero B	=	20	*	0.6667	=	13.33 días
permanencia potrero C	=	15	*	0.6667	=	10.00 días
permanencia potrero D	=	25	*	0.6667	=	16.67 días
permanencia potrero E	=	13	*	0.6667	=	8.67 días
permanencia potrero F	=	19	*	0.6667	=	12.67 días

Con los datos de "permanencia media por parcela" (12 días) y "tamaño medio de parcela" (18 ha) se calcula la carga media de los potreros. La disponibili-

dad inicial es de 1200 kg MS/ha con un crecimiento de la pastura de 8 kg MS/ha/día, el peso de los novillos es de 410 kg y el NOF deseado es de 3.5%.

$$\text{animales por potrero} = \text{tamaño medio de parcela} * \text{carga inst.}$$

$$\text{carga inst.} = \frac{1200 + (8 * 12)}{410 * 3.5 * 12} * 100 = 7.53 \text{ animales/ha}$$

$$\text{animales por potrero} = 18 * 7.53 = 135.54 \text{ animales}$$

Ejemplo 4:

Probablemente en la práctica lo mas frecuente sea que las parcelas presenten tamaños diferentes y realicen diferentes ofertas forrajeras por unidad de superficie, lo cual dificulta el cálculo de la permanencia por parcela. Para resolver este inconveniente nos basamos en

la estrecha relación que existe entre el largo de la rotación y el tiempo de permanencia por parcela, dicha relación establece, que si por ejemplo una parcela dada ocupa el 30% de la superficie total del potrero, entonces el tiempo de permanencia en ella será el 30% del largo de

la rotación. Cuando las ofertas forrajeras por unidad de superficie varían en las diferentes parcelas el cálculo de la permanencia se realizan de manera similar, si una parcela aporta el 25% de la oferta forrajera total del potrero el tiempo de permanencia en ella será el 25% del largo de rotación.

$$\text{Permanencia media por parcela} = \text{descanso} / (\text{Nro. parcelas} - 1)$$

$$\text{Largo rotación} = \text{Descanso} + \text{Permanencia media por parcela}$$

$$\text{Oferta parcela A} = \text{superficie parcela A} * (\text{MSi parcela A} + \text{Crecim. parcela A} * \text{Permanencia media por parcela})$$

$$\text{Oferta total} = \text{Oferta parcela A} + \text{Oferta parcela B} + \text{Oferta parcela C} + \dots$$

$$\text{Permanencia parcela A} = \text{Largo rotación} * (\text{Oferta parcela A} / \text{Oferta total})$$

Se realizará un pastoreo rotativo empleando 6 parcelas, sumando entre todas ellas una superficie de 108 hectáreas, con descanso de 60 días. La superficie y la producción forrajera de cada parcela se lista en el cuadro 7.

¿Cuántos días deben permanecer los animales en cada parcela? (Cuadro 8).

Cuadro 7.

Parcela	Superficie (ha)	MSi (kg MS/ha)	Crecimiento (kg MS /ha /día)
A	6	1200	6
B	20	1300	8
C	15	1100	6
D	25	1000	6
E	13	1600	8
F	19	1000	6
6 parcelas	108 ha		

Cuadro 8.

<i>Permanencia media por parcela = 60 / (6 - 1) = 12 días</i>			
<i>Largo rotación = 60 + 12 = 72 días</i>			
<i>oferta parcela A =</i>	<i>16</i>	<i>*</i>	<i>(1200 + 6 * 12) = 20352 kg MS</i>
<i>oferta parcela B =</i>	<i>20</i>	<i>*</i>	<i>(1300 + 8 * 12) = 27920 kg MS</i>
<i>oferta parcela C =</i>	<i>15</i>	<i>*</i>	<i>(1100 + 6 * 12) = 17580 kg MS</i>
<i>oferta parcela D =</i>	<i>25</i>	<i>*</i>	<i>(1000 + 6 * 12) = 26800 kg MS</i>
<i>oferta parcela E =</i>	<i>13</i>	<i>*</i>	<i>(1600 + 8 * 12) = 22048 kg MS</i>
<i>oferta parcela F =</i>	<i>19</i>	<i>*</i>	<i>(1000 + 6 * 12) = 20368 kg MS</i>
<i>Oferta total = 20352 + 27920 + 17580 + 26800 + 22048 + 20368 = 135068</i>			
<i>permanencia parcela A =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(20352 / 135068) = 10.85 días</i>
<i>permanencia parcela B =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(27920 / 135068) = 14.88 días</i>
<i>permanencia parcela C =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(17580 / 135068) = 9.37 días</i>
<i>permanencia parcela D =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(26800 / 135068) = 14.29 días</i>
<i>permanencia parcela E =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(22048 / 135068) = 11.75 días</i>
<i>permanencia parcela F =</i>	<i>72</i>	<i>*</i>	<i>(20368 / 135068) = 10.86 días</i>

¿Cuál será la carga de las parcelas, si se desea realizar el pastoreo con novillos de 410 kg a un NOF del 6.5%? (Cuadro 9).

La carga de las parcelas en base a un determinado NOF se podría calcular empleando como datos la *Disponibilidad media por hectárea (MSi media)* y la *Permanencia media por parcela*.

CONCEPTOS A RECORDAR

- los descansos muy cortos de la pastura llevan a una menor producción forrajera.
- en épocas de bajo crecimiento forrajero (invierno, períodos de sequía, etc) los descansos deben ser mas largos que en épocas de rápido crecimiento (primavera, etc).
- son necesarias altas disponibilidades de forraje para obtener altos índices de producción animal, el forraje acumulado depende directamente del descanso y de la velocidad de crecimiento de la pastura.
- es recomendable que el tiempo de permanencia por parcela no supere los 7 días.
- cuanto mas breve sea el tiempo de permanencia por parcela mayor y mas uniforme será la producción animal.
- cuanto mas exigente sea la categoría animal en la demanda de nutrientes (ej. vaca lechera en producción, novillo en terminación, etc) mas importante es proporcionar tiempos de permanencia breves.
- es mas importante el número de parcelas involucradas en la rotación que el tamaño de ellas. Cuanto mayor sea el número de parcelas mayor es la flexibilidad en el manejo.
- las parcelas deberían ser lo mas cuadradas posible, lo ideal es que no posean su largo mayor a 4 - 5 veces el tamaño del ancho.
- la carga de las parcelas generalmente se ajusta en base a un determinado NOF.
- en general a mayor NOF mayor consumo y en consecuencia mayor producción por animal.

Cuadro 9.

*Aporte MSi parcela A = MSi parcela A * (superficie parcela A / Tamaño total del potrero)*

MSi media = aporte MSi parcela A + aporte MSi parcela B + aporte MSi parcela C + ...

*Aporte Crecim. parcela A = Crecim. parcela A * (superficie parcela A / Tamaño total del potrero)*

Crecimiento medio = aporte Crecim. parcela A + aporte Crecim. parcela B + ...

*aporte MSi parcela A = 1200 * (16 / 108) = 177.8 kg MS*

*aporte MSi parcela B = 1300 * (20 / 108) = 240.7 kg MS*

*aporte MSi parcela C = 1100 * (15 / 108) = 152.8 kg MS*

*aporte MSi parcela D = 1000 * (25 / 108) = 231.5 kg MS*

*aporte MSi parcela E = 1600 * (13 / 108) = 192.6 kg MS*

*aporte MSi parcela F = 1000 * (19 / 108) = 175.9 kg MS*

MSi media = 177.8 + 240.7 + 152.8 + 231.5 + 192.6 + 175.9 = 1171.3 kg MS/ha

*aporte Crecim. parcela A = 6 * (16 / 108) = 0.89 kg MS*

*aporte Crecim. parcela B = 8 * (20 / 108) = 1.48 kg MS*

*aporte Crecim. parcela C = 6 * (15 / 108) = 0.83 kg MS*

*aporte Crecim. parcela D = 6 * (25 / 108) = 1.39 kg MS*

*aporte Crecim. parcela E = 8 * (13 / 108) = 0.96 kg MS*

*aporte Crecim. parcela F = 6 * (19 / 108) = 1.06 kg MS*

Crecimiento medio = 0.89 + 1.48 + 0.83 + 1.39 + 0.96 + 1.06 = 6.61 kg MS/ha/día

Permanencia media por parcela = 60 / (6 - 1) = 12 días

Tamaño medio de parcela = Tamaño total del potrero / Nro. parcelas

Tamaño medio de parcela = 108 / 6 = 18 ha

$$\text{carga inst.} = \frac{(1171.3 + 6.61 * 12)}{410 * 6.5 * 12} * 100 = 3.91 \text{ animales /ha}$$

*animales por parcela = tamaño medio de parcela * carga inst.*

*animales por parcela = 18 * 3.91 = 70.39 animales*

Nota: Para calcular la MSi media y el crecimiento medio de la pastura hay que ponderar la MSi y el crecimiento forrajero de cada parcela por la proporción que representa la superficie de cada parcela con respecto a la superficie total del campo.



Referencias Bibliográficas

1. **Azzarini, M.; Piaggio, L.; Gaggero, C. y Cardellino, R.** (2002): "Efectos de la carga y suplementación con grano de sorgo en la producción de corderos pesados tipo SUL, de raza ideal, sobre pasturas sembradas". *Producción Ovino* 15:13-22.
2. **Banchero, G.; Montossi, F.; San Julián, R.; Ganzabal, A. y Ríos, M.** (2000): «Tecnologías de producción de carne ovina de calidad en sistemas ovinos intensivos del Uruguay», INIA, Serie Técnica 118, pp 36.
3. **Bargo, F.; Muller, L.; Kolver, E. y Delahoy** (2003): "Invited review: Production and Digestion of supplemented dairy cows on pasture" *J. Dairy Sci.* 86:1-42.
4. **Cangiano, C.** (1997): "Consumo a pastoreo. Factores que afectan la facilidad de cosecha". *En: C. A. Cangiano (ed.) "Producción animal en pastoreo"*, INTA Balcarce, pp 41-63.
5. **Carámbula, M.** (1996): *Pasturas naturales mejoradas*, Ed. Hemisferio Sur, pp. 524.
6. **Emmick, D.; y Fox, D.** (1993): "Duration of grazing". *En: "Prescribed grazing management to improve pasture productivity in New York"*. United States Department of Agriculture Soil Conservation Service and Cornell University Department of Animal Science. Internet: <http://www.caf.edu/~forage/pastutebulletin/index.htm>
7. **Escuder, C.** (1997a): "Crecimiento de las pasturas cultivadas. Algunos factores que lo afectan". *En: C. A. Cangiano (ed.) Producción animal en pastoreo*, INTA Balcarce, pp.15-26.
8. **Escuder, C.** (1997b): "Manejo de la defoliación. Efecto de la carga y método de pastoreo". *En: C. A. Cangiano (ed.) Producción animal en pastoreo*, INTA Balcarce, pp 65-83.
9. **Evans, T. R.** (1982): "Overcoming nutritional limitation through pasture management". *En: J. B. Hacker (Ed.)*, Nutritional limits to animal production from pasture. Farnham Royal, UK, Commonwealth Agricultural Bureaux, pp 343-361.
10. **Forbes, T.** (1988): "Researching the plant-animal interface: the investigation of ingestive behavior in grazing animals". *J. Anim. Sci.* 66:2369-2379.
11. **Ganzabal, A.** (1997): "Alimentación de ovinos con pasturas sembradas", INIA, Serie Técnica 84, pp. 43.
12. **Hill Secco, M.** (1985): "Aproximación a un modelo de pastoreo intensivo", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 67.
13. **Hodgson, J.** (1979): "Nomenclature and definitions in grazing studies", *Grass and Forage Science* 34:11-18.
14. **Hodgson, J.** (1990): "Grazing management. Science into Practice", Longman Handbooks in Agriculture, p. 201.
15. **Minola, J.** (1993): "Invernada intensiva", Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, pp 40.
16. **Morley, F. H. W.** (1968): "Pasture growth curves and grazing management". *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 8:40-45.
17. **Muller, J. y Green, J.** (1995): "Controlled grazing". North Carolina State University. Internet: <http://www.caf.wvu/~forage/controlgrazenc/fctrl.htm>
18. **Norton, B.** (1998): "The application of grazing management to increase sustainable livestock production". *Anim. Prod. Aust.* 22:15-26.
19. **Pereira, M.** (2000): "Aspectos prácticos a tener en cuenta en la utilización de verdeos". *Revista del Plan Agropecuario* 91:37-40.
20. **Rayburn, E.** (1992): "Number and size of paddocks in a grazing system". West Virginia University, Extension Service. Internet: <http://www.caf.wvu/~forage/5718.htm>
21. **Risso, D.; Berretta, E. y Bemhaja, M.** (1997): "Avances tecnológicos para la región basáltica: I. Pasturas". *En: Tecnologías de producción ganadera para Basalto, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 145*, pp 1 1-6.
22. **Rovira, J.** (1996): "Manejo nutritivo de los rodeos de cria en pastoreo", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 287.
23. **Smetham, M.** (1981): "Manejo del pastoreo". *En: R.H.M. Langer (ed.) «Las pasturas y sus plantas»*, Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 209-270.
24. **Vaz Martins, D.** (1997): "Suplementación energética en condiciones de pastura limitante". *En: Suplementación estratégica para el engorde de ganado, INIA, Serie Técnica 83*, pp 17-22.
25. **Voisin, A.** (1963): "Productividad de la hierba", Ed. Tecnos, Madrid, pp 499.
26. **Voisin, A. y Lecomte, A.** (1968): "La vaca y la hierba", Ed. Tecnos, Madrid, pp 127.
27. **White, H. y Wolf, D.** (1996): "Control grazing of Virginia's pasture". Virginia Cooperative Extension. Internet: <http://www.caf.wvu.edu/~forage/vpi/418-012/418-012.htm>.
28. **Zanoniani, R.** (1999): "Algunas alternativas para mejorar la productividad de nuestras pasturas naturales", *CANGUE N° 15*, mayo 1999, pp. 13 - 17.

Cálculo y manejo en pastoreo controlado . III) Pastoreo por horas. Determinación de la disponibilidad y crecimiento de la pastura

Reinosso Ortiz, V.; Soto Silva, C.¹

PASTOREO POR HORAS

El pastoreo por horas es un pastoreo restringido en el cual los animales tienen acceso a la pastura por periodos de tiempo limitado, actuando la pastura como un suplemento energético y/o proteico dependiendo de las características de la misma (27).

El pastoreo por horas sobre pasturas mejoradas puede ser empleado con éxito en sistemas lecheros, de engorde, cría y recría (25).

Pigurina y García (26) empleando una vaca fistulada midieron el consumo de diferentes pasturas mediante vaciado completo del rumen, con lo cual obtuvieron consumos de 1.48, 0.92-1.14 y 0.89 kg MS/hora para el pastoreo de pradera, avena y gramilla respectivamente.

El acceso a la pastura (verdeos, praderas, campo natural diferido, etc.) generalmente es de 1 a 4 horas por día (26). Para los distintos tipos de pasturas por lo general el consumo promedio en bovinos es de 1 a 1.2 kg MS/hora independiente del peso y de la categoría animal (ternero, vaca, novillo) (27).

Pigurina y Santamarina (27) señalan que la clave del pastoreo por horas radica en ingresar los animales siempre a la misma hora para que desarrollen una rutina diaria lo cual facilita el manejo, por lo general el acceso a la pradera o verdeo se realiza al mediodía luego que levanta la helada para no dañar la pastura.

Es de destacar, que el pastoreo por horas en la tarde presentaría ventajas sobre el realizado en la mañana. En este sentido Mattiauda y col. (2003a, según 19) empleando vacas lecheras en producción obtuvieron por la tarde una mayor tasa de ingestión (1.95 vs. 1.54 kg MS/h) y una tendencia a producir más leche con respecto al pastoreo por horas en la mañana. Estos resultados estarían explica-

dos por el aumento en el tenor de materia seca, en los carbohidratos solubles y en la relación carbohidratos solubles - nitrógeno que experimentan las pasturas a medida que transcurre el día (14, 19).

El pastoreo por horas presenta un gran potencial productivo. Vaz Martins y col. (29) en una serie de ensayos con novillos a corral alimentados *ad libitum* con ensilaje de maíz (en silo de autoconsumo) y suplementados con 2 y 4 horas de pastoreo sobre pradera obtuvieron similares ganancias diarias que el testigo que solo fue alimentado a pradera. A pesar de ello, la producción de carne por hectárea con los tratamientos con pastoreo por hora fue muy superior a la del testigo debido a la mayor carga (animales/ha) que soportaron estos tratamientos. El consumo de silo varió de 3.5 a 8 kg MS/animal/día, siendo mayor en los tratamientos con menos horas diarias de pastoreo. El nivel de oferta forrajera (NOF) para los tratamientos y el testigo fue de 4%, con un sistema de pastoreo rotativo con cambio de parcela cada 3-4 días.

En rodeos generales para lograr el entore de vaquillonas a los 2 años de edad y peso de faena a los 2-2.5 años de edad es necesario que la recría durante el periodo invernal realice ganancias de peso de 0.2 kg/día (5, 25). Pigurina (1994, citado por 28) empleando terneros de destete que pastoreaban campo natural durante el periodo invernal obtuvo con el pastoreo adicional de 1-2 horas/día de avena ganancias de 0.2 kg/animal/día frente a pérdidas de 0.03 kg/animal/día del testigo solo pastoreando campo natural.

Terneros de destete o sobreño pastoreando campo natural en invierno logran ganancias de peso de 0.2 kg/día si se los suplementa con el pastoreo de 1 hora/día a un NOF 1.5 o 3% de avena, ornithopus o pradera (Scaglia y col. 1996 según 25; 24, 5, 28, 25).

Pigurina y col. (25) señalan que el pastoreo alterno entre días no fue exitoso, no se lograron buenas respuestas con 3 horas de pastoreo cada 3 días o 7 horas cada 7 días con terneras pastoreando triticale en el periodo invernal, lográndose en cambio ganancias de 0.18 kg/día con el pastoreo de 1 hora diaria de triticale (Pigurina y Brito 1997, según 25).

Mantener las vacas de cría con una condición corporal adecuada es una condición necesaria para lograr una buena performance reproductiva (23). En este sentido Brito y Pigurina (7) trabajando con vacas preñadas con condición corporal 4 que pastoreaban campo natural con baja disponibilidad forrajera durante el invierno lograron mantener y aumentar la condición corporal cuando las suplementaron con 2 horas/día de raigras o 3 horas/día de *ornithopus* respectivamente.

Banchero y col. (2) realizaron un ensayo sobre un cultivo puro de alfalfa empleando corderos de 6 meses de edad con un peso vivo inicial de aproximadamente 24 kg, con el fin de poder alcanzar el peso y grado de terminación requerido para el mercado de corderos pesados. Manteniendo los animales confinados en corrales y permitiéndoles pastorear solo 12 horas diarias el cultivo de alfalfa a un NOF del 9% los autores pudieron terminar al 100% de los corderos en 4 meses de ensayo. Lograron también los mismos resultados suplementando con cebada al 1.5% del PV y pastoreo de 6 y 12 horas/día a un NOF de 9 y 3.5% respectivamente. Recientemente, Norbis y Piaggio (22) confirmaron el gran potencial que presenta el pastoreo por hora en el engorde de corderos.

Acosta (1) en sistemas lecheros empleando ensilaje de sudangras en condiciones de autoalimentación durante todo el día obtuvo producciones de leche similares suplementando con 4 horas/día de

¹DMV, actividad privada, Manuel Oribe 389, Artigas-Uruguay. CP. 55000. E-mail: srvet@adinet.com.uy.

Recibido: 19-09-05 Aprobado: 19-12-05

pastoreo en avena o 2 horas/día de pastoreo de avena mas 4.6 kg de concentrado/vaca/ día (ración balanceada o afrechillo de trigo).

Actualmente, la Facultades de Veterinaria y Agronomía y el Secretariado Uruguayo de la Lana llevan adelante en forma independiente líneas de investigación que vienen arrojando resultados promi-

sorios con el empleo de pastoreo por hora en la producción animal (vacas lechera, de carne y ovinos) y en el aprovechamiento de los nutrientes de los forrajes (8, 15, 22).

a) Determinación del área necesaria para una determinada cantidad de animales

$$\text{área/día (ha)} = \frac{\text{CMS/hora} * \text{Nro_horas} * \text{Nro_animales}}{(\text{MSi} + \text{crecimiento} * \text{días}) * \% \text{Utilización}} * 100$$

$$\text{área_total (ha)} = \text{área/día} * \text{días}$$

donde:

- área/día (ha)** = área de pastura en hectáreas que necesitan los animales por día (1 hectárea = 10000m²)
- CMS/hora** = consumo de MS/animal/hora.
- Nro_horas** = cantidad de horas que se pastoreara por día.
- Nro_animales** = numero de animales que harán el pastoreo por horas.
- MSi** = fitomasa al comenzar el pastoreo, en kg MS/ha.
- crecimiento** = crecimiento del forraje, en kg MS/ha/día.
- días** = número de días que dura el pastoreo.
- % Utilización** = porcentaje de utilización de la pastura.
- área_total (ha)** = área total en hectáreas que se necesita para todo el periodo en que se realizara el pastoreo por horas.

Ejemplo:

- Se desea realizar un pastoreo de 2 horas/día sobre una pradera convencional con 95 vacas. El consumo estimado por animal es de 1.2 kg MS/hora de pastura. La disponibilidad inicial del forraje es de 2200 kg MS/ha con un ritmo de crecimiento de 18 kg MS/día, con una utilización de la pastura estimada en 60%. ¿Si se desea realizar el pastoreo por hora durante 110 días, cuantas hectáreas de pradera necesito para todo el periodo ?.

$$\text{área/día (ha)} = \frac{1.2 * 2 * 95}{(2200 + 18 * 110) * 60} * 100 = 0.091 \text{ ha/día}$$

$$\text{área_total (ha)} = 0.091 * 110 = 10 \text{ hectáreas}$$

b) Determinación del número de animales que pueden pastorear en un área determinada

$$\text{anim/ha/periodo} = \frac{(\text{MSi} + \text{crecimiento} * \text{días}) * (\% \text{Utilización} / 100)}{\text{CMS/hora} * \text{Nro_horas} * \text{días}}$$

$$\text{Nro_animales} = \text{área_total (ha)} * \text{anim/ha/periodo}$$

donde:

- CMS/hora** = consumo de MS/animal/hora.
Nro_horas = cantidad de horas que se pastoreara por día.
MSi = fitomasa al comenzar el pastoreo, en kg MS/ha.
crecimiento = crecimiento del forraje, en kg MS/ha/día.
días = número de días que dura el pastoreo.
% Utilización = porcentaje de utilización de la pastura.
Nro_animales = número de animales que soporta la superficie total de pastoreo con la que contamos.
área_total (ha) = área total en hectáreas que se dispone para realizara el pastoreo por horas.
anim/ha/periodo = número de animales por hectárea que pueden pastorear durante todo el periodo considerado.

Ejemplo:

- Se dispone de 10 hectáreas de pradera convencional para ser pastoreadas a razón de 2 horas/día durante 110 días. El consumo estimado por animal es de 1.2 Kg MS/hora de pastura. La disponibilidad inicial del forraje es de 2200 kg MS/ha con un ritmo de crecimiento de 18 kg MS/día, con una utilización de la pastura estimada en 60%. ¿Cuántos animales pueden pastorear esa superficie de pradera por el periodo de tiempo estipulado?

$$\text{anim/ha/periodo} = \frac{(2200 + 18 * 110) * (60 / 100)}{1.2 * 2 * 110} = 9.5 \text{ animales/ha}$$

$$\text{Nro_animales} = 10 * 9.5 = 95 \text{ animales}$$

DETERMINACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD Y CRECIMIENTO DE LA PASTURA

A continuación se describen conceptos y determinaciones que han sido manejadas anteriormente en estos trabajos y son fundamentales para la implementación del cálculo y manejo de los diferentes sistemas de pastoreo.

Determinación de materia de seca de la pastura:

El porcentaje de materia seca (%MS) normalmente se determina secando el forraje en una estufa o equipo equivalente hasta que éste pierde totalmente

su humedad. Como en condiciones de campo esto muchas veces no es factible de realizar, suele asumirse que las pasturas cultivadas poseen 20% de MS como termino medio, en la mayoría de los casos las pasturas poseen entre 15 a 55 % de MS. Una alternativa práctica para estimar el contenido de MS de la pastura es utilizar el horno de microondas común de cocina cuyo procedimiento se detalla a continuación.

Procedimiento (adaptado de 12):

- pesar una bolsa de papel (P1)
- colocar en la bolsa aproximadamente 100 g de pastura y pesar (P2)

- colocar la bolsa en el microondas junto con un vaso con 50 a 100ml de agua (ATENCIÓN: si no se coloca el vaso con agua se puede incinerar la muestra y el horno).
- secar por 10 minutos a máxima potencia.
- sacar la bolsa del microondas, esperar 2-3 minutos que se enfríe y pesar (P3).
- volver a colocar la bolsa en el microondas, repetir el secado durante un minuto, esperar 2-3 minutos y pesar (P3). Este paso se repite hasta que no existan diferencias de peso entre dos pesadas sucesivas, o sea, hasta que dos P3 sean iguales.

- el porcentaje de materia seca se calcula como:

$$\%MS = \frac{(P3 - P1)}{(P2 - P1)} * 100$$

donde:

- %MS** = porcentaje de materia seca.
- P1** = peso de la bolsa vacía.
- P2** = peso de la bolsa con la muestra fresca.
- P3** = peso de la bolsa con la muestra seca.

Ejemplo:

- peso de la bolsa 10 g.
- peso de la bolsa con la muestra fresca 90 g.
- peso de la bolsa con la muestra seca 24 g.

$$\%MS = \frac{(24 - 10)}{(90 - 10)} * 100 = 17.5\%$$

Estimación de la disponibilidad de la pastura:

La fitomasa es definida por Hodgson (16) como la cantidad total de forraje que existe por unidad de superficie, medida por corte a nivel del suelo o a un nivel de referencia que debe ser explicitado. Normalmente se expresa en kg MS/ha.

La fitomasa aérea puede ser estimada por diferentes métodos, directos o destructivos en los cuales se realiza corte y pesada del forraje o métodos indirectos o no destructivos en los cuales se estima en base a otros parámetros de la pastura (altura, densidad, capacitancia electrónica, etc.) (20, 9, 17).

El método de corte y pesada del forraje consiste en realizar una serie de cortes en la pastura en lugares representativos de la parcela donde pastorean los animales (17). Los lugares de cortes deben ser elegidos al azar y no deben poseer malezas leñosas como caraguatá (cardilla), mio-mio, etc. En casos que dichas malezas se detecten en la muestra deben ser eliminadas (4). Si el área ocupada por malezas es importante debe ser estimada y restada a la superficie total del potrero para no sobreestimar el área real de pastoreo (Zanoniani, 2002, comunicación personal).

Si la pastura presenta barro o mucha suciedad, se debe lavar la muestra para eliminar el exceso de contaminantes. Cuanto mayor sea el número de muestras recogidas mayor precisión (4).

Procedimiento (adaptado de 4):

- construir con varilla de hierro un rectángulo de 20 * 50 cm, lo cual equivale a un área de 0.1 m².
- elegir el lugar de corte y colocar el rectángulo sobre la pastura.
- cortar el forraje contenido dentro del rectángulo, con tijera de esquila al ras del suelo (rastrojo menor a 1.5 cm). Generalmente el corte es a 1 cm del suelo para evitar recoger restos secos y/o residuos de la base de la pastura.
- pesar en kg el forraje cortado (**PPF**).
- determinar el %MS de la pastura.
- expresar el peso de la pastura en kg MS (**PPS**), $PPS = PPF * (\%MS / 100)$
- sabiendo que 1 ha es igual a 10000 m², la fitomasa se calcula por regla de tres:

$$\frac{0.1 \text{ m}^2}{10000 \text{ m}^2} \text{ ----- } \frac{PPS}{x = \text{fitomasa en kg MS/ha}}$$

$$x = \frac{10000 * PPS}{0.1}$$

- después de realizar el mismo cálculo para todas las muestras cortadas, se realiza un promedio para obtener la fitomasa promedio de la parcela.

A modo de ejemplo si el forraje cortado dentro de un rectángulo (**PPF**) pesa 0.095 kg, y estimamos que posee un 20 de %MS, la fitomasa se calcula como:

$$PPS = 0.095 * (20 / 100) = 0.019 \text{ kg MS}$$

$$\text{fitomasa} = (10000 * 0.019) / 0.1 = 1900 \text{ kg MS/ha.}$$

Como generalmente los potreros tienen sectores bien diferenciados entre sí, estos deben ser divididos en zonas con características de tapiz similares, cortándose 10 rectángulos por cada 10 hectáreas de zona (4). Las muestras son tomadas al azar o en forma sistemática, en

este último caso se comienza desde un punto determinado muestreando a intervalos regulares a lo largo de una o varias direcciones.

Cuando la pastura es heterogénea con mucha variabilidad en la altura del forraje, por ejemplo como sucede con el rechazo luego de un pastoreo rotativo, es mejor que el rectángulo sea largo y angosto, en vez de corto y ancho, para obtener así una mayor representatividad en las muestras cortadas. Si se cuenta con tijera de esquila eléctrica se coloca una guía para facilitar la operación, y se corta paralela a esta una banda de 5 metros de longitud por el ancho del peine de la tijera. Se considera apropiado el corte de una banda cada 10 hectáreas de una misma zona (4).

Dentro de los métodos indirectos de estimar la fitomasa uno de los más empleados es en base a la altura del forraje. Dado que existe una estrecha relación entre la altura y la disponibilidad de la pastura, se han desarrollado una serie de ecuaciones que integran estas dos variables (20, 9, 17). Dichas ecuaciones se calculan realizando una regresión lineal entre la fitomasa estimada por el método anterior de corte del forraje y el promedio de 2 mediciones de la altura de la pastura en dos puntos diferentes dentro de cada rectángulo de corte (4). Estas ecuaciones no pueden ser extrapoladas a zonas, condiciones o pasturas diferentes a las cuales fueron calculadas. A modo de ejemplo Montossi y col. (21) presentaron para la zona de Basalto una serie de ecuaciones para estimar la fitomasa del campo natural, campo natural fertilizado y campo natural mejorado.

Estimación del crecimiento del forraje:

El crecimiento de una pastura es el incremento en tamaño y peso de hojas y tallos nuevos (16) lo cual determina el acumulo de forraje por unidad de tiempo. Normalmente se expresa en kg MS/ha/día.

El crecimiento de las pasturas en Uruguay no es uniforme a lo largo del año, presenta una marcada estacionalidad que varía con el tipo de suelo, el ciclo de las especies vegetales y las condiciones cli-

máticas (10). Muchas veces es algo difícil determinar en condiciones de campo el crecimiento diario de las pasturas por lo cual se recurre a tablas, como por ejemplo las publicadas por Berretta y Bemhaja (6), Crempien (13), Leborgne (18), Cardozo y Ferreira (11).

Una forma relativamente sencilla de medir el crecimiento forrajero en condiciones de campo es mediante el empleo de jaulas móviles que consiste en excluir áreas del potrero para protegerlas del pastoreo, luego de un periodo de tiempo preestablecido se mide el cambio en la fitomasa dentro de la jaula. La metodología que se describe a continuación es la sugerida por Berretta y col. (4).

Las jaulas deben ser distribuidas por el potrero en lugares representativos de las áreas donde pastorean los animales y no deben poseer malezas leñosas (mio mio, caraguatá, carqueja, etc.) para no falsear los resultados. Se considera adecuado una jaula cada 10 hectáreas (4). Cada jaula se construye con 8 piques comunes en forma piramidal (ver figura). En el vértice de la pirámide se unen los cuatro piques con alambre blando. La base se construye con los otros cuatro piques, formando un cuadrado de 1.10 metros de lado aproximadamente, la base se une a los vértices de la pirámide por medio de alambres. Para evitar que los animales introduzcan la cabeza (principalmente los ovinos) la jaula debe ser rodeada por alambres de púas, no dejando mas de 10 cm entre las líneas de alambre en la parte inferior, pudiéndose separar algo mas en la superior. Los alambres son fijados a los piques con clavos de una pulgada o grampas para mantenerlo tenso (4). (Figura 1).

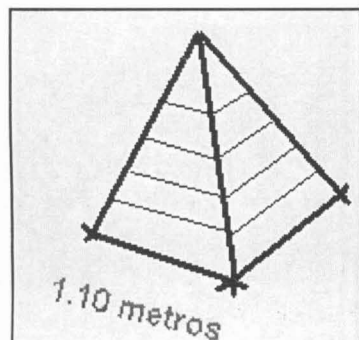


Figura 1. Jaula para determinar el crecimiento del forraje.

Procedimiento (4):

- en el lugar donde se va a colocar la jaula se corta previamente la pastura al ras del suelo (rastrojito menor a 1.5 cm).
- luego de un determinado periodo de tiempo se calcula la fitomasa en el interior de la jaula por el método de corte de la pastura (ver estimación de la fitomasa), se cortan dos rectángulos por jaula y se promedian.
- la disponibilidad de MS/ha obtenida se divide por el número de días que estuvo colocada la jaula, obteniéndose así el crecimiento de la pastura en kg MS/ha/día.
- cuando se colocan varias jaulas se realiza un promedio de todos los valores obtenidos.

Generalmente el crecimiento se mide por estación, para calcular el crecimiento en (4):

- otoño: se coloca la jaula en la primera semana de marzo y se realiza el corte en la primera semana de junio.
- invierno: se coloca la jaula en la primera semana de junio y se realiza el corte en la primera semana de setiembre.
- primavera: se coloca la jaula en la primera semana de setiembre y se realiza el corte en la primera semana de diciembre.
- verano: se coloca la jaula en la primera semana de diciembre y se realiza el corte en la primera semana de marzo.

Cuando se realiza pastoreo rotativo o en franja, con cambios de potreros en periodos poco variables, la frecuencia de corte debe ajustarse a dichos periodos.

Se debe tener presente que el crecimiento del forraje varía con la frecuencia de corte, los cortes mensuales arrojan una mayor tasa de crecimiento diario en comparación con cortes estacionales (trimestrales) ya que a medida que transcurre el tiempo las hojas van envejeciendo y perdiendo capacidad fotosintética (3).

Los cortes trimestrales presentan una menor variabilidad en la tasa de crecimiento diario del forraje en comparación con los cortes más frecuentes, ya que se reduce en gran medida la posibilidad de que alguna variación climática puntual

(Ej. déficit hídrico) afecte la medición al no poder ser compensado el crecimiento durante el periodo de corte (3).

Por su parte, Zanoniani (2002, comunicación personal) sugiere que la medición del crecimiento no debería realizarse en periodos muy prolongados ni sobre un área previamente cortada al ras ya que la eficiencia del rebrote es totalmente diferente al de la pastura por lo cual no se estaría evaluando el crecimiento real. Dicho autor sugiere la siguiente metodología:

- a) previo a la colocación de la jaula cortar 2 rectángulos al ras (1 cm) en forma diagonal y determinar la disponibilidad inicial (figura 2).
- b) a los 10 -15 días (ni menos de 10 días ni más de 30 - 45 días) cortar al ras 2 rectángulos en forma diagonal en la zona de la jaula que se dejó sin cortar.
- c) calcular el crecimiento por diferencia entre los resultados de los dos pasos previos (b - a).
- d) la disponibilidad de MS/ha obtenida en el paso c se divide por el número de días que estuvo colocada la jaula, obteniéndose así el crecimiento de la pastura en kg MS/ha/día.

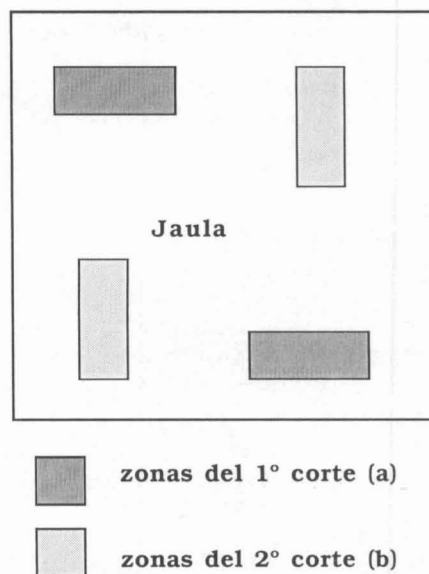


Figura 2.

Referencias Bibliográficas

1. **Acosta, Y.** (1997): "Utilización de ensilajes, concentrados y pasturas para producción de leche". *En: Pasturas y producción animal en áreas de ganadería intensiva*, INIA, Serie Técnica 15, pp. 157-166.
2. **Banchero, G.; Montossi, F.; San Julián, R.; Ganzabal, A. y Ríos, M.** (2000): "Tecnologías de producción de carne ovina de calidad en sistemas ovinos intensivos del Uruguay", INIA, Serie Técnica 118, pp 36.
3. **Berretta, E.** (1998): "Producción de comunidades nativas sobre suelos de basalto de la unidad Itapebi-Tres Arboles con diferentes frecuencias de corte". *En: Seminario sobre actualización de tecnologías para el basalto*, INIA, Serie Técnica 102, pp. 21-31.
4. **Berretta, E.; Guerra, J. y De Mattos, D.** (1993): Registros físicos en la producción pecuaria, INIA, Serie Técnica 39, pp. 28.
5. **Berretta, E.; Pittaluga, O.; Brito, G.; Pigurina, G. y Risso, D.** (1995): "Re-cría de reemplazos en basalto", *En: Recría y engorde en campo natural y mejoramientos en suelo sobre basalto*, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 71, pp. 6-13.
6. **Berretta, E. y Bemhaja, M.** (1998): "Producción estacional de comunidades naturales sobre suelos de basalto de la unidad Queguay Chico". *En: Seminario sobre actualización de tecnologías para el basalto*, INIA, Serie Técnica 102, pp. 11-20.
7. **Brito, G. y Pigurina, G.** (1996): "Manejo nutricional de la vaca de cría". *En: Sistema ganadero La Magnolia*, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 105, pp. 26-35.
8. **Cajarville, C. y Repetto, J.** (2005): "Uso de concentrados para optimizar el aprovechamiento digestivo de las pasturas". XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, pp 121-128.
9. **Cangiano, C.** (1997b): "Métodos de medición de la fitomasa aérea". *En: C. A. Cangiano (ed.) "Producción animal en pastoreo"*, INTA Balcarce, pp 117-128.
10. **Carámbula, M.** (1996): Pasturas naturales mejoradas, Ed. Hemisferio Sur, pp. 524.
11. **Cardozo, O. y Ferreira, G.** (1994): Engorde de novillos: un modelo bio-económico, INIA, Serie Técnica 49, pp. 26.
12. **Cozzolino, D.** (1994): "Determinación de materia seca con horno de microondas", INIA, Hoja de Divulgación No. 38, pp. 4.
13. **Crempien, C.** (1983): Antecedentes técnicos y metodología básica para utilizar en presupuestación en establecimientos ganaderos, Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp 72.
14. **Chilibroste, P.** (2002): "Integración de patrones de consumo y oferta de nutrientes para vacas lecheras en pastoreo durante el período otoño - invernal". *En: "Alimentación y tipo de vaca en sistemas de base pastoril"*, 2ª Jornada Abierta de Lechería, 1 de octubre de 2002, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
15. **Chilibroste, P.; Soca, P.; Mattiauda, D. y Bentancur, O.** (2005): "¿Genera el ayuno, señales que modifiquen el comportamiento ingestivo y la performance productiva en vacunos?" XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, pp 111-120.
16. **Hodgson, J.** (1979): "Nomenclature and definitions in grazing studies", *Grass and Forage Science* 34:11-18.
17. **Hodgson, J.** (1990): "Grazing management. Science into Practice", *Longman Handbooks in Agriculture*, p. 201.
18. **Leborgne, R.** (1983): "Antecedentes y metodología para presupuestación en establecimientos lecheros", Ed. Hemisferio Sur, Montevideo, pp. 54.
19. **Mattiauda, D.** (2003): "La pastura como insumo en la formulación de dietas". XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, pp 90-95.
20. **Meijs, J.; Walters, R. y Keen, A.** (1982): "Sward methods". *En: J. D. Leaver (Ed): Herbage Intake Handbook*, British Grassland Society, pp 11-36.
21. **Montossi, F.; Berretta, E.; Pigurina, G.; Santamarina, I.; Bemhaja, M.; San Julián, R.; Risso, D. y Mieres, J.** (1998): "Estudios de selectividad de ovinos y vacunos en diferentes comunidades vegetales de la región de basalto". *En: Seminario sobre actualización de tecnologías para el basalto*, INIA, Serie Técnica 102, pp 257-285.
22. **Norbis, H; Piaggio, L.** (2004): "Estrategias de alimentación y manejo en la recría e invernada de corderos". *En: Seminario de Producción Ovina: Propuesta para el negocio ovino*, Secretariado Uruguayo de la Lana, Paysandú 29 y 30 de Julio del 2004, pp 26-35.
23. **Orcasberro, R.** (1996): "Manejo para mejorar la eficiencia reproductiva de los rodeos de cría". *Anuario Hereford* 1996, pp. 103-121.
24. **Pigurina, G.** (1995): "Uso del pastoreo por horas para la suplementación invernal de terneras de destete". *En: Producción y utilización de forraje*, INIA, Serie Actividades de Difusión No. 65, pp. 13-16.
25. **Pigurina, G.; Brito, G.; Pittaluga, O.; Scaglia, G. y Berretta, E.** (1997): "Suplementación de la recría en vacunos". *En: Suplementación estratégica de la cría y recría ovina y vacuna*, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 129, pp. IV 1-6.
26. **Pigurina, G. y Garcia, A.** (1996): "Medición del consumo por hora en condiciones de pastoreo utilizando una vaca con fístula ruminal". *En: Primer Congreso Uruguayo de Producción Animal*, 2-4 octubre 1996, Montevideo, Uruguay, pp. 92-94.
27. **Pigurina, G. y Santamarina, I.** (2000): "El pastoreo por horas", *El País Agropecuario* 68:25-28.
28. **Pigurina, G.; y Brito, G.** (1996): "Recría: terneras y vaquillonas". *En: Sistema ganadero La Magnolia*, INIA, Serie de Actividades de Difusión No. 105, pp. 36-38.
29. **Vaz Martins, D.; Cibils, R.; Aunchain, M. y de Lamare, M.** (1998): "Engorde de novillos en base a silo de maíz suplementado con pasturas o expeller de girasol". *En: Utilización de ensilaje de maíz para el engorde de novillos*, INIA, Serie Técnica 98, pp 1-12.

Desarrollo de técnicas moleculares para el diagnóstico de patógenos apícolas bacterianos y virales

Antunez, K., D'Alessandro, B., Piccini, C., Zunino, P*.

RESUMEN

La actividad apícola ha venido adquiriendo cada vez mayor relevancia dentro del sector agroexportador. Sin embargo, la presencia de patógenos bacterianos como *Paenibacillus larvae larvae* y virales, como el virus de la parálisis crónica (CBPV) y el virus de la parálisis aguda (ABPV), representan un desafío para profesionales y apicultores. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar métodos moleculares para detectar diferentes patógenos apícolas. El ADN bacteriano fue extraído de larvas, abejas y miel, mientras que el ARN viral fue extraído de abejas. Para la detección de *P. l. larvae* se amplificó mediante PCR un fragmento del gen que codifica para el ARNr 16S y un fragmento que codifica para una metaloproteasa. Para la detección de los virus, se amplificó mediante RT-PCR un fragmento del gen que codifica para la ARN polimerasa viral del CBPV y un fragmento del gen que codifica para proteínas de la cápside en el caso del ABPV. *P. l. larvae* fue detectado en larvas, abejas y miel mientras que CBPV y ABPV fueron detectados en abejas. El diagnóstico exitoso de estos patógenos mediante técnicas moleculares puede contribuir en el desarrollo de estrategias de control de las enfermedades relacionadas con la apicultura en Uruguay.

Palabras clave: *Paenibacillus larvae larvae*, virus de abejas, PCR, RT-PCR.

SUMMARY

Apiculture has strongly developed in Uruguay during the recent years. However, the presence of pathogen bacteria such as *Paenibacillus larvae larvae* and viruses, like Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV) and Acute Bee Paralysis Virus (ABPV) represents a challenging problem to professionals and bee-keepers. Therefore, the goal of the present work was to perform molecular methods to detect different pathogens that affect honeybees. Bacterial DNA was extracted from different samples including larvae, adult bees and honey, and viral RNA was extracted from adult bees. For the detection of *P. l. larvae*, a partial region of the 16S rRNA gene and a partial region of the gene that codifies for a metallo-protease were amplified by PCR. Amplification of a region of the CBPV gene that codifies for the viral RNA polymerase and amplification of a partial region of the gene that codifies for an ABPV capsid protein were done by RT-PCR. *P. l. larvae* was detected in larvae, bees and honey while CBPV and ABPV were detected in bees. Successful diagnosis of these bee pathogens from natural samples confirmed that these molecular techniques are fast and sensitive diagnosis tools that can contribute to the control of apiculture-related diseases in Uruguay.

Key words: *Paenibacillus larvae larvae*, honeybee virus, PCR, RT-PCR.

INTRODUCCIÓN

Dadas sus condiciones de vida y cuidado comunal, los insectos sociales son un blanco conspicuo para patógenos de diferentes clases tales como bacterias, virus, hongos y protozoarios, hecho que se pone claramente de manifiesto en el caso de las abejas melíferas (22).

La enfermedad bacteriana más severa que afecta a las larvas de abejas melíferas es la Loque Americana, causada por la bacteria Gram positiva formadora de esporas *Paenibacillus larvae* subespecie *larvae* y que da lugar a un progresivo desdoblamiento de las colonias afectadas culminando usualmente con la muerte de la colonia (19).

Esta enfermedad está distribuida mundialmente, habiéndose detectado casos en los cinco continentes (1). En el Uruguay se encuentra ampliamente distribuida, en particular en el litoral y sur del país (7). Las larvas de las obreras, reinas y zánganos se infectan al ingerir alimento contaminado con esporas. A los pocos días ocurre la infección sistémica, la larva muere y se degrada por la acción de enzimas proteolíticas bacterianas. Aquellas larvas menores de 24 hs son las más susceptibles a la infección y necesitan un bajo número de esporas para infectarse mientras que larvas mayores se tornan progresivamente más resistentes (14). Se ha propuesto que la resistencia se debe a

la presencia de compuestos inhibidores del crecimiento bacteriano en el intestino de la larva de más de 24 hs. (15). Aunque las abejas adultas no sufren la enfermedad, las esporas pueden permanecer en el tracto digestivo por más de dos meses, favoreciendo su diseminación.

Por otra parte, también se han descrito y caracterizado más de dieciocho virus que afectan a las abejas, entre ellos el virus de la Parálisis Crónica (CBPV) y el virus de la Parálisis Aguda (ABPV) (10). El CBPV fue uno de los primeros virus aislados de las abejas (8). Éste es uno de los pocos virus que causan infecciones sintomáticas, observándose abejas temblorosas, que no vuelan y se arrastran en la

Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay. Avenida Italia 3318, Montevideo, CP11600, Uruguay. E-mail: *pablo@iibce.edu.uy
Este trabajo fue presentado al 12° Simposio Internacional de la Asociación Mundial de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario, realizado en noviembre del 2006.

Recibido: 13-03-06 Aprobado: 25-04-06

entrada de la colmena. Se puede multiplicar hasta altos niveles de partículas virales en las abejas y causa pérdidas significativas a los apicultores. Las condiciones de deficiencia nutricional y el mal tiempo asociados a verano e inviernos severos favorecen los brotes de este virus (4). Por el contrario, el ABPV es un agente infeccioso común en las abejas, que causa infecciones asintomáticas (4,9). Se ha postulado que este virus fue el factor desencadenante en las mortandades de abejas ocurridas en colmenas afectadas con el ácaro *Varroa destructor* en Estados Unidos y en diversos países de Europa (17,12, 23). La presencia de ambos virus ha sido reportada en diversos países alrededor del mundo (4) y recientemente en nuestro laboratorio se confirmó su presencia en Latinoamérica (6). Dado que los síntomas producidos por el CBPV pueden ser asociados a otras enfermedades de las abejas o a intoxicaciones con pesticidas, y que los dos virus pueden persistir en las poblaciones como infecciones inaparentes o latentes, para confirmar su presencia se requiere un diagnóstico de laboratorio (26,11).

En los últimos años la apicultura ha experimentado un notable desarrollo en Uruguay. Sin embargo, la presencia de patógenos bacterianos como *P. l. larvae* (causante de la Loque Americana) o virus, en particular de la Parálisis Crónica (CBPV) y de la Parálisis Aguda (ABPV), potencialmente asociados a episodios de despoblamiento de colmenas en el país, representan graves problemas sanitarios. Las técnicas de diagnóstico molecular pueden ahorrar mucho tiempo y dinero cuando se aplican en gran escala, siendo una herramienta valiosa para evaluar la presencia de estos patógenos.

El objetivo del presente trabajo fue poner a punto técnicas moleculares para el diagnóstico de los mencionados patógenos apícolas. En el caso de *P. l. larvae* se desarrollaron dos técnicas en base a PCR, amplificando un fragmento de 700 pb correspondiente al gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal (ARNr 16S) y otro de 280 pb correspondiente al gen que codifica una metaloproteasa dependiente de zinc. Para detectar la presencia de CBPV y

ABPV en muestras de abejas se desarrolló un método de diagnóstico basado en RT-PCR ya que ambos son virus RNA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de larvas, abejas y miel para la detección de *P. l. larvae*

Para estos ensayos se emplearon dos muestras de larvas de *Apis mellifera* con síntomas de Loque Americana provenientes de apiarios ubicados en Colonia, dos muestras de abejas adultas de apiarios ubicados en Paysandú y nueve muestras de miel de apiarios localizados en diferentes regiones geográficas de nuestro país (cuadro 1).

Cultivo de *P. l. larvae*

Para el cultivo bacteriano, los restos larvales se suspendieron en 1 ml de agua destilada estéril y se sometieron a shock térmico a 80° C durante 20 min. Este método activa las esporas de *P. l. larvae* y elimina otras bacterias no formadoras de esporas (3). Luego de una agitación vigorosa la suspensión se centrifugó a 650 x g durante 5 min en para eliminar los restos larvales. El sobrenadante se sembró en placas de agar J: triptona 0,5 %

(Difco), extracto de levadura 1,5 % (Difco), K₂H₂PO₄ 0, 2 %, glucosa 0,3 %, agar 1,5 % (Difco) (20). El medio se suplementó con 9 µg/ml de ácido nalidixico (Sigma) (J/Nal), para inhibir el crecimiento de otros microorganismos pertenecientes a la flora normal de las colmenas (2) como *Paenibacillus alvei* que puede invadir las placas impidiendo el desarrollo de *P. l. larvae*.

En el caso del cultivo a partir de abejas adultas, se tomaron grupos de 20 abejas obreras muertas y se colocaron en una bolsa estéril para procesamiento en *Stomacher*. Se agregaron 10 ml de agua destilada estéril y se homogeneizó en un *Stomacher* 80 Lab Blender (Seward) a velocidad máxima durante 2 min. La muestra se centrifugó a 500 x g durante 5 min para eliminar restos de abejas y el sobrenadante se centrifugó a 6000 x g por 40 min para obtener las esporas. El *pellet* se resuspendió en 1 ml de agua destilada estéril, se calentó a 80° C durante 20 min y se sembraron 200 µl por placa de agar J/Nal.

Para el cultivo de *P. l. larvae* a partir de miel, se tomaron 20 ml de miel y se agregaron 20 ml de agua destilada estéril. La mezcla se homogeneizó vigorosamente y

Cuadro 1. Fuente y localización geográfica de las cepas de *P.l.larvas*.

Nombre	Fuente	Departamento
86	miel	Canelones
30	miel	Tacuarembó
44	miel	Durazno
20	miel	Flores
81	miel	Florida
99	miel	Lavalleja
14	miel	Maldonado
46	miel	Treinta y Tres
75	miel	Río Negro
A4	abejas	Paysandú
A5	abejas	Paysandú
OL1	larvas	Colonia
OL4	larvas	Colonia

se centrifugó a 6000 x g durante 45 min para obtener las esporas. El *pellet* se resuspendió en 1 ml de agua destilada estéril, se calentó durante 20 min a 80 °C y se sembraron 200 μ l por duplicado en agar J/Nal.

En todos los casos las placas se incubaron a 37 °C en microaerofilia (5-10% de CO₂) durante 2 a 3 días hasta observar crecimiento bacteriano.

Una colonia de cada muestra obtenida en agar J fue seleccionada para la identificación inicial, mediante análisis macroscópico y microscópico de la colonia y pruebas bioquímicas estándar (3).

Extracción de ADN bacteriano

El ADN molde para las reacciones de PCR se extrajo a partir de los cultivos bacterianos obtenidos así como de los restos larvales directamente, como se detalla a continuación.

Para la detección de *P. l. larvae* a partir de cultivos puros del microorganismo, el ADN se obtuvo mediante la técnica descrita por Govan *et al.* (18). Esta técnica consiste en suspender una colonia en 200 μ l de agua destilada estéril, calentar la suspensión obtenida a 95 °C durante 15 min y centrifugar a 5000 x g durante 5 min para eliminar restos celulares. El sobrenadante obtenido se utilizó como molde para PCR.

Para la detección directa de *P. l. larvae* a partir de restos larvales, se utilizó la técnica descrita por Piccini *et al.*, (24). Los restos se colocaron en forma individual en tubos de microcentrifuga y se sometieron a tratamiento de microondas durante 7 minutos a potencia máxima. Luego, cada larva se suspendió en 300 μ l de agua destilada estéril, se agitó vigorosamente en *vortex* durante 3 minutos y se centrifugó a 825 x g durante 5 minutos para eliminar restos larvales. Con el fin de atenuar el posible efecto de inhibidores de la reacción, el sobrenadante obtenido luego de la última centrifugación se diluyó en forma seriada en agua estéril y 1 μ l de cada dilución se empleó como molde para las reacciones de PCR.

PCR para detección de *P. l. larvae*

Con el fin de detectar la presencia de *P. l. larvae* por medio de PCR se diseñaron dos estrategias de amplificación génica.

Se emplearon los *primers* P15 y P14, diseñados por Piccini *et al.* (24) para amplificar específicamente un fragmento de 700 pb correspondiente al gen que codifica el ARNr 16S de *P. l. larvae*. La secuencia de los *primers* se dedujo a partir de secuencias disponibles en las bases de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI), las que fueron analizadas para confirmar que no presentaban homología con ninguna otra especie bacteriana (número de acceso: AY030079). Los *primers* utilizados fueron: P15: 5'-CGAGCGGACCTTGTTGTTTC-3' (posiciones 8 a 26), y P14: 5'-TCAGTTATAGGCCAGAAAGC-3' (posiciones 992 a 973) (24). Las reacciones se realizaron en un volumen final de 25 μ l conteniendo: 1X buffer de la enzima, 0.2 mM dNTPs, 3 mM MgCl₂, 0.4 μ M de cada *primer*, 1 U de Taq ADN polimerasa y agua destilada estéril y por último 1 μ l del ADN molde. Todos los productos para PCR fueron obtenidos de Gibco BRL. El programa empleado consistió en: 1 min a 95 °C, 30 ciclos de: 1 min a 93 °C, 30 seg a 60 °C, 1 min a 72 °C y un ciclo final de extensión a 72 °C durante 5 min.

En segundo término, se puso a punto una reacción de amplificación de una región del gen de la metaloproteasa dependiente de Zn, un factor potencial de virulencia de *P. l. larvae*. Para ello se emplearon los *primers* Prot.1 5'-GCAGCAAT-

CGTATTTCAG-3' y Prot.2 5'-GGT-CCTTTGTAACGATTG-3' diseñados en base a la secuencia publicada de la proteasa de *P. l. larvae* (n° acceso AF111421), para amplificar un producto de 280 pb. Los reactivos así como el programa de ciclado fue similar al descrito previamente para la amplificación de gen de ARNr 16S.

Las reacciones se realizaron en un termociclador Biometra T1 y el tamaño de los productos obtenidos se determinó en geles de agarosa 0.8% (Gibco) teñidos con bromuro de etidio 0.5 mg/ml.

En ambos casos se realizaron controles negativos de la reacciones, sin incluir ADN en las mismas. Para corroborar la especificidad del método se utilizó también ADN de microorganismos relacionados tanto desde el punto de vista filogenético como ecológico (cuadro 2).

Muestras de abejas para detección de virus

En estos análisis se emplearon muestras de abejas *Apis mellifera* de apiarios localizados en los departamentos de Soriano, Canelones, San José, Maldonado, Lavalleja y Rivera, que se muestran en cuadro 3 de la sección Resultados.

Extracción de ARN viral

Se seleccionaron al azar 10 abejas de cada muestra y se homogeneizaron en 10 ml

Cuadro 2. Cepas utilizadas como control.

Cepas Bacterianas	Fuente
<i>Paenibacillus alvei</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)
<i>Paenibacillus macerans</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)
<i>P. l. pulvifaciens</i> (NRRL B-14152)	Dra. A. Alippi (UNLP)
<i>Bacillus brevis</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)
<i>Bacillus cereus</i> (BZ904)	B-Z Laboratorio (Uruguay)
<i>Bacillus licheniformis</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)
<i>Bacillus megaterium</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6133)	ATCC (USA)
<i>Corynebacterium propinquum</i>	Colmena (Colonia, Uruguay)

Cuadro 3. Análisis de la presencia de CBPV y ABPV mediante RT-PCR

Nombre	Departamento	CBPV	ABPV
V5	San José	+	-
V6	San José	-	-
V7	Colonia	+	-
AL	Colonia	+	+
3L	Colonia	-	+
V9	Colonia	-	+
V10	Colonia	+	-
V12	Colonia	-	+
V13	Colonia	+	+
V14	Colonia	+	+
V15	Colonia	+	+
V16	Colonia	+	+
V17	Colonia	-	+
V18	Maldonado	+	+
V19	Maldonado	+	+
V20	Maldonado	+	+
V21	Maldonado	+	-
V22	Rivera	+	-
V23	Lavalleja	-	-
V24	Lavalleja	+	-
V25	Lavalleja	+	+
V26	Lavalleja	+	-
V27	Lavalleja	+	+
V28	Colonia	+	-
V29	San José	+	+
V30	Rivera	+	+
V31	Colonia	+	-
V32	Canelones	-	-
V33	Canelones	-	+
V40	Mercedes	-	-
V46	Maldonado	-	-
V50	Colonia	-	-
V52	Maldonado	+	-
V57	Maldonado	-	-
V58	Colonia	-	-
V59	Canelones	-	+

de agua destilada estéril. Se realizaron dos centrifugaciones sucesivas y el sobrenadante fue utilizado para la extracción de ARN viral, empleando el kit específico para estos fines QIAamp Viral RNA Minikit (QIAGEN), de acuerdo a las condiciones del fabricante. Estos productos se emplearon para RT-PCR.

RT-PCR para diagnóstico de CBPV y ABPV

Tanto el virus CBPV como APVB son virus ARN por lo cual es necesario generar inicialmente el ADN complementario a partir del ARN viral para poder llevar a cabo posteriormente la amplificación de los genes seleccionados. Para detectar el CBPV se utilizaron los *primers* CBPV1 (5'-AGTTGTCATGGTTAA-CAGGATACGAG-3') y CBPV2 (5'-TCTAATCTTAGCACGAAAGC-CGAG-3'), desarrollados por Ribiere *et al.* (25) y que amplifican una región del gen de la RNA polimerasa viral. Para la detección del ABPV se emplearon los *primers* ABPV1 (5'-TTATGTGTCCA-GAGACTGTATCCA-3') y ABPV2 (5'-GCTCCTATTGCTCGGTTTTT-CGGT-3'), diseñados por Benjeddou *et al.* (13) y que amplifican una región del gen de la proteína de la cápside. La RT-PCR fue realizada con el kit One Step PCR Kit (QIAGEN), de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador Biometra T1 y el tamaño de los productos obtenidos se determinó en geles de agarosa 0.8% (Gibco) teñidos con bromuro de etidio 0.5 mg/ml. En ambos casos se realizaron controles negativos de la reacciones, sin incluir ARN en las mismas.

Secuenciación de los productos de PCR y RT-PCR

Los productos de PCR y RT-PCR se purificaron a partir de las bandas escindidas de los geles de agarosa utilizando el kit comercial *Concert Rapid Gel Extraction System* (Life Technologies), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La secuenciación del ADN se llevó a cabo en el Centro Técnico de Análisis Genéticos de la Facultad de Ciencias, Universidad de la República, utilizando un secuenciador automático Applied Biosys-

tems (model 377). La búsqueda de similitud de secuencias se realizó por medio del programa BLAST del NCBI.

RESULTADOS

Cultivos puros de *P. l. larvae*

En todas las muestras de larvas, abejas y miel analizadas en agar J se obtuvieron colonias típicas de *P. l. larvae*, resultando ser bacilos Gram positivos, catalasa, Voges-Proskauer, crecimiento en caldo nutritivo e hidrólisis de almidón negativas y fueron capaces de licuar la gelatina, concordando con las características descriptas para la bacteria (3). La lista de cepas obtenidas se muestra en el cuadro 1.

Detección de *P. l. larvae* por cultivo y amplificación del gen del ARNr 16S

La técnica de PCR para detectar la presencia de *P. l. larvae* basada en la amplificación del gen del ARNr 16S resultó exitosa, ya que se logró amplificar el fragmento esperado a partir de cultivos puros del microorganismo obtenidos de larvas, abejas y miel de diferentes zonas geográficas de nuestro país (figura 1), mientras que no se obtuvieron productos de amplificación en los controles negativos.

La especificidad de la técnica se comprobó utilizando ADN extraído de cultivos puros de microorganismos relacionados, tanto ecológica como filogenéticamente

(cuadro 2), no obteniéndose productos de amplificación (datos no mostrados). Por otro lado, se logró la detección de ADN del patógeno directamente de restos larvales, utilizando una técnica de

extracción por microondas sin paso previo de aislamiento. Si bien en este caso existió inhibición de la reacción debida a algunos componentes presentes en la larva, esta inhibición se evitó al diluir el ADN extraído (figura 2).

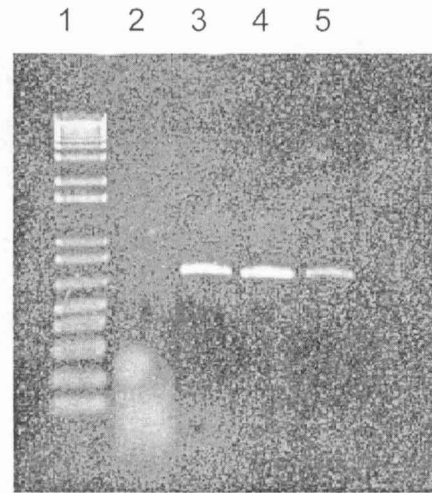


Figura 2. Identificación por PCR de *P.l.larvae* a partir de restos de larvas muertas por Loque Americana, utilizando *primers* que amplifican una región del ARNr 16S. La flecha indica el fragmento de ADN amplificado de 700 pb.

Carriles: 1) marcador 1 Kb plus (BioRad), 2) ADN restos de larvas (OL1) sin diluir, 3) dilución 10-1 del ADN, 4) dilución 10-2 del ADN, 5) dilución 10-3 del ADN.

Detección de *P. l. larvae* por amplificación del gen de una metaloproteasa

Los *primers* que amplifican una región del gen de la proteasa también permitieron detectar específicamente a *P. l. larvae*, ya que lograron amplificar ADN de cultivos puros de este

microorganismo obtenidos de larvas y miel de diferentes zonas geográficas de nuestro país (figura 3). La técnica también resultó específica ya que no se obtuvieron productos de amplificación al utilizar ADN de otros microorganismos relacionados ni en los controles negativos (datos no mostrados).

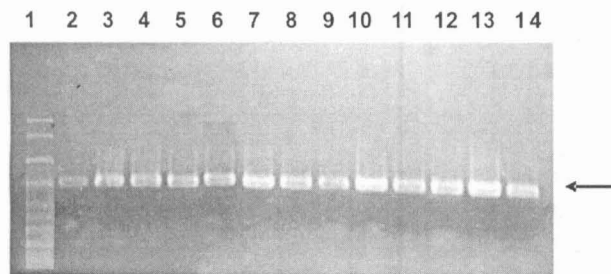


Figura 1. Identificación por PCR de *P.l.larvae* a partir de cultivos puros obtenidos de miel, abejas y larvas de diferentes regiones geográficas del país, utilizando *primers* que amplifican una región del ARNr 16S. La flecha indica el fragmento de ADN amplificado de 700 pb.

Carriles: 1) marcador 1 Kb (Fermentas), 2) al 14) aislamientos de diferentes orígenes mostrados en el cuadro 1: 2) 86, 3) 30, 4) 44, 5) 20, 6) 81, 7) 99, 8) 14, 9) 46, 10) 75, 11) A4, 12) A5 13) OLI, 14) OL4.

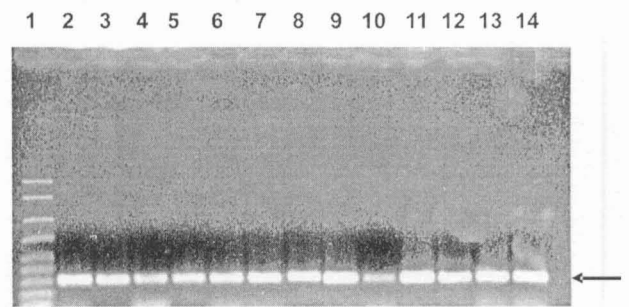


Figura 3. Identificación por PCR de *P.l.larvae* a partir de cultivos puros obtenidos de miel, y larvas de diferentes regiones geográficas del país, utilizando *primers* que amplifican una región de una proteasa. La flecha indica el fragmento de ADN amplificado de 280 pb.

Carriles: 1) marcador 1 Kb (Fermentas), 2) al 14) aislamientos de diferentes orígenes mostrados en el cuadro 1: 2) 86, 3) 30, 4) 44, 5) 20, 6) 81, 7) 99, 8) 14, 9) 46, 10) 75, 11) A4, 12) A5 13) OLI, 14) OL4.

Los productos obtenidos del gen de ARNr 16S y de la metaloproteasa fueron secuenciados y comparados con la base de datos del NCBI, obteniéndose en ambos casos un alto porcentaje de similitud (99%) con las secuencias publicadas, confirmando la identificación.

Detección de CPBV y APBV por RT-PCR

En la segunda parte de este trabajo, se amplificó una banda de 450 pb correspondiente al virus CBPV y una banda de 900 pb correspondiente al virus ABPV, a partir de muestras de abejas de diferentes regiones geográficas de nuestro país (figura 4). No se obtuvieron productos de amplificación en los controles negativos.

Los productos obtenidos fueron secuenciados y comparados con la base de datos del NCBI. En el caso del CBPV se obtuvo un 87 % de similitud con otras secuencias nucleotídicas publicadas de este virus y un 84 % en el caso de ABPV. Las secuencias obtenidas fueron depositadas en la base de datos del NCBI, bajo los n° de acceso AY763287 para CBPV y AY763414 para ABPV (6).

Diez muestras resultaron infectadas con CBPV, seis con ABPV, doce muestras resultaron co-infectadas por ambos virus y sólo ocho muestras resultaron negativas para ambos. Los resultados se muestran en la figura 4 y el cuadro 3.

DISCUSIÓN

Los métodos moleculares basados en la amplificación de genes específicos mediante PCR o RT-PCR se han convertido

en estos últimos años en métodos de diagnóstico de elección para distintos patógenos de naturaleza diversa. Estas técnicas permiten la detección de microorganismos en forma rápida, segura y económica (21). La adaptación de estas técnicas con el fin de detectar patógenos de interés en apicultura puede constituir una valiosa alternativa para contribuir a la sanidad en un rubro agropecuario de creciente expansión en nuestro país.

En este trabajo se logró la detección de *P. l. larvae* a partir de cultivos puros de microorganismos obtenidos de diferentes muestras apícolas (larvas, abejas y miel) y directamente de larvas infectadas mediante PCR. Además, la técnica resultó altamente específica ya que la reacción fue negativa cuando se empleó un conjunto de especies relacionadas tanto desde un punto de vista taxonómico como ecológico, incluyendo la subespecie *P. l. pulvifaciens*.

La detección directa por PCR empleando muestras naturales presenta complicaciones frecuentes ya que los materiales biológicos contienen una variedad de compuestos que pueden inhibir la acción de la ADN polimerasa (27). En el presente trabajo la detección directa a partir de larvas con Loque Americana confirmó la presencia de inhibidores de PCR en las mismas, lo que pudo ser sobrellevado mediante una estrategia sencilla de dilución.

Es importante destacar que recientemente se puso a punto una técnica que permite la detección de esporas de *P. l. larvae* directamente a partir de muestras de abejas o miel, que utiliza el mismo

par de *primers* que amplifican la región de 700 pb del gen del ARNr 16S (16). La técnica incluye un paso inicial de desnaturalización química de la cubierta protectora de las esporas, disrupción enzimática de las mismas y precipitación del ADN con etanol. La detección directa a partir de larvas, abejas y miel sin la necesidad de un paso previo de cultivo permitirá disminuir los tiempos y los costos del diagnóstico.

Otra de las técnicas de diagnóstico molecular presentadas en este trabajo, la RT-PCR, permitió detectar la presencia de los virus ABPV y CBPV en muestras de abejas. A partir de este estudio incluso se determinó la coinfección de colonias por ABPV y CBPV. Estos resultados muestran la utilidad de la técnica para la confirmación e identificación de la presencia de virus en muestras de abejas, lo que no se podría lograr únicamente mediante la observación de la sintomatología de campo.

La posible asociación de éstos y otros virus patógenos con recientes y periódicos episodios de despoblación de colmenas en distintas zonas del país se encuentra actualmente en estudio. Este fenómeno, denominado por algunos autores como "síndrome de despoblación de colmenas" puede estar vinculado con diversas causas y su incidencia se ha visto incrementada en el mundo entero en los últimos años.

Recientemente hemos desarrollado variaciones de esta técnica con el fin de detectar la posible presencia de otros virus patógenos de interés en apicultura como virus de la celda negra, virus de la cría ensacada y virus de las alas deformadas (5).

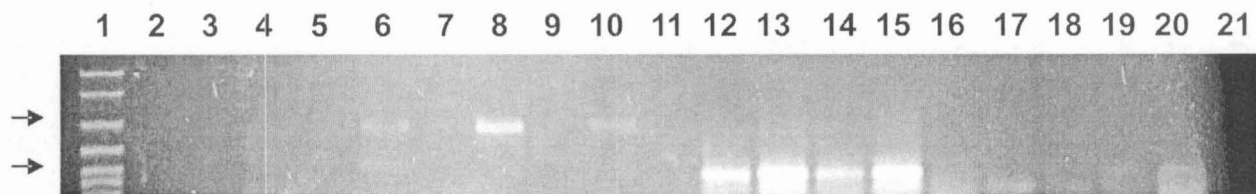


Figura 4. Identificación por RT-PCR de ABPV y CBPV, utilizando *primers* específicos para la detección de estos virus. La flecha superior e inferior indican las bandas de 900 y 455 pb correspondientes al ABPV y al CBPV respectivamente.

Carriles: 1) marcador, 1 Kb (Fermentas), de 2) al 11) detección de ABPV: 2) V5, 3) V7, 4) V10, 5) V21, 6) V25, 7) V32, 8) V33, 9) V46, 10) V59, 11) V58, 12) al 21) detección de CBPV: 12) V5, 13) V7, 14) V10, 15) V21, 16) V25, 17) V32, 18) V33, 19) V46, 20) V59, 21) V58.

CONCLUSIONES

Las técnicas de diagnóstico molecular (PCR y RT-PCR) empleadas en este trabajo con el fin de diagnosticar diferentes patógenos de interés en apicultura resultaron ampliamente satisfactorias para el diagnóstico de *P. l. larvae* empleando distintas aproximaciones y de los virus cau-

santes de las parálisis crónica y aguda (CBPV y ABPV respectivamente).

Estos métodos presentan un gran potencial tanto para la evaluación sanitaria cotidiana de las colmenas como para la generación de información que pueda sentar bases para el diseño de programas de control de patógenos y sanidad apícola en general.

Agradecimientos

Al Dr. Eduardo Corbella por su colaboración en distintos aspectos del trabajo. Este estudio fue financiado por el INIA.

Referencias Bibliográficas

1. Alippi, A. y Aguilar, M. (1998). Unique DNA fingerprint patterns of *Paenibacillus larvae* subspecies *larvae* strains. *J. Apicult. Res.* 37: 273-280.
2. Alippi, A. (1995). Detection of *Bacillus larvae* spores in Argentinean honeys by using a semi-selective medium. *Microbiología Sem.* 11: 343-350.
3. Alippi, A. (1992). Characterization of *Bacillus larvae* White, the causative agent of American Foulbrood of honey bees. First record of its occurrence in Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* 24: 67-72.
4. Allen, M. F. y Ball, B.V. (1996). The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World* 77: 141-162.
5. Antúnez, K.; D'Alessandro, B.; Corbella, E. y Zunino, P. (2006). Honeybee viruses in Uruguay. Enviado al *J. Invert. Pathol.*
6. Antúnez, K.; D'Alessandro, B.; Corbella, E. y Zunino, P. (2005). Detection of Chronic bee paralysis virus and Acute bee paralysis virus in Uruguayan honeybees. *J. Invert. Pathol.* 90: 69-72.
7. Antúnez, K.; D'Alessandro, B.; Piccini, C.; Corbella, E. y Zunino, P. (2004). *Paenibacillus larvae larvae* spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *J. Invert. Pathol.* 86: 56-58.
8. Bailey, L. (1968). The purification and properties of chronic bee paralysis virus. *J. Gen. Virol.* 2: 251-260.
9. Bailey, L.; Gibbs, A. J. y Woods, R. D. (1963). Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology* 21: 390-395.
10. Ball, B. V. y Bailey, L. (1991). Virus of honey bees. En: Adams J. R.; Bonami J. R. Eds. Atlas of invertebrate viruses. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 525-551.
11. Ball, B. V. (1996). Honey bee viruses: a cause of concern? *Bee World* 77: 117-119.
12. Bekesi, L.; Ball, B. V.; Dobos-Kovaacs, M.; Bakonyi, T. y Rusvai, M. (1999). Occurrence of acute paralysis virus of the honey bee (*Apis mellifera*) in a Hungarian apiary infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Acta Vet. Hung.* 47: 319-324
13. Benjeddou, M.; Leat, N.; Allsopp, M. y Davison, S. (2001). Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2384-2387
14. Brodsagaard, C. J.; Ritter, W. y Hansen, H. (1998). Response of *in vitro* reared honey bee larvae to various doses of *Paenibacillus larvae larvae* spores. *Apidologie* 29: 569-578.
15. Crailsheim, K. y Riessberger-Gallé U. (2001). Honey bee age-dependent resistance against American Foulbrood. *Apidologie* 32: 91-103.
16. D'Alessandro B.; Antúnez K.; Piccini C. y Zunino P. (2006). DNA extraction and PCR detection of *Paenibacillus larvae larvae* spores in honey and bee samples. Enviado al *W. J. Microbiol. Biotechnol.*
17. Faucon, J. P. y Pepin, M. (2002). Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33: 339-351.
18. Govan, V. A.; Allsopp, M. H. y Davison, S. (1999). A PCR detection method for rapid identification of *Paenibacillus larvae larvae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 2243-2345.
19. Hansen, H. y Brødsgaard, C. (1999). American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World* 80, 5-23.
20. Hornitzky M. A. Z. y Nicholls P. J. (1993). J medium is superior to Sheep Blood Agar and Brain Heart Infusion for the isolation of *Bacillus larvae* from honey samples. *J. Apicult. Res.* 32: 51-52.
21. Kolbert, C. P. y Persing, D.H. (1999). Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* 2: 299-305.
22. Morse R. A. y Flottum, K. 1997. Honey bee pests, predators and diseases. 3rd ed. A. I. Root Co., Medina, O.H. 718 pp.
23. Nordstrom, S.; Fries, A.; Aarhus, H.; Hansen, H. y Korpela, S. (1999). Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestation. *Apidologie* 30: 457-466.
24. Piccini, C.; D'Alessandro, B.; Antúnez, K. y Zunino, P. (2002). Detection of *Paenibacillus larvae larvae* subspecies *larvae* spores in naturally infected larvae and artificially contaminated honey by PCR. *W. J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 761-765.
25. Ribiere, M.; Tribolout, C.; Mathieu, L.; Aurieres, C.; Faucon, J. P. y Pepin, M. (2002). Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33: 339-351.
26. Shimanuki, H. (1997). Synonymy in bee disease. En: Morse, R. A., Flottum, K. Eds. Honey bee Pests, Predators and Diseases. AI Root Company, Medina, pp. 534-537.
27. Wilson I. G. (1997). Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3741-3751.

Evaluación preliminar del riesgo de aparición de toxemia de la gestación en ovejas bajo diferentes manejos nutricionales y sometidas a ayuno de 48 horas

Cal P, L. ; Benech, A. ; Abreu, M. N.¹ ; Borteiro, C; Cruz, J. C. 1; Ricciardi, L. ²; Godiño, L. ; Nieves, C. ²; Rodas, E. ²; González Montaña, J.R .

RESUMEN

La toxemia de la preñez es una de las principales afecciones de los ovinos en Uruguay presentándose frecuentemente en ovejas con gestación simple, principalmente en inviernos rigurosos con grandes carencias nutricionales. El objetivo del presente trabajo es evaluar las alteraciones metabólicas relacionadas con la toxemia de la gestación en ovejas sometidas a ayuno. Se sincronizan 14 ovejas Corriedale de 4-6 años y se registra el día de la monta como día cero de la gestación. Al día 100 de gestación confirmada ecográficamente, las ovejas se dividen al azar en dos grupos: uno alimentado a campo natural y otro con pradera artificial. Al día 142 la mitad de cada grupo se somete a ayuno durante 48 horas. Se registra glicemia, uremia, cortisol plasmático, cetonuria y peso corporal. El ayuno realizado al final de la gestación no resultó lo suficientemente severo como para producir alteraciones metabólicas características de la toxemia de la gestación. Las ovejas con mejores reservas energéticas presentaron un menor riesgo de desarrollar la enfermedad. De las variables estudiadas, los cuerpos cetónicos urinarios fueron el indicador más precoz en evidenciar cambios metabólicos por ayuno.

Palabras claves: ovejas, ayuno, toxemia de la preñez.

SUMMARY

Pregnancy toxemia is one of the most important syndromes affecting sheep production in Uruguay, frequently observed in ewes with simple gestation, mainly in rigorous winters associated to nutritional deficiency. The aim of this work was to evaluate the metabolic disorders related to pregnancy toxemia in ewes under experimental starvation. Fourteen Corriedale ewes between 4-6 years were synchronized, and mating was considered as day 0 of gestation. By day 100 of gestation which was ultrasonography confirmed, ewes were divided at random in two groups; one of them fed on natural, and the other in artificial grasslands. When reaching 142 days of gestation, half of each group was starved for 48 hs. Glicemia, uremia, cortisol, ketonuria and body weight were registered. Starvation during late gestation was not severe enough to produce metabolic alterations considered as characteristic of pregnancy toxemia. Ewes with better energetic storage underwent lower risk of developing the condition. Among studied variables, urinary ketones were the earliest indicators of starvation induced metabolic changes.

Key words: sheep, starvation, pregnancy toxemia.

INTRODUCCIÓN

La toxemia de la preñez es una de las principales afecciones que presentan los ovinos en nuestro país (3). Es un trastorno metabólico que afecta a la oveja durante las últimas semanas de gestación como consecuencia de la incapacidad del organismo para mantener la homeostasis energética (11, 18). El balance entre alimentación y requerimientos es elemento central en la patogenia de la toxemia de la preñez (21). La enfermedad es el resultado de un fallo en la energía de la dieta y la proveniente de la neoglucogénesis (NG) para cubrir una demanda fe-

tal incrementada de glucosa en las últimas semanas de gestación (18); ocurre fundamentalmente como consecuencia de subnutrición prolongada, asociada a factores estresantes con disminución de la ingesta de alimentos (3, 12, 15, 21). Parece ser necesaria una fase previa de alimentación excesiva, antes del período de subnutrición (8, 11). Si bien en otros países se asocia con gestaciones múltiples (6, 18), en nuestro país se presenta frecuentemente en ovejas con gestaciones simples, principalmente en inviernos rigurosos con grandes carencias nutricionales (3).

A pesar de que numerosos autores reportan a esta enfermedad como frecuente, potencialmente fatal y de gran importancia económica (5, 6, 18, 19), en Uruguay son escasas las publicaciones que hacen referencia al tema (3).

En la patogenia de la toxemia de la gestación la glucosa es el metabolito primariamente comprometido, ya que a las necesidades de mantenimiento se suman los requerimientos que imponen el o los fetos (3). Las ovejas gestantes en ayuno entran rápidamente en hipoglicemia. El drenaje fetal de glucosa durante las últimas etapas de la gestación puede alcan-

¹ Depto. de Patología, Facultad de Veterinaria, UDELAR. A. Lasplacas 1550, CP 11600, Montevideo, Uruguay. Tel. (02)6226412. fipavet@adinet.com.uy

² Depto. de Fisiología, Facultad de Veterinaria, UDELAR.

³ Depto. de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, UDELAR.

⁴ Depto. de Patología Animal: Medicina Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, León, España.

Recibido: 10-06-05 Aprobado: 24-04-06

zar los 32 g/día, por lo que el excesivo consumo fetal de glucosa no puede ser compensado por la NG, pudiendo disminuir los niveles sanguíneos en la madre hasta 20 mg/dl. (2). La hipoglicemia estimula la NG y el catabolismo de lípidos y proteínas (8). Se produce de esta manera un aumento de la lipólisis liberando glicerol y Ácidos Grasos No Esterificados (AGNE). Estos AGNE son movilizados hacia el hígado y, mediante B-oxidación, producen abundante acetyl-CoA (13). Algunos de los aminoácidos (aa) liberados en el catabolismo proteico también producen acetyl-CoA. (13). Este acetyl-CoA puede unirse al oxalacetato y oxidarse en el ciclo de Krebs para producir energía o ser metabolizado hasta acetoacetyl-CoA (14), una vía alternativa y en condiciones fisiológicas de poca importancia en la formación de cuerpos cetónicos (CC) (13). A partir de la molécula de acetoacetyl-CoA se libera acetoacetato, que por reducción dará B-hidroxibutirato y por descarboxilación acetoaceto (3, 13, 14).

La oxidación de la acetyl-CoA a través del ciclo de Krebs depende del aporte adecuado de oxalacetato a partir del propionato precursor, producto de la fermentación ruminal, y en consecuencia, si éste disminuye y la oxidación de la acetyl-CoA a través del ciclo de Krebs está limitada, sigue entonces la vía alternativa generando cantidades importantes de CC (3, 14).

La hipercetonemia es una constante en ovejas toxémicas, que se agrava por la subutilización de los CC (16). Cetonemias superiores a 30 mg/dl y cetonurias mayores a 80 mg/dl, asociadas a glicemias inferiores a 30 mg/dl, constituyen un índice de grave alteración del metabolismo energético (20). La magnitud de la cetonemia inducida por el ayuno depende del plano de nutrición al que fueron sometidos previamente los animales, influencia que no se refleja en la glicemia (15).

Los objetivos del presente trabajo son investigar el efecto de un ayuno de 48 hs a partir del día 142 de gestación, evaluando parámetros plasmáticos y urinarios indicativos de riesgo de toxemia de la gestación bajo diferentes condiciones de alimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria (Libertad, Departamento de San José), entre los meses de marzo y agosto de 2000. Se utilizaron 14 ovejas multíparas de la raza Corriedale de entre 4 y 6 años de edad, cuyos celos fueron sincronizados mediante la colocación de esponjas intravaginales de medroxiprogesterona (Sincrovín R, Lab. Santa Elena). A los catorce días se retiraron las esponjas y se introdujeron 2 carneros de la misma raza con fertilidad probada, munidos de arneses marcadores. Se consideró el día de la monta como día cero de la gestación, la que fue confirmada al día 70 por ultrasonografía (1), permaneciendo todos los animales juntos sobre campo natural. Al día 100 de gestación, las ovejas fueron divididas al azar en dos grupos:

- Grupo A (n = 7): permaneció en un plano alto de alimentación (pradera artificial de 2° año)

- Grupo B (n = 7): permaneció en un plano bajo de alimentación (campo natural)

Al día 142 de gestación, 4 ovejas tomadas al azar del Grupo A y 5 del Grupo B fueron sometidas a un ayuno total de forraje durante 48 horas en un encierro con agua ad libitum, quedando así conformados los grupos Alta alimentación-Encierro (A-E) y Baja alimentación-Encierro (B-E). El resto de los animales de A y B permanecieron como grupos control, Alta alimentación-Control (A-C) y Baja alimentación-Control (B-C), bajo el mismo plano nutricional al que pertenecían. En todos los animales se registró el peso corporal cada 30 días y los días 142 (previo al encierro) y 144 (al finalizar el encierro). Se tomaron muestras de sangre para determinación de glicemia y uremia, y muestras de orina para la determinación de CC. Las muestras se obtuvieron al día siguiente al de la monta (muestreo 1), al día 70 y 100 de gestación (muestréos 2 y 3 respectivamente). A partir del día 142 de gestación las muestras se tomaron cada 6 horas en los grupos A-E y B-E mientras duró el ayuno y cada 12 horas en los grupos A-C y B-C durante el mismo período. Los partos se controlaron cada 30 minutos registrando día, hora y características de los mismos.

Al momento del inicio del ayuno se comenzó además a dosificar cortisol plasmático, con la misma dinámica de muestreo anteriormente descrita.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular con agujas 18 G y jeringas de 10 ml. La sangre para determinación de glicemia se colectó en tubos con fluoruro de sodio, mientras que para las determinaciones de uremia y cortisol sérico se utilizaron tubos secos, y una vez extraído el suero por centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos, se almacenaron en Eppendorf rotulados, congelados a -20°C hasta su procesamiento. Los tubos con sangre para determinación de glicemia se centrifugaron inmediatamente y se procesaron dentro de las 24 horas.

La orina se obtuvo por apnea, se colectó en frascos de vidrio, e inmediatamente se realizó la determinación de cetonuria mediante el uso de tiras reactivas (Uriscan(R), Yeongdong Pharmaceutical Corp.). La uremia y glicemia se determinaron por el método enzimático colorimétrico, empleando kits comerciales, y su lectura se realizó en un colorímetro digital Humalyser Junior en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria. El cortisol plasmático se dosificó por RIA en el Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias. Las diferencias en los valores de cortisol, glicemia, uremia y cuerpos cetónicos fueron analizadas mediante test de t con estimaciones independientes de varianza (22).

RESULTADOS

Las ovejas pertenecientes a los grupos de Alta alimentación (A-E y A-C) llegaron al día 142 de gestación (comienzo del ayuno), con mayor peso promedio que las de los grupos de Baja alimentación (B-E y B-C) aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística. En todos los grupos se observó un aumento de la glicemia desde el primer muestreo hasta el cuarto, momento en que se realizaron los encierros (Cuadro 1). En correspondencia con la diferencia de peso, los animales de los grupos de alta alimentación (A-E y A-C) mostraron valores de glicemia ligeramente superiores, aunque no significativos, en

Cuadro 1. Evolución de la glicemia en mg/dl. Se presentan medias \pm DE. Superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Los muestreos corresponden al día siguiente de la monta (1), día 70 (2), día 100 (3), y al momento del encierro el día 142 (4). Los restantes corresponden a intervalos de 6 horas en A-E y B-E, y de 12 horas en A-C y B-C.

Grupo	Muestreos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A-E (n= 4)	36,5 \pm 2,1	45,3 \pm 6	62,3 \pm 19,2	78,7 \pm 8,6	63,0 \pm 1	59,7 \pm 10,9	48,0 \pm 7,9	38,3 ^a \pm 3,5	28,0 \pm 6,2	27,0 ^a \pm 2	31,7 \pm 6,6	36,0 ^a \pm 8,1
A-C (n= 3)	40,0 \pm 2,8	51,8 \pm 2,9	49,3 \pm 5,3	65,3 \pm 8,4		69,3 \pm 8,6		62,0 ^a \pm 4,9		57,3 ^a \pm 8,6		70,3 ^a \pm 10
B-E (n= 5)	41,0 \pm 0	36,8 \pm 7	48,5 \pm 2,6	66,7 \pm 13,6	49,0 \pm 7	42,3 ^b \pm 12	36,0 \pm 15,5	27,3 ^b \pm 1,4	31,0 \pm 2,6	26,3 ^b \pm 6,3	26,0 \pm 9,8	39,7 ^b \pm 3,7
B-C (n= 2)	40,0 \pm 0	44,5 \pm 3,5	52,0 \pm 4,2	60,5 \pm 7,7		66,0 ^b \pm 2,8		61,5 ^b \pm 13,4		74,0 ^b \pm 15,6		64,0 ^b \pm 4,2

A-E= Alta alimentación-encierro; A-C= Alta alimentación-control.
B-E= Baja alimentación-encierro; B-C= Baja alimentación-control.

comparación con los de sus controles de baja alimentación (B-E y B-C, respectivamente). En el grupo de baja alimentación (B-E) se observó un descenso significativo ($p < 0.05$) de la glicemia a partir de las doce horas de iniciado el encierro. En las ovejas pertenecientes al grupo de alta alimentación (A-E) el descenso de glicemia fue significativo con respecto al grupo control a partir de las 24 horas de iniciado el ayuno. En ambos grupos de ayuno se observó un aumento de la glicemia en el último muestreo aunque manteniendo una diferencia significativa con respecto de los controles (Cuadro 1).

La evolución de los valores de uremia para los distintos grupos se resume en el Cuadro 2, no encontrándose diferencias significativas.

Previo al encierro los CC urinarios no se detectaron en ningún grupo (días 1, 70 y 100). A partir del día 142 solamente se detectaron CC en los animales sometidos a ayuno (grupos A-E y B-E), aunque en momentos diferentes con respecto al inicio del encierro. En las ovejas del grupo B-E comenzaron a detectarse a las 6 horas de iniciado el ayuno, en tanto que

en las del grupo A-E fueron detectados recién a las 24 horas de comenzado el ayuno. En los grupos A-C y B-C no se detectaron cuerpos cetónicos en orina (Cuadro 3).

El grupo de baja alimentación (B-E) mostró valores más elevados de cuerpos cetónicos urinarios que el grupo de alta alimentación (A-E), sin que esta diferencia fuera significativa (Cuadro 3).

Los valores de cortisol al momento del encierro oscilaron entre 0,68 y 2,12 ng/dl, sin encontrarse diferencias significativas entre los grupos. En ambos grupos ayunados los valores de cortisol plasmático alcanzaron su máximo a las 36 horas de iniciado el encierro. No obstante sólo en los animales del grupo A-E el valor fue significativamente diferente en un muestreo ($p < 0.05$) al de su control correspondiente; a las 42 horas los niveles volvieron a descender, para ubicarse a las 48 horas en valores incluso algo inferiores a los iniciales (Figura 1).

En ambos grupos, la glicemia mostró el mismo comportamiento, descendiendo desde el momento del encierro hasta las 36 horas de ayuno (78,7 y 66,7 a 27,0 y

26,3 mg/dl, A-E y B-E respectivamente, $p < 0.05$). Estos valores mínimos de glicemia coinciden con los valores máximos de cortisol encontrados en ambos grupos a las 36 horas de comenzado el ayuno. A las 42 horas de ayuno las glicemias de ambos grupos comenzaron a recuperarse. Como puede observarse, la evolución de los niveles de cortisol plasmático presentó un comportamiento "en espejo" con los de glicemia.

DISCUSIÓN

Ninguno de los animales en nuestra experiencia presentó signos clínicos de toxemia de gestación lo que concuerda con los resultados obtenidos por Fowden et al. (9) y Gallego et al. (10), y difiere de los resultados de Sierra et al. (20), quienes comunican signos de toxemia en ayunos de 5 días iniciados a los 110-120 días de gestación, sin indicar el intervalo entre el comienzo del ayuno y la aparición de los síntomas.

Durante toda la experiencia los pesos corporales no mostraron diferencias significativas entre los grupos, por lo que asumimos que el período de alimenta-

Cuadro 2. Evolución de la uremia en mg/dl, se presentan medias \pm DE. Los muestreos corresponden al día siguiente de la monta (1), día 70 (2), día 100 (3) y al momento del encierro (4). Los restantes corresponden a intervalos de 6 horas en A-E y B-E y de 12 horas en A-C y B-C. No hay diferencias significativas entre los grupos.

Grupo	Muestreos											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A-E	49,4	35,2	65,7	53,0	53,0	41,0	48,7	49,0	56,0	55,3	55,7	60,0
(n= 4)	14,2	11,2	5,3	4,4	8,6	5,2	3,5	9,8	7,2	16,3	10,0	28,3
A-C	36,9	43,2	72,8	45,8		53,3		46,0		45,8		51,3
(n= 3)	9,8	5,0	3,6	13,2		8,8		2,9		8,6		14,5
B-E	48,5	48,8	68,8	54,2	49,8	49,0	46,4	46,2	43,4	48,8	49,0	47,3
(n= 5)	4,7	6,8	4,3	4,6	10,8	13	10,2	10,9	12,7	7,6	8,6	12,8
B-C	47,3	50,5	65,0	54,5		50,0		48,5		47,5		58,0
(n= 2)	3,1	4,6	8,4	6,3		1,4		6,3		4,9		1,4

A-E= Alta alimentación-encierro; A-C= Alta alimentación-control.
 B-E= Baja alimentación-encierro; B-C= Baja alimentación-control.

Cuadro 3. Evolución de los cuerpos cetónicos en orina en mg/dl. Se presentan medias \pm DE. Los muestreos corresponden al día siguiente de la monta (1), día 70 (2), día 100 (3), y al momento del encierro (4). Los restantes corresponden a intervalos de 6 horas en A-E y B-E, y de 12 horas en A-C y B-C.

Grupo	Muestreos									
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A-E	0,0	0,0	0,0	0,0	16,7	16,7	50	50	50	
(n= 4)	± 0	± 0	± 0	± 0	$\pm 2,8$	$\pm 2,8$	± 0	± 0	± 0	
B-E	0,0	12,5	12,5	16,7	62,5	62,5	62,5	62,5	62,5	
(n= 5)	± 0	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 2,8$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	$\pm 2,5$	

A-E= Alta alimentación-encierro; A-C= Alta alimentación-control.
 B-E= Baja alimentación-encierro; B-C= Baja alimentación-control.

ción diferencial (pradera de segundo año vs. campo natural) previo al encierro no fue lo suficientemente prolongado.

Los cuerpos cetónicos en orina resultaron ser indicadores más precoces de cambios metabólicos por ayuno que la glicemia en los animales de baja alimentación, apareciendo ya a las 6 horas de comenzado el mismo. En los de alta alimenta-

ción los cuerpos cetónicos en orina fueron detectados recién a las 24 horas de comenzado el ayuno, coincidiendo con el descenso significativo de la glicemia. Esto sugiere que los animales con menor aporte energético podrían haber iniciado la lipomovilización más tempranamente, con la consiguiente acumulación de cuerpos cetónicos. El descenso de los

valores de glicemia se acompañó de un incremento de la cetonuria, tal como reportan Sierra et al. (20) aunque no indican cuándo comienza la caída de la glicemia en relación con el incremento de cuerpos cetónicos. Los valores de cuerpos cetónicos urinarios encontrados en este trabajo fueron inferiores a los considerados críticos por otros autores (en torno

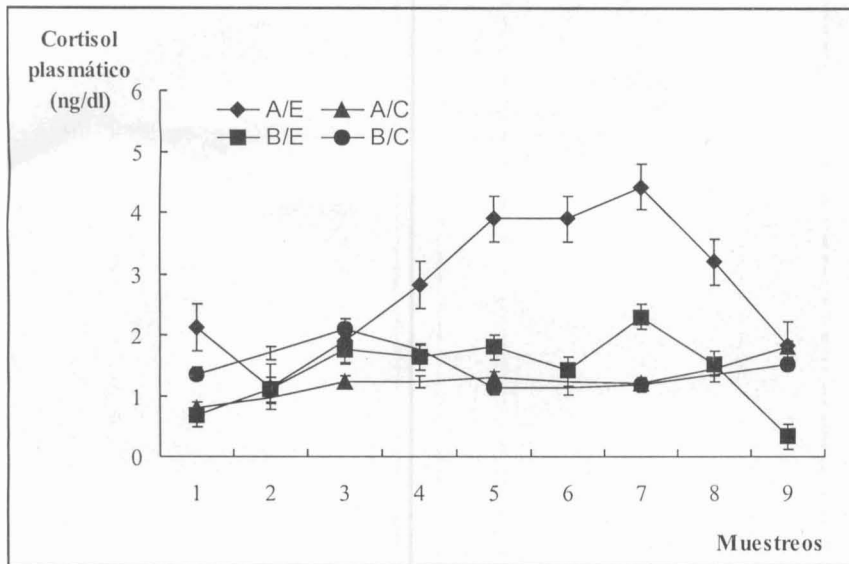


Figura 1. Evolución del cortisol plasmático. Se indica promedio para los grupos alta alimentación sin ayuno (A-C), alta alimentación con ayuno (A-E), baja alimentación sin ayuno (B-C) y baja alimentación con ayuno (B-E). El primer muestreo corresponde al momento del encierro (día 142) y los restantes a intervalos de 6 horas en A-E y B-E, y de 12 horas en A-C y B-C.

a 80 mg/dl) para la aparición de síntomas clínicos de toxemia (3, 20).

El ayuno no modificó los valores de uremia, que aumenta sensiblemente en animales con toxemia de la gestación clínica inducida experimentalmente (11, 17), consideramos entonces que el tiempo de ayuno en el presente trabajo no fue suficiente como para provocar un catabolismo proteico importante.

Los valores de cortisol plasmático de los grupos de ovejas sometidas a ayuno fueron menores a los valores obtenidos por Ford *et al.* (7) y Sigurdsson (21) en ovejas con toxemia de la preñez clínica. Ford *et al.* (7) sugieren que concentraciones superiores a 10 ng/dl son indicativas de toxemia de la gestación. La elevación de los niveles plasmáticos de cortisol podría deberse a una participación corti-

coadrenal en respuesta a situaciones de estrés ambiental y nutricional, y a una deficiente metabolización hepática del mismo como sugieren Radostits *et al.* (14). En nuestras condiciones experimentales los niveles máximos de cortisol durante el ayuno coincidieron con los valores mínimos de glicemia (26-27 mg/dl). Estos valores de glicemia podrían suponer un sistema de feed back positivo para el disparo del cortisol y el consecuente estímulo para la neoglucogénesis, de la misma forma al aumentar la glicemia se pondría en marcha una inhibición de la secreción de cortisol (4).

CONCLUSIONES

- 1) Un ayuno de 48 horas al final de la gestación no resultó lo suficientemente severo como para producir altera-

ciones metabólicas características de toxemia de la gestación.

- 2) En nuestras condiciones experimentales las ovejas con mejores reservas energéticas presentaron un menor riesgo de desarrollar toxemia de la gestación.
- 3) De las variables estudiadas, los cuerpos cetónicos urinarios son el indicador más precoz en evidenciar cambios metabólicos por ayuno.

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. Bruno López Leiro, Director del Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria por su constante colaboración, y a la Comisión de Investigación y Desarrollo Científico (CIDEC) de la Facultad de Veterinaria por el apoyo financiero.

Referencias Bibliográficas

- 1) **Buckrell, B. C.** (1988) Application of ultrasonography in reproduction in sheep and goats. *Theriogenology* 29 (1):11-20.
- 2) **Blood, D. C. y Radostits, O. M.** (1992). *Medicina Veterinaria II*. 7a ed. Interamericana-Mc GrawHill, 7a. Ed., 1598 p.
- 3) **Bonino, J.; Sienna, R. y Sorondo, L.** (1987). Enfermedades causadas por trastornos metabólicos: toxemia de la preñez. En Bonino, J.; Durán del Campo, A.; Mari, J. (eds.) *Enfermedades de los lanares II*, Ed. Hemisferio Sur. Pp. 239-265.
- 4) **Brownie, A. C.** (1992). The metabolism of adrenal cortical steroids. En *The adrenal gland*. Raven Press Ltd. Pp. 209-224.
- 5) **Cantley, C.; Ford, C. y Heath, M.** (1991). Serum fructosamine in ovine pregnancy toxemia: a possible prognostic index. *Vet. Rec.*: 525-526.
- 6) **East, N.** (1983). Pregnancy toxemia, abortions, and periparturient disease. *Vet. Clin. North Am.* 5(3): 601-617.
- 7) **Ford, E.J.; Evans, J. y Robinson, I.** (1990). Cortisol in pregnancy toxemia of sheep. *Br. Vet. Journal* 146: 539-542.
- 8) **Forbes, T. J. y Singleton, A. G.** (1964). Ovine pregnancy toxemia: a review. *Br. Vet. Journal* 120 (2): 56-68.
- 9) **Fowden, A.; Harding, R.; Ralph, M. y Thorburn, G.** (1987). The nutritional regulation of plasma prostaglandin E concentrations in the fetus and pregnant ewe during late gestation. *J. Physiol.* 394: 1-12.
- 10) **Gallego, D.; Benech, A.; Acosta, J.; Ferreira, A. y Rodas, E.** (1996). El ayuno como método de inducción del parto en ovinos. Reunión Latinoamericana de Cátedras de Fisiología Veterinaria II, Río Cuarto, Argentina.
- 11) **González-Montaña, J. y Rejas-López, J.** (1995). Toxemia de la Gestación. *Med. Vet.* 12(9): 513-522.
- 12) **Marteniuk, J. y Herdt, T.** (1988). Pregnancy toxemia and ketosis of ewes and does. *Vet. Clin. North Am.* 4(2): 307-315.
- 13) **Michaux, J.M. ; Fondeur, S. ; Romdane, M. N. y Mouthon, G.** (1981). Les troubles du Métabolisme des corps cétoniques chez les mammifères Domestiques. *Rec. Méd. Vét.* 157 (6): 471-478.
- 14) **Radostits, O. M.; Gay, C.C.; Blood, D. C. y Hinchcliff, K.W.** (2002). *Medicina Veterinaria Vol. II*, McGraw-Hill - Interamericana, 9a. ed., pp. 1724-1736.
- 15) **Reid, L.** (1960). Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. Further studies on hypoglycaemia and hyperketonaemia in undernourished pregnant ewes and in ewes with pregnancy toxemia. *Aust. J. Agric. Res.* 11(3): 346-363.
- 16) **Ruiz Moreno, M. y Silva, J.** (1997). Toxemia de la preñez en la oveja. Estado actual de conocimiento sobre el tema. *Rev. Med. Veterinaria* 78(1): 58-64.
- 17) **Ruiz Moreno, M.; Silva, J.; Díaz, I.; D'Onofrio, L. y Machado, F.** (1997). Variación de algunos parámetros urinarios y hemáticos en ovejas gestantes bajo riesgo de cetosis. *Rev. Med. Veterinaria* 78(4): 249-256.
- 18) **Sargison, N.; Scott, P.; Penny, C.; Pirie, R. y Kelly, J.** (1994). Plasma enzymes and metabolites as potential prognosis indices of ovine pregnancy toxemia. A preliminary study. *Br. Vet. Journal* 150: 271-276.
- 19) **Scott, P.** (1995). Differential diagnosis of common metabolic disorders of sheep. In *Practice*: 266-269.
- 20) **Sienna, R.; Bonino, J.; Larregui, V. y Echeguiá, M.** (1984). Toxemia de la preñez II. Inducción experimental y respuesta a la terapia con glicerol-propilenglicol. *Veterinaria* 20(88-89): 78-83.
- 21) **Sigurdsson, H.** (1988). Susceptibility to pregnancy disease in ewes and its relation to gestational diabetes. *Acta Vet. Scand.* 29: 407-414.
- 22) **Steel, J.; Torrie, S.** (1988). *Bioestadística. Principios y procedimientos*. 2a. ed. Ed. Mc Graw-Hill.

LA ASAMBLEA DE LA ACADEMIA NACIONAL DE VETERINARIA RESUELVE: **Otorgar Mención Especial de carácter honorario al trabajo presentado como aspirante al Premio Academia Nacional de Veterinaria 2005** auspiciado por la Cámara de Especialidades Veterinarias 2005.

Reparación quirúrgica de defectos esqueléticos en pequeños animales mediante implantes óseos xenogénicos desantigenizados: resultados preliminares

Semiglia, G.^{1*}; Izquierdo, D.¹; Zunino, J.H.²

RESUMEN

El autoinjerto óseo para reparar grandes defectos esqueléticos conlleva una alta morbilidad, representando también una fuente de complicaciones a nivel del área dadora. Asimismo, la ausencia de bancos de tejidos animales en nuestro medio dificulta lograr injertos alogénicos seguros.

La reparación ósea por métodos biológicos incluye la utilización de hueso xenogénico procesado, desantigenizado y liofilizado. Este material puede obtenerse en nuestro medio de fuentes seguras y estar fácilmente disponible en grandes cantidades.

Los buenos resultados experimentales obtenidos con implantes xenogénicos en roedores (ausencia de una respuesta inmune significativa junto a osteoinducción local) nos indujo a diseñar un ensayo clínico usando hueso bovino desantigenizado y liofilizado en la reparación de defectos esqueléticos de causa traumática, degenerativa, infecciosa o tumoral en pequeños animales.

La excelente evolución comprobada en nuestros primeros casos tratados –tanto en lo anatómico como en lo clínico y funcional– nos impulsaron a comunicar los correspondientes resultados preliminares del estudio en desarrollo.

Palabras clave: Reparación esquelética, xenoinjertos, banco de tejidos, ortopedia veterinaria, implantes óseos.

SUMMARY

Autografting for bone repair in large skeletal defects carries high morbidity and represents a source of complications at the donor site, as well. Besides, the lack of animal tissue banks in our country renders safe allografting a difficult task to achieve.

Bone repair by biologic methods can include using processed, non-antigenic, freeze-dried bone from a xenogeneic source. Such material can be obtained from a safe source in our country, and be easily available in large quantities.

Our good results in experimental bone xenografting in rodents (absence of significant immune response along with local osteoinduction), induced us to design a clinical trial using antigen-depleted, freeze-dried bovine bone to repair skeletal defects in small animals, due to trauma, infection, degenerative or tumor diseases.

Excellent anatomic, clinic and functional outcome in the first few cases prompted us to disseminate our preliminary results of the ongoing trial.

Key words: Skeletal repair, xenografting, tissue banking, veterinary orthopedic surgery, bone implants.

INTRODUCCIÓN

La reparación de defectos esqueléticos en Medicina Veterinaria por métodos biológicos, se encuentra limitada fundamentalmente por factores de morbilidad y de disponibilidad de material biológico. En efecto, la reparación de defectos esqueléticos con material óseo autogénico implica por un lado, aumento de la morbilidad y eventualidad de complicaciones a nivel del área dadora del paciente, así como alteraciones funcionales en su aparato locomotor.

Por otra parte, la inexistencia en nuestro medio de bancos de tejidos animales impide la disponibilidad de implantes tis-

lares seguros y adecuados, tanto en cantidad como en calidad.

La utilización experimental exitosa (ausencia de rechazo acompañada con aumento de la osteogénesis) de material óseo xenogénico en roedores (Zunino y col 2004) nos estimuló a ensayar clínicamente el uso de hueso bovino procesado (desantigenizado y liofilizado) en casos clínicos de pequeños animales portadores de defectos esqueléticos considerables, cuyo tratamiento convencional implicaba una alta morbilidad y/o trastornos funcionales importantes.

La buena evolución tanto en lo anatómico como en lo funcional observada en

nuestros primeros casos tratados con esta metodología, nos ha estimulado a presentar precozmente los resultados preliminares, en un intento de diseminar un procedimiento de fácil ejecución técnica, bajo costo y hasta el momento carente de complicaciones.

MATERIAL Y MÉTODO

Preparación de los implantes

El fémur y tibia de un bovino joven fueron obtenidos en un matadero sujeto a lo dispuesto por el Reglamento Oficial de Inspección Veterinaria de Productos de Origen Animal (MGAP, 1983). Los huesos fueron inmediatamente congelados

¹ Departamento de Pequeños Animales, Facultad de Veterinaria, UDELAR, Uruguay.

² Banco de Organos y Tejidos, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Uruguay;

* Autor correspondiente: (e-mail: gsemiglia@adinet.com.uy fax: +5982-216 18 70)

(- 80°C) y luego desprovistos de partes blandas y cartilago, para ser finalmente seccionados de forma y tamaño diferentes, sin exceder los 10x4x3 centímetros. Se obtuvo así una variedad de formas y tamaños de material óseo, tanto esponjoso como cortical y córtico-esponjoso. El material fue lavado abundantemente con agua destilada y solución acuosa de azida de sodio. Luego fue procesado de acuerdo a la técnica de Urist (Urist y col. 1975). Los huesos fueron luego pesados e incubados a 37°C por 72 horas en baño con fosfato buffer. Luego, fueron tratados con Pepsina (Pepsina, Sigma) 1:100 peso a peso enzima:matriz y con ácido clorhídrico 0.01N a 22°C por 6 horas. La actividad de Pepsina fue detenida aumentando el pH de la solución a 8.0 con hidróxido de sodio 0.1N por 6 horas a 4°C. Los fragmentos óseos fueron luego lavados con agua destilada, liofilizados (Liofilizador Labconco, Mod. Lyph-Lock 6) a una presión de vacío de 0.13×10^{-3} (Mbar) y temperatura de - 50°C por 72 horas. El material fue luego envasado en triple bolsa de polietileno de 60 micrones de espesor e irradiado a temperatura de congelación con dosis de 25 KGy (Kilo gray) de cobalto 60, con fines de esterilización.

Casos clínicos

Cinco animales, cuatro perros y un gato constituyeron nuestros primeros casos, objeto de la presente publicación. Las correspondientes patologías que motivaron las intervenciones quirúrgicas fueron: fractura expuesta conminuta por proyectil, artrodesis fémoro-tibial, malformación congénita de miembro anterior, fractura conminuta carpo-metacarpiana y osteomielitis tibio-astragalina.

Técnica quirúrgica

Luego del abordaje clásico del foco lesional (Bojrab, 2001; Slatter, 2002) y el tratamiento de la correspondiente patología, se procedió en todos los casos a la preparación del lecho del implante, resecaando partes blandas y esqueléticas hasta alcanzar tejidos normales, sangrantes. En el defecto óseo se colocó uno o más fragmentos de hueso liofilizado, reconstituído antes de la cirugía en una solu-

ción de oxitetraciclina en suero fisiológico a temperatura ambiente.

Autosostenidos *in situ* por partes blandas suturadas y en ocasiones por finas agujas de Kirschner al hueso vecino, los implantes óseos fueron recubiertos de tejidos blandos adyacentes. La estabilización de los focos se logró en todos los casos por fijación externa con clavos de Steinmann en montaje cementado (metil-metacrilato).

Controles evolutivos

En todos los casos se obtuvo una radiografía del foco lesional dentro de la primera semana post-operatoria y el control clínico de los pacientes se efectuó a la semana de la cirugía. Los ulteriores controles fueron planificados con una frecuencia quincenal en el primer mes y mensual en los siguientes.

Los montajes de fijación externa fueron retirados una vez lograda la consolidación ósea, promedialmente a los 3 $\frac{1}{2}$ meses del post operatorio.

El tiempo de seguimiento de los casos fue de 5 meses (promedio).

RESULTADOS

Todos los casos tratados evolucionaron favorablemente hacia la consolidación clínica y radiológica del defecto. No se registraron complicaciones, salvo en un caso en que debió sustituirse el sistema de fijación externa por un aparato enyesado, por detectarse importante osteólisis alrededor de los clavos de Steinmann. No se registraron infecciones ni alteraciones de partes blandas.

La función de los miembros involucrados fue muy buena en todos los casos, permitiendo una marcha y apoyo estables y sin claudicación.

El análisis de las imágenes radiológicas de control permitió observar una progresiva remodelación del implante, con una etapa inicial de desmineralización con ulterior pérdida de sus límites e incorporación al esqueleto vecino. Hasta el cuarto mes del post operatorio sin embargo, no se observaron imágenes de trabéculas óseas que conectaran el implante con el hueso huésped.

DISCUSIÓN

Los resultados preliminares de nuestros primeros casos de utilización de implantes óseos desantigenizados de origen bovino en la reparación de defectos esqueléticos en miembros de pequeños animales han sido muy satisfactorios.

En efecto, la evaluación clínica post operatoria demostró -luego de retirados los elementos metálicos de fijación externa-consolidación del foco, permitiendo un apoyo y marcha estables, sin claudicación.

Radiológicamente, los estudios seriados de control mostraron imágenes de disminución de radioopacidad de los implantes óseos luego del primer mes postoperatorio. Sin embargo, en todos los casos la presencia de dichos implantes pudo ser observada hasta los últimos controles.

Lofgren y col. (Lofgren, H. 2000) lograron fusión de columna cervical en humanos utilizando implantes óseos xenogénicos de origen bovino. El concepto clásico de que el uso de hueso bovino determina una fusión de tipo fibroso y no óseo, no fue demostrado en su ensayo clínico; por el contrario, los autores observaron fusión vertebral rígida en la gran mayoría de sus pacientes randomizados para hueso autogénico y hueso xenogénico bovino, aunque el tiempo de consolidación fue algo mayor en el último caso.

Algunos autores no han tenido buenos resultados con el uso de hueso xenogénico (Pieron y col., 1968); otros refieren que el implante de hueso xenogénico en defectos esqueléticos se comporta como conductor de la osteogénesis (osteoconducción) (Harmon, 1964, Hallén 1965, Hancox y col., 1961), sin actuar como osteoinductor del hueso neoformado.

Otros sin embargo, han demostrado clínica y experimentalmente la capacidad osteoformadora del hueso xenogénico procesado como implante simple o compuesto (Salama y col., 1983, Nathan, 1988).

Estas diferencias podrían estar vinculadas a las condiciones de procesamiento del material óseo xenogénico. Con la finalidad de abolir la antigenicidad del hueso xenogénico, la mayor parte de los mate-

riales osteoderivados son totalmente desproteinizados, lo que elimina los factores osteoinductores (proteína morfogénica ósea, o BMP) de la matriz. Esto explica quizá el abandono del uso clínico de hueso xenogénico en humanos que se popularizara en la década de los '70 luego de los trabajos de Salama. (Salama y col., 1973, Salama y col., 1978, Salama y col., 1982).

El material óseo xenogénico utilizado en nuestros casos clínicos fue parcialmente desmineralizado y desprovisto de elementos antigénicos (lípidos, restos celulares, telopéptidos del colágeno), resultando en un material que conserva activos en su matriz los factores inductores de neoformación ósea.

En la última década, fundamentalmente debido a la disminución en la disponibilidad de hueso alogénico por su potencial rol en la transmisión de enfermedades, los implantes óseos xenogénicos han retomado interés. Tanto a nivel experimental como en el escenario clínico humano, se utilizan en diferentes situaciones: relleno de defectos periodontales,

de cavidades quísticas, defectos esqueléticos por trauma o tumores, artrodesis, infecciones óseas, etc.

Sin embargo, y acorde con la bibliografía revisada, hemos encontrado mínima información relativa a su uso en clínica veterinaria.

La epidemiología de las zoonosis y enfermedades transmisibles resulta particularmente favorable en la región y particularmente en nuestro medio para la utilización de implantes óseos de origen bovino.

Asimismo, el procesamiento de los tejidos óseos para implante (tratamiento con solventes, soluciones ácidas y ulterior liofilización e irradiación con dosis radioesterilizantes con rayos gamma) determina la destrucción de todo potencial germen contaminante.

Las enfermedades priónicas por otra parte son de estricta vigilancia en la región (Somoza, 2001) y en nuestro conocimiento, en Uruguay no se han registrado casos vinculados a la encefalopatía espongiiforme bovina (Fernández y col., 2001, Perdomo 2001).

Los resultados iniciales de nuestro proyecto de utilización del material óseo xenogénico en situaciones clínicas reales en pequeños animales han sido muy buenos, por lo que decidimos difundir un reporte preliminar.

En nuestros casos no se observaron complicaciones post operatorias inherentes a la utilización de los implantes: infecciones, rechazo o inestabilidad del foco. Sin embargo, dado el número aún escaso de casos tratados, no podemos emitir conclusiones estadísticamente significativas.

La progresión del ensayo proyectado nos permitirá no sólo incrementar la casuística, sino también aumentar el tiempo de seguimiento evolutivo de nuestros casos.

Agradecimientos

A la Cátedra de Biología Celular de la Facultad de Ciencias y a la Cátedra de Oncología Radioterápica, Hosp.de Clínicas, por su contribución en el procesamiento y esterilización respectivamente, de los implantes óseos.

Referencias Bibliográficas

- Bojrab, M.J.** (2001). Técnicas Actuales en cirugía de animales pequeños. 4ª ed. Inter.-Médica, Buenos Aires (Argentina).
- Fernández M., Mañana, G. y Salama R.** (2001). Enfermedades priónicas. Experiencia clínica en Uruguay. Arch Ins Neurol 4(1):49-53.
- Janovec, M. y Dvorák, K.** (1986). Segmental bone defects of rabbit filled with demineralized autolyzed bovine xenograft. Scripta Med.Fac. Med. Univ. Brun. 52:299-306, 1986.
- Hallén LG.** (1965). Heterologous transplantation with Kiel Bone: An experimental and clinical study. Acta Orthop 37(1): 1-19.
- Hancox, N.H., Owen, R. y Singleton A.** (1961). Cross-species grafts of deproteinised bone. J Bone Joint Surg. 43 B (1): 152-161.
- Harmon PH.** (1964). Processed heterologous bone implants (Boplant, Squibb) as grafts in spinal surgery. Acta orthop Scand XXXV, 98-116, 1964.
- Lofgren, H., Johannsson, V., Olsson, T., Ryd, L. y Levander, B.** (2000). Rigid fusion after cloward operation for cervical disease using autograft, allograft, or xenograft; a randomized study with radiostereometric and clinical follow-up assessment. Spine 25(15): 1908-1916, 2000.
- Ministerio de Agricultura y Pesca (1983).** Dir. Gen. De Serv. Veterin. Reglamento Oficial de Inspección Veterinaria de Productos de Origen Animal. Parte I: Carne, subproductos, derivados y productos cárnicos (Dec. 369/983, 7 oct. República Oriental Del Uruguay).
- Nathan, R.M., Bentz, H., Armstrong, R.M., Piez, K.A., Smestad, T.L., Ellingsworth, L.R. y col.** Osteogenesis in rats with an inductive bovine composite. J Orthop Res 6(3):324-334, 1988.
- Perdomo E.** (2001). Observaciones sobre la encefalopatía espongiiforme bovina o "mal de la vaca loca". Arch Ins Neurol 4(1):7-11.
- Pieron, A.P., Bigelow, D. y Hamonic, M.** (1968). Bone grafting with Boplant. Results in thirty-three cases. J Bone and Joint Surg. 50 B (2):364-368. 1968.
- Rubin, A.L., Drake, P., Davison, D., Pfahl, D., Speakman, P. y Schmitt, F.** (1965). Effects of pepsin treatment on the interaction properties of tropocollagen macromolecules. Biochemistry 4(2): 181-190.
- Salama, R., Burwell, R.G., Dickson, I.R.** (1973). Recombined grafts of bone and marrow. The beneficial effect upon osteogenesis of impregnating xenograft (heterograft) bone with autologous red marrow. J Bone Joint Surg. 55 B(2):402-417.

- Salama, R. y Weissman, L.** (1978). The clinical use of combined xenografts of bone and autologous red marrow. *J Bone Joint Surg.* 60-B (1) : 111-115.
- Salama, R., B.M. y Ch, B.** (1983). Xenogenic bone grafting in humans. *Clin Orthop & Rel Res* 174:113-121.
- Slatter, D.** (2002). Textbook of small animal surgery. 3^{ed}. Saunders, United States of América.
- Somoza MJ.** (2001). Epidemiología y vigilancia epidemiológica de las enfermedades priónicas en Argentina. *Arch Ins Neurol* 4(1): 31-33.
- Urist M.R.** Antigen-extracted surface demineralized autolised allogeneic bone for arthrodesis. *In:* Friedlander G.E., Mankin H., and Sell K.W. (eds.), *Osteochondral Grafts*, Little Brown, Boston, pp. 193-201, 1983.
- Urist, M.R., Mikulski, A. and Boyd, S.D.** (1975). A chemosterilized antigen-extracted autodigested alloimplant for bone banks. *Arch. Surg.* 110:416-428, 1975.
- Zunino, J.H., Bengochea, M., Johnston, J., Deneo, H., Hernández, S. y col.** (2004). Immunologic and osteogenic properties of xenogenic and allogeneic demineralized bone transplants. 2004. *Cell and Tissue banking* 5:141-148.