



Aplicación de las tecnologías
de ultrasonografía en el
diagnóstico precoz de
gestación y PCR en tiempo
real en la cuantificación de
grasa intramuscular en bovinos
para carne

Alvarez Gutiérrez, Milagros Arabela

Trabajo Final de Intensificación para
acceder al título de Ingeniero Zootecnista

Universidad Nacional de Santiago del Estero
Facultad de Agronomía y Agroindustrias

Director:

Med. Vet. (Esp. MSc.) Reineri, Pablo Sebastián

Co-Directora:

Lic. Biotecnología Coria, María Sumampa

Santiago del Estero
Junio de 2017



Aplicación de las tecnologías de ultrasonografía en el diagnóstico precoz de gestación y PCR en tiempo real en la cuantificación de grasa intramuscular en bovinos para carne

Alvarez Gutiérrez, Milagros Arabela

Director: Med. Vet. (Esp. MSc.) Reineri, Pablo Sebastián _____

Co-Directora: Lic. Biotecnología Coria, María Sumampa _____

Tribunal de Seguimiento y Evaluación

Titular

Ing. Agr. (MSc.) Fumagalli Arnaldo _____

Ing. Agr. David Noelia _____

Ing. Zoot. Martínez Graciela _____

Suplente

Ing. Agr. Barrios Soledad _____

Presentación Formal Académica

Junio de 2017

Universidad Nacional de Santiago del Estero
Facultad de Agronomía y Agroindustrias

Dedicatoria

A Dios, por acompañarme desde el primer momento que decidí aceptar este reto y mostrarme el camino cuando todo parecía oscurecerse. A mis padres, mi Zayri, mis abuelitos y Gabita, por ser las personas más importantes, maravillosas y espectaculares que la vida me concedió; sin ustedes y todas sus enseñanzas no sería lo que soy ahora, gracias por toda la maravillosa vida que me regalaron. Al abuelito Oswaldo, aunque no estés físicamente conmigo, desde el cielo has cuidado de mí y disfrutas hoy este pequeño paso; y mi infaltable inspiración, abuelito Edilberto, aún en tu ausencia siempre has estado muy presente, motivando cada reto que me propongo en la vida. A mi abuelita Anita, por regalarme a la madre maravillosa que tengo y mostrarme que tan fuerte puedo llegar a ser; a mi Consuelito, por mi amado padre y educarme en amor.

Este es mi pequeño obsequio para ustedes, mi vida entera, mi motivación y mis esperanzas de un mañana mejor.

Agradecimientos

Siempre a Dios, por brindarme las oportunidades tan especiales en esta vida. A mis padres, por apoyar mi locura. A mi hermana, por saber comprender mi fascinación por los retos. A la Universidad Nacional de Cajamarca y la Facultad de Ingeniería en Ciencias Pecuarias por confiar en mí para este reto. A la Universidad Nacional Santiago del Estero y la Facultad de Agronomía y Agroindustrias por acogerme como una alumna más de sus claustros académicos. Al CONICET por permitirme realizar los análisis y estudios pertinentes para el desarrollo de la tesina. Al INTA quien me concedió la oportunidad de realizar prácticas importantes para mi formación.

A Dr. Reineri y Sumi, gracias mis queridos tutores, directores y amigos; no pude haber tenido mayor suerte de encontrarme con gente tan buena, gracias por motivarme constantemente y exigirme hasta el punto de demostrarme que soy capaz de mucho más de lo que imagino.

Resumen

La provincia de Santiago del Estero es una región dedicada a la producción de bovinos de carne. La actividad ganadera está utilizando tecnologías y herramientas necesarias para mantener buenas tasas de producción a través del tiempo. En el presente trabajo se realizó la implementación de tecnologías que sirven para el crecimiento de la actividad ganadera de la provincia. Se estudió el uso de dos tecnologías: la ultrasonografía y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. En el primer capítulo se plantea el uso de la ultrasonografía como herramienta tecnológica para determinar el momento de mayor porcentaje de preñez en bovinos para carne. Los resultados indican que las mejores tasas de fertilidad se alcanzan antes de los 55 días iniciado el servicio, lo que puede estar relacionado a distintos factores tales como la oferta forrajera, la capacidad reproductiva de los toros y, la presencia y edad de cría al pie de madre; por lo cual, el uso de servicio cortos y estacionados son efectivos evidenciándose en altos porcentajes de preñez. En el segundo capítulo se evalúa el uso de la técnica de reacción en cadena de polimerasa en tiempo real para cuantificar la expresión de genes del contenido y tamaño de grasa intramuscular, como una característica de calidad de carne, en dos sistemas distintos de alimentación. Los datos obtenidos sugieren que, los novillos alimentados a pastoreo exclusivo a pesar de haber tenido menores pesos de carcasa caliente, tuvieron mejor área de ojo de bife, menor contenido de grasa intramuscular y menor dureza. La expresión de los genes evaluados IGF1, GLUT4 y MSTN fue diferente en los sistemas de alimentación estudiados, probando que la alimentación es un factor importante en los procesos productivos que pueden variar la calidad del producto final. Por otro lado, se observó una correlación entre la expresión genética y el contenido de grasa intramuscular; sugiriendo que los genes utilizados en el presente estudio pueden ser usados como posibles marcadores para futuros estudios. Los resultados obtenidos permiten concluir que el uso de tecnologías en la producción animal como las estudiadas en el presente trabajo resultan ser herramientas útiles en los procesos de producción bovina.

Palabras clave: Ultrasonografía, gestación bovina, PCR, expresión de genes, grasa intramuscular.

ÍNDICE

Presentación General	6
Capítulo 1	7
Introducción	8
Objetivos	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos	9
Materiales y Métodos	10
1 Área y periodo de estudio	10
2 Animales a estudiar	10
3 Métodos y técnicas operativas	10
3.1 Diagnóstico precoz de gestación por Ultrasonografía	10
3.2 Metodología de trabajo	10
4 Identificación, dimensión e indicador de variables	11
5 Análisis estadístico	12
5.1 Estadística descriptiva	12
5.2 Curva de Kaplan and Meier	12
5.3 Regresión logística	12
Resultados	13
Discusión	15
Conclusiones	17
Capítulo 2	18
Introducción	19
Objetivos	22
Objetivo General	22
Objetivos Específicos	22
Materiales y Métodos	23
1 Material biológico	23
2 Metodología	23
2.1 Caracterización de la carcasa	23
2.2 Caracterización física de los bifés	24
2.3 Extracción de ARN, síntesis de cDNA y PCR en tiempo real	25
3 Análisis estadístico	27
Resultados	28

1	Caracterización de la Carcasa.....	28
2	Caracterización de los bifés.....	29
3	Expresión de genes.....	33
4	Análisis de coeficientes de Correlación	34
	Discusión.....	36
	Conclusiones	39
	Conclusiones Generales	40
	Referencias Bibliográficas	41
	Anexo	48
	Estadística	48
1	Diseños Experimentales	48
2	Variable	48
2.1	Tipos.....	48
3	Unidad Experimental.....	49
4	Error Experimental.....	49
5	Valor P	49
6	Curvas de Kaplan and Meier	49
7	Regresión Logística.....	49
	Biología Molecular.....	51
1	Biología Molecular.....	51
2	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	52
2.1	Reactivos necesarios	52
2.2	Mecanismo de la reacción	53
2.3	Variantes de la PCR	54
	Informe de Actividades Practicas	56
	Presentación General.....	57
	Objetivos	58
	Objetivo General	58
	Objetivos Específicos.....	58
	Área de Trabajo.....	59
	Campo	59
	Laboratorio.....	59
	Tareas Realizadas.....	60
	Actividades de Campo	60
	Actividades de Laboratorio	63
1.1.1	Esterilización de material de laboratorio.....	63

1.1.2	Manejo de micropipetas automáticas	64
1.1.3	Preparar material de laboratorio y realizar q-PCR	65
1.1.4	Análisis físico de carne	67
1.1.9	Área de ojo de bife	67
ii.	Veteado	68
iii.	Dureza	68
	Actividades Secundarias	68
	A. Gestor de referencias	69
	B. InfoStat	69
	Consideraciones Finales	70
	Practico 1	71
	Primera clase práctica alumnos faya: Condición Corporal e Instalaciones	71
	a. Actividades Desarrolladas	72
	b. Conclusiones	74
	c. Sugerencias	74
	Practico 2	75
	Segunda clase práctica: Cronología Dentaria	75
	a. Actividades Desarrolladas	76
	b. Conclusiones	77
	c. Sugerencias	78

Índice Tablas

Tabla 1.....	11
Tabla 2.....	13
Tabla 3.....	14
Tabla 4.....	14
Tabla 5.....	27
Tabla 6.....	35

Índice Figuras

Figura 1.....	11
Figura 2.....	13
Figura 3.....	28
Figura 4.....	29
Figura 5.....	30
Figura 6.....	31
Figura 7.....	32
Figura 8.....	33
Figura 9.....	34

PRESENTACIÓN GENERAL

La República Argentina es el noveno exportador mundial de carne bovina, después de la India, Brasil, Australia, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Uruguay, Paraguay y Canadá (1). En los últimos años, en Argentina, debido a la expansión agrícola, se ha generado un reordenamiento territorial de la ganadería con desplazamientos principalmente hacia la región del noroeste argentino (NOA) y noreste argentino (NEA) y en menor medida en la Patagonia (2).

La provincia de Santiago del Estero, perteneciente al NOA, cuenta con una superficie ganadera total de 203.525 hectárea; con una población total de 1.328.235 animales, siendo su principal actividad la producción de bovinos para carne, lo que la ubica en una de las 10 provincias con mayor cantidad de cabezas de ganado (3,4).

Sumado al reordenamiento territorial, la actividad ganadera está utilizando tecnologías y herramientas necesarias para mantener buenas tasas de producción a través del tiempo.

El objetivo general de este trabajo fue la aplicación de las tecnologías en sistemas ganaderos, como la ultrasonografía para el diagnóstico precoz de gestación, y la técnica de cadena de polimerasa (PCR) para la cuantificación de genes como marcadores de calidad de carne. La aplicación de estas tecnologías pretende obtener información que permita favorecer al sector ganadero y mejorar la producción bovina de la región.

Este trabajo está dividido en dos capítulos; el primero se basa en el uso de la ultrasonografía para determinar en qué momento del servicio se logró la mayor tasa de preñez, en un establecimiento ubicado en la región del noroeste argentino. El segundo, propone la determinación de las características de la carcasa y calidad de carne en dos sistemas de producción característicos de la provincia de Santiago del Estero.

Además, cuenta con una sección de anexos donde se detallan todos los términos relevantes y el desglose de actividades llevadas a cabo durante el trabajo final de intensificación para acceder al título de Ingeniero Zootecnista.

Capítulo 1

**Determinación del momento del servicio en
que se logró el mayor porcentaje de vacas
preñadas en un establecimiento ubicado en
la región del noroeste argentino**

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción ganadera tienen como objetivo obtener una cría por hembra por año, con servicios de periodos cortos (tres a cinco meses) y estacionados, coincidiendo la máxima oferta forrajera con la máxima demanda nutricional de las hembras en producción (5).

La eficiencia reproductiva de las hembras determinará el desempeño de los sistemas de producción ganadera; siendo la ultrasonografía una herramienta utilizada para tal fin (6). Dicha técnica, nace en 1880, con el desarrollo de los efectos piezoeléctricos; en 1950 (7), empezó a utilizarse en ganadería para fines de evaluación del aparato reproductor de la hembra bovina para el diagnóstico precoz de gestación (8), inseminación artificial (9), caracterización de estructuras ováricas (6), punción y aspiración folicular (10), diagnóstico de patologías (11), viabilidad embrionaria (12) y determinación del sexo fetal (13).

Esta técnica no afecta la viabilidad embrionaria/fetal, como lo ha descrito Mohamed (2010) (12), disminuyendo las causas iatrogénicas y se complementa con la palpación rectal (14).

Particularmente, al permitir diagnosticar precozmente una vaca vacía, posibilitará tomar medidas de manejo que permitan disminuir el intervalo entre partos, aprovechando la estacionalidad y la productividad de las pasturas, mejorando así las tasas de preñez (15).

Por lo tanto, la aplicación de esta herramienta que la tecnología nos ha brindado optimizará los recursos técnicos, profesionales y animales, eficientizando los objetivos de producción.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar en qué momento del servicio se logró el mayor porcentaje de vacas preñadas, en un establecimiento ubicado en la región del noroeste argentino.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Observar el aparato reproductor de la hembra bovina a través de la ultrasonografía.
- 2.- Determinar la edad gestacional mediante la medición embrionaria.
- 3.- Analizar los datos registrados para identificar el momento de servicio.

MATERIALES Y MÉTODOS

1 ÁREA Y PERIODO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA) “Francisco Cantos”, Ruta Nacional N° 9 km 1108, La Abrita, Santiago del Estero, Argentina (28°01'19" latitud sur, 64°13'51,6" longitud oeste). El periodo de estudio se inició en enero y finalizó en mayo de 2017, con un periodo y régimen de lluvias de 438 mm y una temperatura de 47°C (máxima absoluta) desde octubre 2016 a febrero 2017 (16).

2 ANIMALES A ESTUDIAR

Se utilizaron 139 vacas cruce Braford con 465 ± 12 kg peso vivo promedio y condición corporal 5 (escala 1-9) (17), en un diseño no experimental descriptivo y observacional. El grupo de animales estudiado fue manejado bajo el aval ético, legal y ambiental del Comité de Bienestar Animal del INTA (18). Durante todo el periodo de investigación las hembras fueron mantenidas con agua *ad-libitum* y *Megathyrus maximus*, cv. Gatton panic.

3 MÉTODOS Y TÉCNICAS OPERATIVAS

3.1 Diagnóstico precoz de gestación por Ultrasonografía

La preñez fue diagnosticada mediante la visualización y medición del embrión, utilizando un ecógrafo Aquila pro en tiempo real, con transductor lineal transrectal con una frecuencia de 7.5 Megahertz (MHz).

Siguiendo las normas del Comité de Bienestar Animal del INTA y con las precauciones higiénicas sanitarias necesarias; la ecografía ginecológica se realizó con animales en estación y por vía transrectal.

3.2 Metodología de trabajo

La metodología del momento de la evaluación comenzó en el **día 0** (10 de enero), haciendo una revisión general de todos los animales para asegurar que las

vacas estén vacías descartando la posibilidad de preñez por robo, luego de dicho diagnóstico se comenzó el servicio, con el ingreso del 5% de toros raza Braford evaluados morfológica, sanitaria y reproductivamente respecto al total de hembras.

En el **día 55 (4 de marzo)**, **77 (1 de abril)** y **120 (14 de mayo)**, se realizaron los diagnósticos de gestación, culminando con el servicio el día 120. La repetición de los días de diagnóstico se ejecutó con el objetivo de ver cómo iba la fertilización en el rodeo y verificar que las hembras preñadas no manifestaron pérdidas embrionarias entre los periodos evaluados (Figura 1).

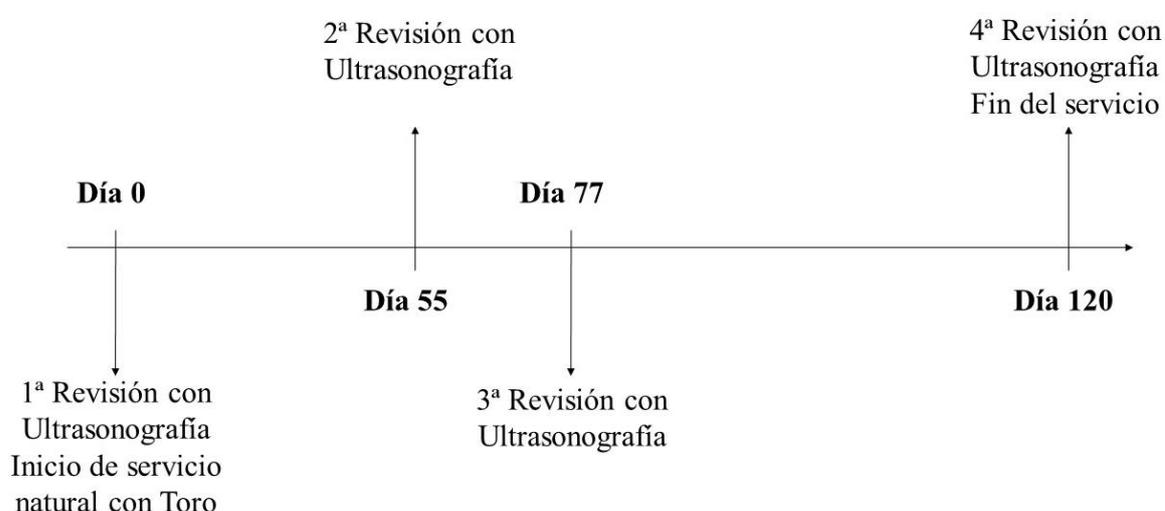


Figura 1. Determinación de la edad gestacional desde el día 0 hasta el día 120 (n°=139 hembras, 5% machos).

4 IDENTIFICACIÓN, DIMENSIÓN E INDICADOR DE VARIABLES

Tabla 1. Identificación, dimensión e indicador de las variables en estudio.

Identificación	Dimensión	Indicador
Embrión	Crecimiento diario	Ultrasonografía (milímetros/día)
	Embrión en útero	Ultrasonografía (presencia = 1 o ausencia = 0)

5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el software InfoStat, versión 2012. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (19).

5.1 Estadística descriptiva

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de la variable embrión utilizando al aparato reproductor de la hembra (útero) como unidad experimental.

5.2 Curva de Kaplan and Meier

Se utilizaron las curvas de supervivencia de Kaplan y Meier para estudiar la distribución de los porcentajes de animales preñados en relación al tiempo de servicio. Este análisis permite estudiar la supervivencia (días de preñez) de las unidades experimentales en función de una variable independiente dicotómica (presencia o ausencia y crecimiento diario del embrión) (20).

5.3 Regresión logística

Para saber en qué día del diagnóstico de gestación hubo mayor porcentaje de vacas preñadas se ajustó una regresión logística múltiple. Las variables involucradas en el estudio se denominaron como “presencia de embrión” (variable dependiente, vale 0 si la vaca está vacía y 1 si la vaca está preñada) en relación al día de determinación (variable de clasificación). Es decir, adopta solo dos valores posibles: preñada o vacía.

RESULTADOS

En la **tabla 2** se observa el porcentaje final de preñez de las 139 vacas sometidas a evaluación durante los 120 días que duró el servicio. El 86,3% (120/139) de vacas manifestó presencia y viabilidad del embrión; sin embargo, el 13,7% de vacas no tuvo presencia de embrión durante todo el periodo de estudio. Siendo mayor estadísticamente el porcentaje de vacas preñadas ($p < 0,0001$).

Tabla 2. Porcentaje de preñez de las 139 vacas durante los 120 días de evaluación. *Diferencias significativas ($p < 0,0001$).

Estado Reproductivo	
Preñadas	Vacías
86,3%* (120/139)	13,7% (19/139)

Como se observa en la **Figura 2**, las curvas de sobrevivencia de Kaplan and Meier construidas a partir de 139 vacas en estudio, indica el porcentaje de animales que se van preñando en función del tiempo transcurrido desde el inicio (día 0) hasta el final de servicio (120), el mayor porcentaje de preñeces (77,5%) se alcanzó en los primeros 40 días de servicio.

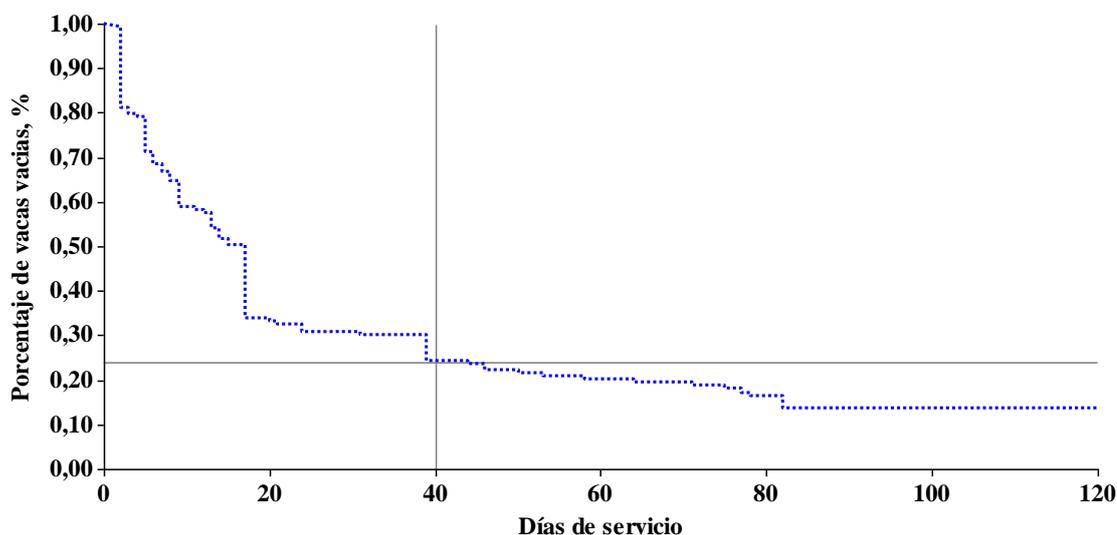


Figura 2. Curvas de sobrevivencia ($n^{\circ}139$ en azul), indica el porcentaje de animales que se van preñando en función del tiempo transcurrido desde el inicio (día 0) hasta el final del servicio (día 120). Líneas de corte (en negro) indican que el mayor porcentaje (77,5%) se alcanzó en los primeros 40 días de servicio.

En la **tabla 3** se resume los porcentajes de preñez obtenidos en cada uno de los días de evaluación, encontrando al día 55 del estudio el 66,9% (93/139) de las vacas con presencia y viabilidad del embrión, en cambio, el día 77 y 120 se evidencian porcentajes menores en el diagnóstico de preñez, siendo 8,6% (12/139) y 10,8% (15/139) respectivamente para cada uno de los días de determinación.

Tabla 3. Porcentaje de preñez obtenido en los días 55, 77 y 120 de evaluación del total de las 139 hembras. *Diferencias significativas ($p < 0,0001$).

Porcentaje de preñez obtenidos en los días 55, 77 y 120 de evaluación del total de las 139 hembras		
Día 55	Día 77	Día 120
66,9%* (93/139)	8,6% (12/139)	10,8% (15/139)

Observando en el primer diagnóstico de gestación a los 55 días post iniciado el servicio, donde se observó significativamente, el mayor porcentaje de preñez ($p < 0,0001$).

Del total de hembras preñadas ($n^{\circ} 120 = 100\%$) el mayor porcentaje de preñez se observó en el día 55 con un 77,5% (93/120), disminuyendo significativamente los días 77 y 120 posteriores al inicio del servicio con valores de 10,0% (12/120) y 12,5% (15/120) respectivamente ($p < 0,0001$).

Tabla 4. Porcentajes obtenidos en los días 55, 77 y 120 del total de hembras preñadas. * Diferencias significativas ($p < 0,0001$).

Porcentajes obtenidos en los días 55, 77 y 120 del total hembras preñadas		
Día 55	Día 77	Día 120
77,5%* (93/120)	10,0% (12/120)	12,5% (15/120)

DISCUSIÓN

Bajo estas condiciones de estudio, los resultados manifestaron claramente que la población de vacas observadas tuvo una mejor tasa de preñez antes del día 55 después de iniciado el servicio, siendo inferiores los días 77 y 120.

Coincidiendo estos resultados con otros autores (20), donde obtuvieron el mayor porcentaje de preñez en los primeros 40 días de servicio.

Fundamentando las posibles causas de esta situación como calidad y disponibilidad de pasturas, la capacidad reproductiva de los toros, la presencia y edad de las crías (20).

Es evidente que los primeros meses de servicio (enero - febrero) concordó con la mejor calidad y cantidad de pasturas, en el momento adecuado para alcanzar la mejor eficiencia reproductiva.

Asimismo, al referirnos a los toros, teniendo como posibilidad que según como avanza el servicio va reduciendo la capacidad reproductiva, influenciando e impactando en la tasa y distribución de la preñez (20). Como han descrito otros autores el momento de ingreso y duración del servicio es un punto de partida para una producción eficiente (21).

Además, se debe considerar que, para explicar el momento de mayor fertilidad de las hembras, dicho coincidió con la etapa de balance energético positivo de las mismas, en combinación con un buen periodo previo pluviométrico que proporcionó mayor y mejor calidad de forraje a las madres.

Posiblemente posterior al día 60 de iniciado el servicio se comience a desencadenar un marcado balance energético negativo, disminuyendo la disponibilidad de combustibles oxidables de corto o largo plazo, afectando la síntesis y liberación de hormona liberadora de gonadotropina (GnRh) (22) y hormona luteinizante (LH) (23) afectando la producción de estrógeno a nivel de ovario (24), como resultado alterando la ciclicidad de las hembras. Considerando lo descrito por *Bó et al.* (25), las hembras con un buen régimen alimenticio en condiciones óptimas pueden alcanzar un 90% de retorno de ciclicidad antes de los 60-70 días posparto

(25), nos permite valorar la posibilidad de que la presencia, edad de la cría al pie de la madre y producción de leche es un factor importante en el retorno de celo y preñez en las hembras.

Complementando con una fundamentación más sólida, en que la relación de nutrición y lactancia son los que regulan la conducta reproductiva en el periodo de postparto en vacas para carne (26,27). La influencia de la lactancia en la reproducción interactúa con la producción de leche y el balance energético negativo en el que se encuentra el animal, definiendo esta última como la ingesta de energía consumida no satisface la necesidad energética requerida para mantenimiento, producción de leche y gestación (5).

Los periodos de mejor oferta forrajera, coinciden con la época de mayor demanda nutricional del rodeo (60 días pos parto) y esta con el pico de lactancia de las hembras en producción con cría al pie, pueden satisfacer sus necesidades nutricionales y mantener su balance energético positivo (5). El aumento de la ingesta de nutrientes después del parto estimula la secreción de hormonas anabólicas, originando la deposición de grasa, acorta el intervalo postparto al estro y aumenta tasa de preñez en el primer celo (28).

Eventualmente, no podemos definir como factor de mayor importancia de uno respecto al otro y es probable que los tres factores mencionados influyan en su medida en la distribución y edad gestacional. Lo que si queda claro es la importancia de trabajar respecto a la recuperación de ciclicidad de las hembras, haciendo eficiente la temporada de servicio y lograr mayor número de vientres preñados en periodos cortos.

Por lo tanto, un servicio corto y estacionado significa realizar manejos eficientes con pariciones homogéneas que coincidan con los regímenes pluviométricos, la oferta forrajera y la capacidad reproductiva de los toros.

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos bajo estas condiciones del estudio se pueden realizar las siguientes conclusiones:

Las vacas sometidas a servicio durante 120 días, lograron el mayor porcentaje de preñez en los dos primeros meses, siendo insignificante los porcentajes de preñez logrados posterior a los 60 días de iniciado el servicio.

Los servicios cortos y estacionales son efectivos para alcanzar altos índices reproductivos, generando buenos porcentajes de cabezas de parición que coincidirán con los meses de mayor oferta forrajera debido a las precipitaciones en el lugar geográfico que se encuentre el establecimiento.

Capítulo 2

**Determinación de la expresión de genes
asociados al contenido de grasa
intramuscular en dos sistemas de producción
en la provincia de Santiago del Estero**

INTRODUCCIÓN

En los últimos años los conceptos tales como: calidad de carne, carne de calidad, producto de calidad y garantía de calidad, entre otros, han ocupado el centro de atención tanto en la investigación como en la producción y comercialización de la carne vacuna. La calidad puede ser definida como el conjunto de características cuya importancia relativa le confiere al producto un mayor grado de aceptación y un mayor precio frente a los consumidores o frente a la demanda del mercado.

La satisfacción del consumidor de carne depende de un conjunto de propiedades tales como su terneza, jugosidad y sabor. Los consumidores seleccionan alimentos no solo por su gusto y satisfacción, sino por sus efectos en la nutrición y en la salud humana (29). El valor nutritivo de la carne es conocido, su contenido proteico va desde 15-20% y es considerado nutriente esencial en todas las etapas de la vida, pero de mayor importancia en el desarrollo fetal, infantil y juvenil por su contribución al desarrollo físico y mental (30).

Argentina es considerada a nivel mundial como país productor de alimentos, especialmente de granos y carne, dado el gran volumen de comercialización a países extranjeros. El sistema de producción es clave en definir la composición química de la carne y su pH final, aspectos claramente relacionados con la calidad de la carne. Los sistemas de producción empleados en Argentina, permiten lograr carnes con un excelente perfil de ácidos grasos. Realizar suplementaciones estratégicas antes de la faena, junto con medidas de manejo que minimizan el estrés de los animales, permiten lograr niveles de glucógeno muscular que aseguran adecuados descensos de pH, logrando un adecuado color, terneza y jugosidad de la carne (31). El nivel nutritivo al que se somete a los animales, en especial el energético, afecta la palatabilidad de la carne, pero tanto o más lo hace la genética o la edad (32).

La grasa intramuscular o “veteado” se ha convertido en un elemento de calidad de canal en la industria de carne bovina (33). El veteado es el grado de grasa intramuscular (IMF) en una sección transversal del tejido del músculo *longissimus dorsi* (LM). El veteado en el ganado es un componente importante de los rasgos que influyen en las variables de calidad de la carne, incluyendo la jugosidad, la ternura y

el gusto. En carne bovina, uno de los criterios de selección a la hora de la compra es el contenido de grasa, dado que ésta es una fuente importante de grasas saturadas, que se asocian con enfermedades cardiovasculares y obesidad, entre otros problemas (34).

La grasa intramuscular está influenciada por una serie de factores, como la raza, el genotipo, el sexo, la edad y la nutrición (35). El veteado aumenta con el incremento del nivel energético de la ración, independientemente del sexo o raza. Según Zea (2008), los animales alimentados con ensilado de maíz tienen mayor cantidad de grasa intramuscular que los animales alimentados con pienso (32).

En la producción bovina, existe un gran interés en controlar la calidad y cantidad de la carne y el conocimiento de los genes que afectan el tamaño muscular y otras propiedades cárnicas como el contenido de grasa intramuscular y el sabor, puede ayudar a los criadores a seleccionar animales con las características deseadas.

Desde el punto de vista del desarrollo y crecimiento animal, el depósito de grasa intramuscular es el último paso y se realiza en la terminación de los animales. Se ha determinado que, durante el desarrollo y crecimiento de los animales, existe una interacción entre adipogénesis y miogénesis. Aumentos en el contenido de fibras musculares genera un menor contenido de grasa intramuscular (36). El músculo esquelético es considerado como uno de los tejidos primarios en la homeostasis de la glucosa. Estudios realizados en ratas demuestran que, dietas con elevado contenido energético, aumentan la expresión del gen del transportador de glucosa 4 (GLUT4) (37).

Se ha determinado también, que la expresión del gen GLUT4 se vio aumentada el músculo esquelético del ganado doble musculatura con el gen de la miostatina inactivado, con respecto a animales sin dicha mutación (38). Estos autores sugieren que el gen de la miostatina, (MSTN, o factor de crecimiento y diferenciación 8), interviene en el metabolismo de glucosa y la acumulación de grasa comportándose como un inhibidor directo de la expresión del gen GLUT4.

Por otro lado, se ha determinado que el gen del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) modifica su expresión en función de la dieta. El exceso de ingesta de energía aumenta el estado de energía celular y con ello la expresión génica

lipogénica mediante la promoción de la secreción de IGF1, causando un aumento del contenido de grasa (39).

Teniendo en cuenta lo descrito, el presente trabajo plantea como hipótesis que la suplementación de animales con silo de maíz produce diferencias en el contenido de grasa intramuscular, como así también en la expresión de genes marcadores de calidad de carne. La información obtenida de estos estudios no sólo nos permitirá comprender el mecanismo molecular que determina las propiedades organolépticas mencionadas, sino que también será de gran importancia para mejorar la producción bovina en la provincia de Santiago del Estero.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar parámetros productivos de calidad de carne en sistemas productivos de Santiago del Estero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Determinar las características de la canal de los animales de G1 y G2.
- 2- Caracterizar físicamente los bifes de los animales de G1 y G2.
- 3- Cuantificar el contenido de grasa intramuscular en los bifes de los animales G1 y G2.
- 4- Analizar la expresión de los genes GLTU4, IGF1 y MSTN en muestras de *longissimus dorsi* de los animales de G1 y G2.

MATERIALES Y MÉTODOS

1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se trabajó con novillos categoría cuota Hilton, faenados en la provincia de Santiago del Estero durante los meses de Marzo y Abril de 2016. Los animales fueron sacrificados en el Frigorífico Forres Beltrán siguiendo los protocolos de Bienestar Animal de la Unión Europea.

Se tomaron al azar 15 animales provenientes de un sistema de manejo de **pastoreo exclusivo (G1)** y 15 animales provenientes de un sistema de manejo de **pastura suplementado con silo de maíz (G2)**, durante los últimos 120 días previos a la faena.

En el momento del sacrificio se tomaron 500 mg de músculo para realizar análisis de expresión de genes. Los mismos fueron almacenados a -70°C hasta su posterior análisis.

Los 30 bifos del músculo *longissimus dorsi* provenientes de las carcasas izquierda de cada animal, fueron despostados, con un periodo de 2 días de maduración. Luego fueron envasados al vacío y trasladados a los Laboratorios Centrales del CITSE donde fueron almacenados a -70°C hasta su posterior análisis.

2 METODOLOGÍA

2.1 Caracterización de la carcasa

Se determinó el peso y las características de la carcasa teniendo en cuenta el Sistema de Graduación Argentino (Consejo Nacional de Carnes, Resolución J-378/73 of SAGPSyA). El grado de conformación de las canales fue evaluado de manera visual en función del contenido de masa muscular. El grado de conformación toma valores entre 1 y 7; los valores superiores indican una mejor conformación (JJ=7, J, U, U2, N, T, A=1).

El grado de grasa fue determinado visualmente en función del contenido y distribución de la subcutánea. Se gradúa del 1 al 4 y valores elevados indican una capa de cobertura de gran espesor.

2.2 Caracterización física de los bifes

2.2.1 *Veteado y Área de ojo de bife (AOB)*

Se determinó el marmoleado (o veteado) y el área de ojo de bife (AOB), a nivel de la doceava costilla, de los bifes con dos días de maduración, según lo descrito por Latimori y colaboradores (40). En primer lugar, se realizó manualmente la calcografía del AOB del músculo congelado, y luego se midió el área utilizando un planímetro digital Koizumi KP-92N (PLACOM) y regla milimétrica. Una vez que las muestras fueron descongeladas, se compararon con los standards de USDA para determinar el veteado.

2.2.2 *Dureza*

Se determinó la dureza realizando un análisis de perfil de textura utilizando una prueba cilíndrica de 10 mm de diámetro acoplada al texturometro TA.XT Plus (41). La muestra de carne de 1 cm x 1 cm fue colocada debajo de la prueba cilíndrica. Se utilizó como velocidad de prueba 3,0 mm / seg. Se registró el valor área 1 (Newtons) que corresponden al área en milímetros cuadrados obtenida durante la primera compresión. Este valor es proporcional al trabajo realizado durante la primera mordida.

2.2.3 *Determinación del contenido de grasa intramuscular*

Se determinó el contenido de grasa intramuscular por duplicado según el método de Soxhlet AOAC (42) mediante destilación continua con hexano a partir de 5g de carne, utilizando un equipo Soxtec System HT 1043 Extraction Unit marca Tecator (Sweden) para la extracción de grasa y una estufa ORL – Hornos eléctricos modelo NZ-1105 (Argentina) (40).

Se tomaron por duplicado 5 g (m) de cada muestra y se secaron en estufa (ORL, Argentina) a $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 12 h. Luego se colocaron en desecador por 20 min y posteriormente se molieron con mortero agregando arena purificada para

facilitar la tarea. Se colocó el material de cada muestra en el dedal de extracción y se tapó con algodón desgrasado. Los vasos de aluminio se secaron por 4 horas a $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ y luego se pesaron, registrando m_1 . Luego se adicionaron 40 ml de hexano a cada vaso de aluminio y se los introdujo en el sistema Soxhlet junto con el dedal de extracción conteniendo la muestra. Se extrajeron las muestras con el solvente durante 1 h y 30 minutos en posición “boiling”. Luego se movió a “rinsing” y se continuó por 2 h. Una vez terminada la extracción, se dejó condensar el solvente por 15 minutos, se apretó “air” y se elevó la palanca de evaporación (5 minutos) para eliminar el solvente remanente. Se dejaron secar los vasos con la grasa en estufa a $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 4 h. Luego se enfriaron en desecador por 20 minutos y se pesaron (m_2). Los resultados se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido grasa intramuscular (\%)} = (m_2 - m_1) / m \times 100$$

Donde:

m: peso de la muestra

m_1 : tara del vaso de aluminio solo

m_2 : peso del vaso de aluminio con grasa

2.3 Extracción de ARN, síntesis de cDNA y PCR en tiempo real

2.3.1 Extracción ARN

Se extrajo ARN total de las muestras de músculo mediante el método de fenol-cloroformo empleando TriReagent® (Sigma) siguiendo las instrucciones del fabricante, con algunas modificaciones. Las muestras se homogenizaron con 500 μl de TriReagent® utilizando pestle y pipeta, se agregó 100 μl de cloroformo y se agitó por 15 segundos. Se centrifugó a $12.000 \times g$ 15 min (4°C) y se transfirió la fase superior acuosa a un nuevo tubo al cual se le agregó 125 μl de isopropanol. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se centrifugaron a $12.000 \times g$ 10 min (4°C). Se removió el sobrenadante y se lavó el pellet celular con 600 μl de Etanol 75%. Las muestras fueron sometidas a agitación por vortex y posterior centrifugación a $7.500 \times g$ 5 min (4°C). Las muestras de ARN total se re suspendieron en H_2O libre de ribonucleasas y se determinó la concentración e integridad del ARN obtenido, cuantificando la absorbancia a 260nm utilizando el NanoDrop 2000c UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific), y por electroforesis en geles de agarosa teñidos con Syber Green (Biotium).

2.3.2 Síntesis de cDNA

Previo a la síntesis de cDNA se realizó el tratamiento con la DNAsa (AMPD1-Sigma) según indica el fabricante. El ARN se incubó 15 min a temperatura ambiente con el buffer de reacción 10X y la DNAsa I. Posteriormente se agregó la solución STOP y se calentó a 70°C por 10 minutos. La síntesis de cDNA, se realizó con 1.200 ng de RNA total siguiendo el protocolo indicado por el fabricante de la enzima Super ScriptIII (Invitrogen). Se agregó 1 µl de oligo dT, 1 µl dNTPs y H₂O estéril hasta completar los 13 µl. La mezcla se llevó al termociclador a 65°C por 5 min, seguido de una incubación en hielo durante 1 minuto. Posteriormente se agregó 4 µl del Buffer 5X 1^o cadena, 1 µl de DTT 0.1 M, 0,5µl RNAsin y 1 µl de la enzima Super Script III RT. Se incubó a 50°C por 60 minutos, seguidos de 15 min a 70°C. Las muestras fueron almacenadas y conservadas a -70°C hasta su posterior análisis.

2.3.3 Análisis de la expresión de genes por PCR cuantitativa

Los niveles expresión de los genes seleccionados fueron determinados por medio de RT-qPCR utilizando los cebadores específicos diseñados utilizando el programa online Primer-BLAST e Integrated DNA Technologies (IDT). Los cebadores (ver Tabla 1) fueron previamente validados para obtener una eficiencia adecuada, y su especificidad fue confirmada en electroforesis en geles de agarosa al 1.5%. La reacción en cadena de la polimerasa se realizó en un volumen final de 10 µL, conteniendo 3 µL de cDNA [dilución 1:3], 0.25 mM de primers forward y reverse, y 5 µL de la Supermix iTaq™ Universal SYBR® Green (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) en el termociclador CFX96 Real-Time (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). El programa de PCR constó de una desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 °C, seguida de 50 ciclos de 30 seg a 95 °C, annealing de 30 seg a 58 °C y extensión de 30 seg a 60 °C. Se realizaron controles negativos para excluir la posibilidad de contaminación con ADN.

Tabla 5. Primers utilizados en RT-qPCR

Genes	Primers Forward y Reverse, Tamaño del Amplicón (A, bp), Número de Acceso (AN), Eficiencia (E)
GLUT4	F: CCACCAGGCACACTTACCACA R: CTCTTCCTTCCCAGCCACTGA A: 113 pb; AN: AB005286; E: 107
GPAT1	F: GGCCATGATCTTGCTGTAACCT R: GCATCGAGATTCTGTGGAGTG A: 144 pb; AN: NM_001001525.2; E: 102
IGF1	F: AGTTGGTGGATGCTCTCCAGT R: CACTCATCCACGATTCCTGTC A: 115 pb; AN: NM_001077828; E: 100

3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó la influencia de la suplementación con silo de maíz en características de la canal y de la carne utilizando el software InfoStat versión 2016. Se realizaron análisis de inferencias basadas en dos muestras para comparar el contenido de grasa intramuscular, el vetado y la expresión de genes entre los animales G1 y G2. El análisis de expresión de genes se realizó utilizando el método $\Delta\Delta Cq$ utilizando el Software CFX Manager versión 3.0 (Bio-Rad Laboratories). Se realizaron 15 réplicas biológicas, y se informó el promedio de Cq de los triplicados técnicos. Los datos fueron normalizados con el promedio geométrico de dos genes de referencia, GAPDH y RPLP0. Todos los análisis se realizaron siguiendo las recomendaciones MIQE. Posteriormente se realizó un análisis de correlación entre las variables previamente mencionadas. Para todas las pruebas el nivel de significancia fue $P < 0,05$.

RESULTADOS

1 CARACTERIZACIÓN DE LA CARCASA

Se realizó una caracterización de las carcasas de los animales utilizados. Se determinó, el grado de conformación, el contenido de grasa y el peso de la carcasa caliente. En la **Figura 3**, podemos observar que, para el grado de conformación, los animales alimentados en un sistema de pastoreo exclusivo, obtuvieron puntajes similares respecto a los animales con suplementación de silo de maíz, con valores de 6 y 5,8, respectivamente. Sin embargo, para esta variable no se observaron diferencias significativas ($p=0,0824$).

En el contenido de grasa de la carcasa se observaron diferencias significativas ($p=0,0001$) entre los grupos, donde los animales del grupo 1 mostraron menos cobertura grasa que los animales del grupo 2 con valores de 1 y 1,67 respectivamente.

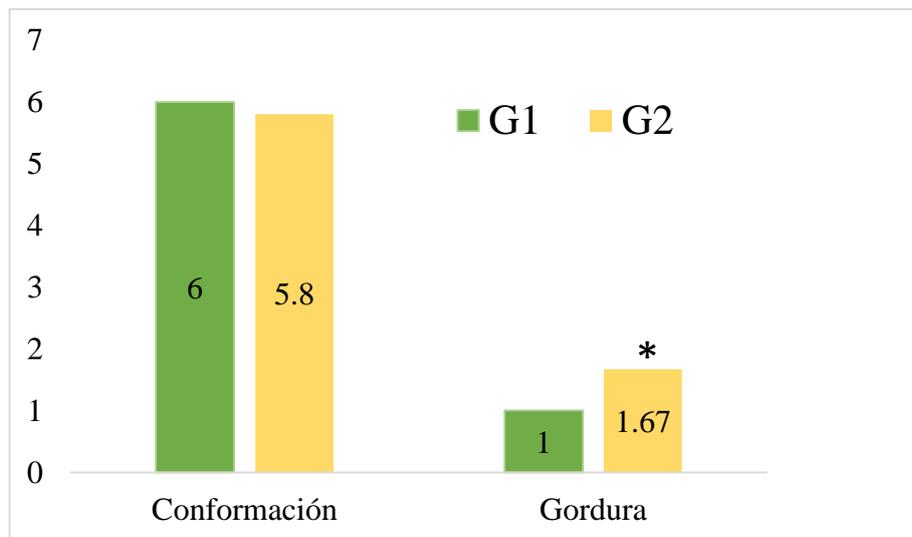


Figura 3. Gráfico de barras de las características de las carcasas. En la variable conformación no se observan diferencias significativas ($p=0,0824$). En la variable cobertura de grasa se observan diferencias significativas ($p=0,0001$) entre los grupos de estudio G1: novillos en pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplemento de silo de maíz durante 120 días. *Diferencia significativa ($p\text{-valor}<0,05$) entre tratamientos.

En la **Figura 4**, se describe la variación en el peso de las carcasas calientes (PCC). Para esta variable se ha determinado que si hay diferencias significativas

($p < 0,0001$). Los animales a pastoreo exclusivo mostraron ser más livianos (264,4 Kg) que los animales alimentados con suplementación de silo de maíz (298,53 Kg).

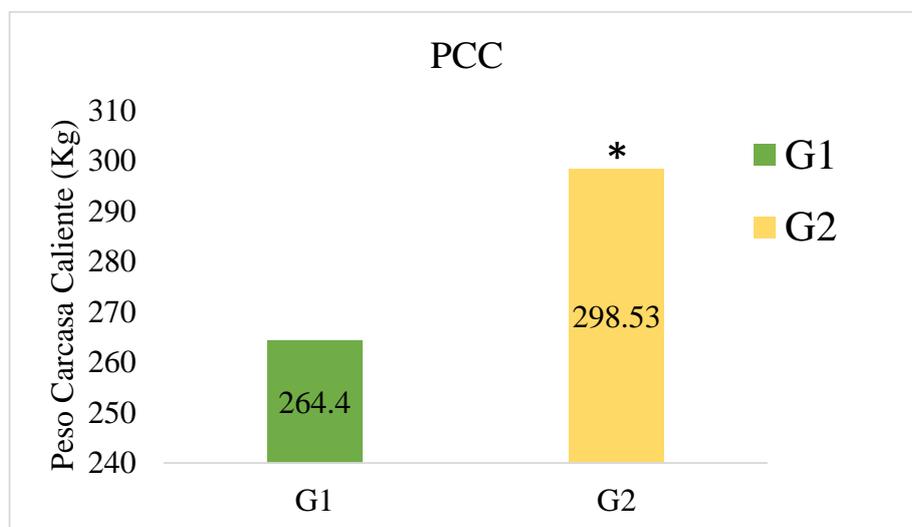


Figura 4. Gráfico de barras de peso de la carcasa caliente (PCC). Se observa diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre tratamientos G1: novillos criados en pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplemento de silo de maíz durante 120 días. *Diferencia significativa ($p\text{-valor} < 0,05$) entre tratamientos.

2 CARACTERIZACIÓN DE LOS BIFES

En la **Figura 5** se puede observar, la variable área ojo de bife (AOB), en la cual no se encontraron diferencias significativas ($p = 0,1233$). Los resultados de este ensayo, demuestran que los animales de ambos grupos tienen AOB similares con valores de 64,54 y 60,16 respectivamente.

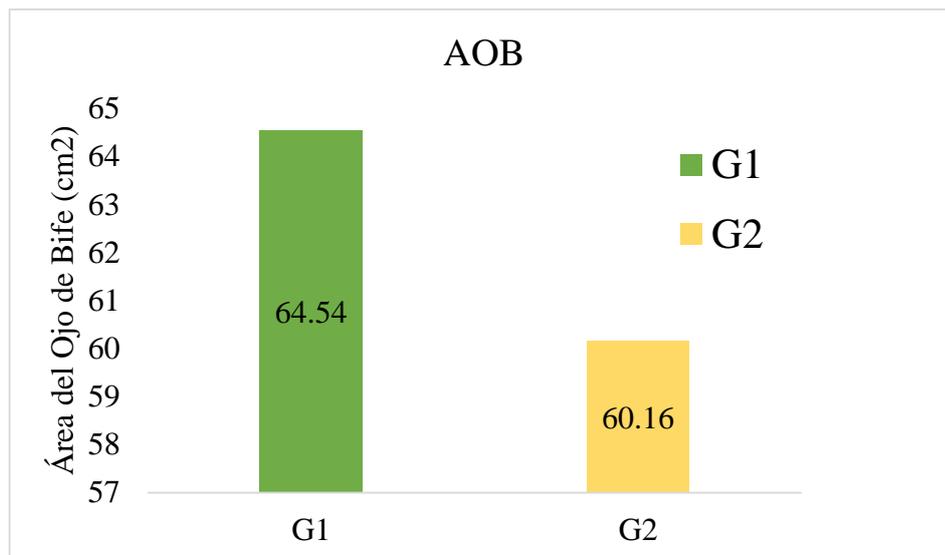


Figura 5. Gráfico de barras del área de ojo de bife (AOB). No se observaron diferencias significativas ($p=0,1233$) entre los grupos. G1: novillos criados en pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplementación de silo de maíz durante 120 días. *Diferencia significativa ($p\text{-valor}<0,05$) entre tratamientos.

Al analizar el veteado de los bifes se observa que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,1509$), es decir, la distribución de la grasa visualmente es semejante tanto en novillos alimentados a pastoreo exclusivo como en novillos terminados con suplementación con silo maíz. Sin embargo en la **Figura 6**, se puede observar que, en los novillos alimentados a pastoreo exclusivo el veteado del bife toma valores entre 1 y 2, obteniendo mayor frecuencia en 1 y 1,5. En los novillos terminados con suplementación con silo de maíz el veteado de los bifes toma valores comprendidos entre 1 y 3, obteniéndose mayor frecuencia en el grado 2 seguido de 1,5. Por lo tanto, los animales del G2 son ligeramente superiores en la distribución grasa que los novillos del G1, lo que va aparejado de menor área de ojo de bife.

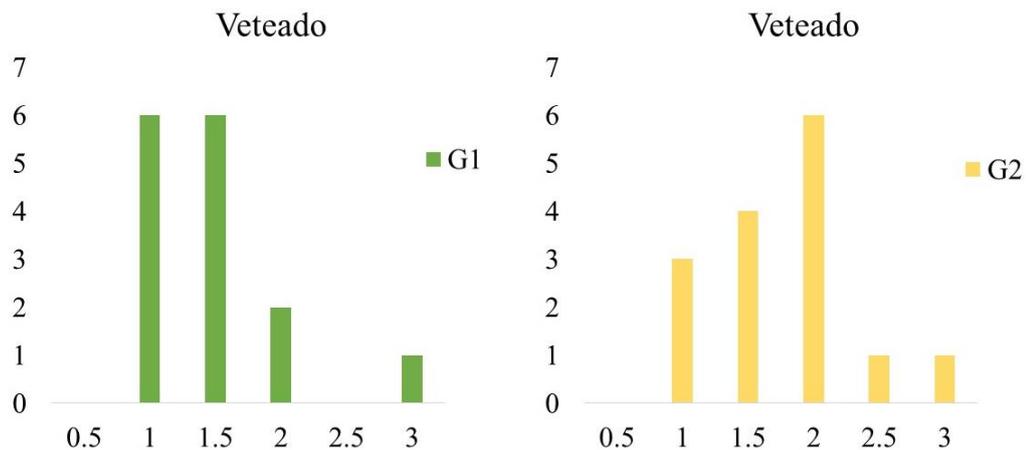


Figura 6. Histograma de distribución de frecuencias de la distribución y contenido graso (veteado) de los bifes. G1: novillos alimentados a pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplementación con silo de maíz.

Los datos obtenidos en el proceso de determinación del contenido de grasa intramuscular fueron analizados y la **Figura 7** nos muestra la diferencia significativa ($p=0,0155$) que existe entre el grupo de animales alimentados a base de pasturas comparados con los animales con suplementación con silo de maíz. El porcentaje de grasa intramuscular fue menor para los novillos G1 que obtuvieron 2,21% respecto a los novillos G2 los cuales poseen 3,47% de grasa intramuscular. Después de observar los resultados obtenidos, podemos concluir que el contenido de grasa intramuscular coincide con los datos de veteado, es decir, en novillos del tratamiento G1 la distribución de la grasa en el bife es inferior por poseer menor contenido de grasa intramuscular, caso contrario en los novillos del tratamiento G2.

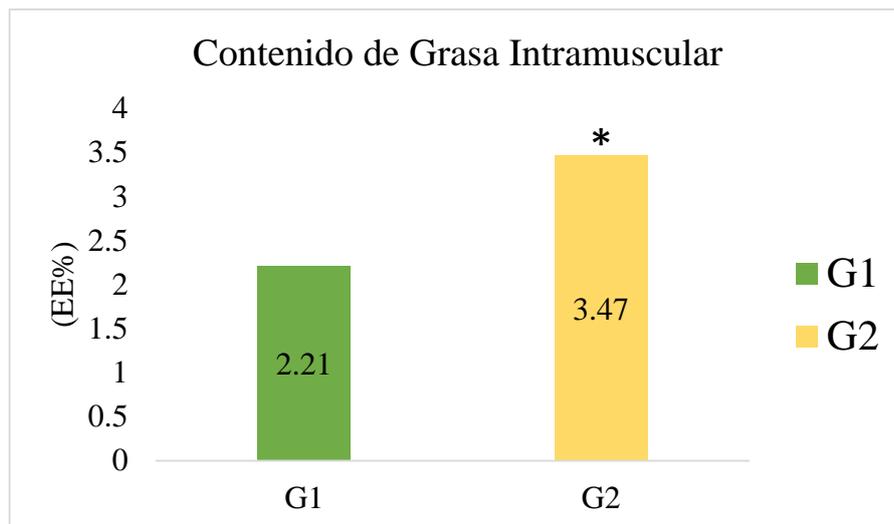


Figura 7. Gráfico de barras del contenido de grasa intramuscular (EE%). Se encontraron diferencias significativas ($p=0,0155$) siendo G1 (2,21%) significativamente inferior a G2 (3,47%). G1: novillos criados en pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplemento de silo de maíz durante 120 días. *Diferencia significativa ($p\text{-valor}<0,05$) entre tratamientos.

Para concluir con las determinaciones realizadas en los bifes de los animales, se evaluó la dureza de la carne, realizando un análisis de perfil de textura. Para esta característica no se observa diferencias significativas en los tratamientos ($p=0,4499$). En los bifes de novillos alimentados a pastoreo exclusivo la fuerza necesaria para deformar las fibras musculares es levemente inferior que en los bifes de novillos terminados con suplementación con silo de maíz en los cuales es necesaria mayor fuerza. Los valores obtenidos fueron 91,46 para novillos G1 y 93,24 en novillos G2 (**Figura 8**).

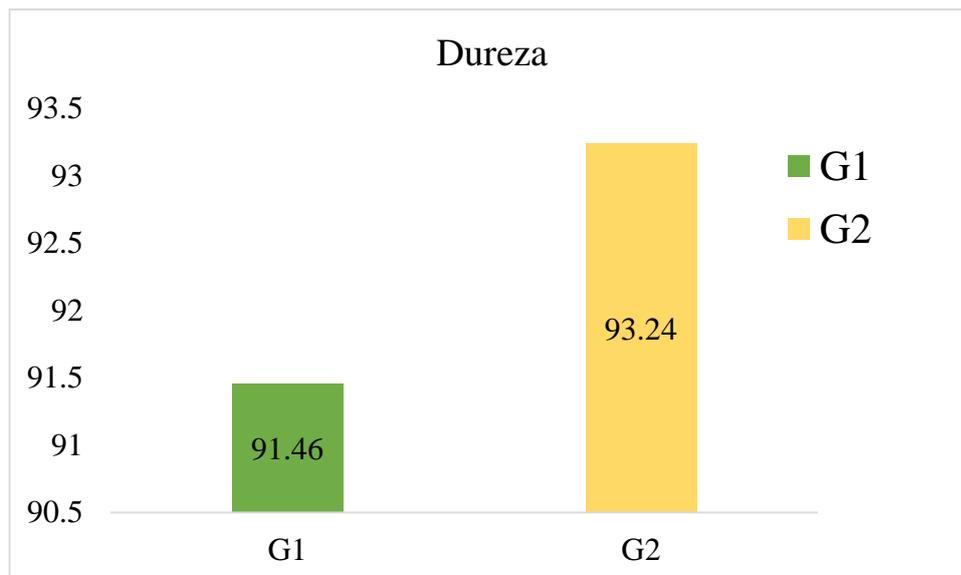


Figura 8. Gráfico de barras de dureza en los bifos. No existen diferencias significativas ($p=0,4499$) entre los tratamientos G1: novillos alimentados a pastoreo exclusivo y G2: novillos terminados con suplementación de silo de maíz.

3 EXPRESIÓN DE GENES

Se evaluaron los genes IGF1, GLUT4 y MSTN como indicadores de calidad de carne, ya que los mismos participan en los procesos de adipogénesis y miogénesis. La **Figura 9** revela que la estrategia de terminación utilizada en el presente trabajo genera diferencias significativas en la expresión de los genes IGF1 y GLUT4 ($p=0,049$). El gen IGF1 se expresa 1,24 veces más en los animales suplementados; mientras que para el gen GLUT4 se observó un aumento del nivel de expresión de 2,18 veces en los animales del G2 respecto a los animales del G1. Refiriéndonos al gen MSTN, el nivel de expresión es 0,34 veces más en los novillos alimentados con suplementación con silo de maíz respecto a los novillos terminados a pastoreo exclusivo. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la expresión de este gen ($p=0,46$).

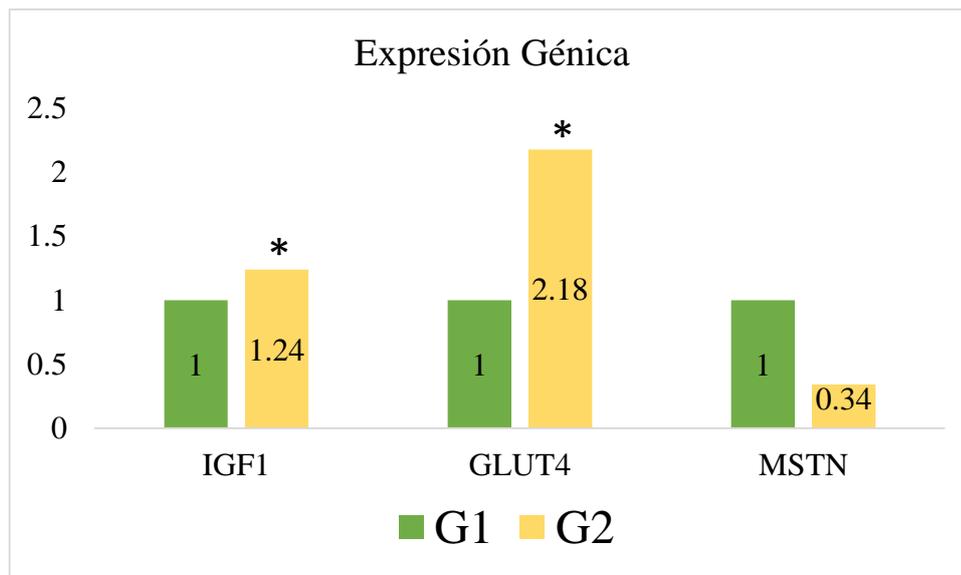


Figura 9. Gráfico de barras de la expresión génica. Existen diferencias significativas ($p=0,049$) en los genes IGF1 y GLUT 4 en G2 comparados con G1. No hay diferencias significativas en el gen MSTN entre tratamientos. *Diferencia significativa ($p\text{-valor}<0,05$) entre tratamientos.

4 ANÁLISIS DE COEFICIENTES DE CORRELACIÓN

El análisis de correlación realizado dio lugar a los coeficientes de correlación de Pearson que se muestran en la **Tabla 6**. Se puede observar que a medida que aumente la cobertura grasa, el peso de la carcasa caliente incrementará ($p=0,0035$). En lo referente al contenido de grasa intramuscular, cuando su cantidad aumente el área de ojo de bife disminuirá ($p=0,0431$). En cambio, a mayor contenido de grasa intramuscular, la distribución de grasa, expresada como veteado, incrementará en los bifés ($p=0,0004$).

El gen IGF1 se encuentra altamente correlacionado con el gen GLUT4 ($p<0,0001$), y ambos están relacionados de manera inversa con la MSTN ($p<0,0001$). Esto implica que a medida que aumente el IGF, lo hará también el GLUT4, mientras que la expresión de MSTN se verá disminuida. A su vez, la expresión de estos genes se encuentra correlacionada con las características de los bifés y de la carcasa. El aumento de la expresión de los genes IGF1 y GLUT4, generará aumento en el espesor de la cobertura grasa ($p<0,0001$), en el peso de la carcasa caliente ($p<0,0001$) y el contenido de grasa intramuscular ($p=0,0155$). Estas características se verán afectadas de manera inversa con la expresión del gen de la miostatina.

Tabla 6. Coeficientes de correlación de Pearson. *Diferencias significativas (p<0,05) entre las características.

	Confor.	Cobertura Grasa	PCC (Kg)	AOB (cm2)	Grasa	IGF1	GLUT4	MSTN	Veteado
Cobertura	-0.24								
PCC (Kg)	-0.28	0.52*							
AOB (cm2)	-0.02	-0.27	0.04						
GRASA	-0.04	0.33	0.04	-0.37*					
IGF1	-0.33	0.71*	0.74*	-0.29	0.44*				
GLUT4	-0.33	0.71*	0.74*	-0.29	0.44*	1.00*			
MSTN	0.33	-0.71*	-0.74*	0.29	-0.44*	-1.00*	-1.00*		
Veteado	-0.13	0.17	-0.03	-0.17	0.61*	0.27	0.27	-0.27	
Dureza	0.05	0.09	-0.11	-0.12	-0.08	0.14	0.14	-0.14	-0.05

DISCUSIÓN

La producción de bovinos para carne tiene como objetivo proveer carnes de calidad. El contenido de grasa intramuscular es muy importante para los consumidores. En algunos países un elevado contenido de grasa intramuscular es considerado positivo, mientras que en otros países es una característica no deseada. En ambos casos, el conocimiento de la bioquímica y genómica del músculo es de gran utilidad para comprender los mecanismos biológicos que determinan el contenido de grasa intramuscular.

Múltiples trabajos realizados en Argentina en bovinos para carne sugieren que existen aspectos de importancia relacionados a los efectos *ante-mortem* (alimentación: pastoreo y suplementación) y *post-mortem* en los parámetros físicos, químicos y sensoriales de la calidad de la carne (43). Se ha determinado que el sistema de manejo de los bovinos puede influenciar las características de la carcasa de los animales, como así también la carne producida por ellos. En Santiago del Estero se pueden encontrar diferentes sistemas de producción de bovinos para carne, siendo los más frecuentes animales criados y terminados en pasturas mega térmicas o animales criados a pasto y engordados con suplementación. En este trabajo se compararon novillos Braford de la categoría cuota Hilton alimentados a pastoreo exclusivo, y animales alimentados con suplementación con silo de maíz.

Se observaron diferencias a nivel de carcasa, útiles para los productores, y a nivel de los bifes obtenidos del músculo *longissimus dorsi*, las cuales serán percibidas por los consumidores.

En concordancia con otros autores, la suplementación realizada produce diferencias significativas en las características peso de carcasa caliente y conformación. Los animales terminados con silo de maíz tienen carcasas más pesadas que los animales engordados exclusivamente con pasto (44,45). La conformación de los animales terminados con suplementación suele ser mejor que la de los animales terminados a pasto (46–51).

La caracterización realizada en los bifes mostró resultados con diferencias significativas. El área de ojo de bife de los animales con suplementación con silo de

maíz es menor que la de los alimentados a pastoreo exclusivo. Sin embargo, Realini y colaboradores, encontraron que el área de ojo de bife de los animales alimentados a base de concentrado alcanzó mayores valores en razón a los animales en pasturas (51). Se debe tener en cuenta que en el trabajo de Realini, se comparó un sistema intensivo, con suplementación de vitaminas con un sistema de pastura con gramíneas perennes. En comparación con un trabajo reciente realizado en Tucumán con novillos Braford, los animales estudiados muestran un área de ojo de bife menor, pero un mayor peso de carcasa caliente (52).

El contenido de grasa intramuscular del músculo *longissimus dorsi* difirió significativamente como resultado de los tratamientos de alimentación. La carne de los novillos criados en sistemas extensivos tenía menor contenido de grasa intramuscular en comparación con la carne de los novillos terminados con suplementación con silo de maíz. Estos resultados concuerdan con otros autores, donde el bife de los animales terminados a pasto fue menor que la carne de animales engordados con granos (53–56). En este sentido, los mayores niveles de grasa intramuscular encontrados son consistentes con los valores de veteado obtenidos en el presente estudio, mostrando una asociación positiva entre el nivel de energía de la dieta y el grado de deposición de grasa intramuscular.

Hocquette y sus colaboradores sugieren que las dietas basadas en granos aumentan la conversión de glucosa en grasa intramuscular, en comparación con dietas basadas en pasto (36).

En trabajos recientes realizados en el ganado de doble musculatura, en el cual el gen de la miostatina (MSTN) se encuentra mutado, se observa un incremento de masa muscular y disminución en cantidad y tamaño de grasa intramuscular (57). Se ha determinado también, que cuando la MSTN está en bajas concentraciones o inactiva, la expresión del gen GLUT4 aumenta (38). Estos autores sugieren que la miostatina es un inhibidor directo de la expresión del gen GLUT4. Se ha determinado también que el exceso de ingesta de energía aumenta el estado de energía celular y con ello la expresión génica lipogénica mediante la secreción de IGF1, causando un aumento del contenido de grasa (39). Los resultados obtenidos, en el presente trabajo concuerdan con estos autores, ya que los genes GLUT4 e IGF1 alcanzaron una mayor expresión, que se vio reflejada en las características físicas de la carcasa y del bife

con el incremento de la cobertura grasa de la carcasa y la cantidad y tamaño de grasa intramuscular en los bifés, acompañado de una menor expresión del gen MSTN. Estos datos explican la relación entre los procesos de adipogénesis y miogénesis, detallada por otros autores.

El análisis de correlación realizado permitió determinar asociaciones entre las variables estudiadas. De acuerdo a los resultados obtenidos, la correlación entre el contenido de grasa intramuscular y cobertura grasa es moderada ($r=0,33$), lo cual coincide con otros autores ($r=0,30$), (58). Esta asociación se ve también reflejada en las características físicas del bife y en las características de la carcasa, como ser el ancho de cobertura de grasa, el peso de la carcasa caliente y el contenido y la distribución de la grasa intramuscular.

La asociación entre el contenido de grasa intramuscular y la terneza ha sido estudiada por otros autores. Se encontró correlación positiva con la terneza ($r=0,41$), evaluada mediante panel de consumidores, o asociación negativa a un esfuerzo de corte con la cuchilla de Warner Bratzler ($r=0,50$) (36). Sin embargo, en el presente trabajo, no se observó correlación entre el contenido de grasa intramuscular con la dureza, evaluada en el análisis de perfil de textura. Estas diferencias pueden ser debidas a los métodos de evaluación, ya que en nuestro estudio se determinó la fuerza necesaria para deformar la carne más no para realizar un corte.

El veteado de la carne es de gran importancia en la industria cárnica, determinante de la calidad del producto, pero difícil de medir y de seleccionar por los métodos clásicos. Por este motivo la detección de marcadores moleculares asociados a esta característica puede ser de gran ayuda en la producción de bovinos para carne.

En estudios realizados en bovinos criollos Uruguayos se ha determinado que el contenido de grasa intramuscular estaba asociado a los marcadores moleculares (59). Nuestros resultados indican que la expresión de los genes IGF1, GLUT4 y MSTN está relacionada también con el contenido de grasa intramuscular. A medida que la expresión de los genes IGF1 y GLUT4 aumenta, y la expresión del gen MSTN disminuye, aumenta el contenido de grasa intramuscular; sugiriendo a estos genes como posibles marcadores de calidad de carne.

CONCLUSIONES

El objetivo de este trabajo fue abordar las diferencias en el contenido de grasa intramuscular, así como la expresión de genes marcadores de calidad de carne en dos sistemas diferentes de alimentación.

Los novillos alimentados a pastoreo exclusivo obtuvieron buena conformación con baja cobertura grasa que se reflejó en el peso de la carcasa caliente. En cuanto, a las características físicas del bife, los novillos a pastoreo exclusivo alcanzaron un área de ojo de bife superior que se expresa en un menor contenido de grasa intramuscular y en menor distribución de la misma. La fuerza necesaria para deformar los bifos fue menor en este sistema, relacionándose así con una mejor ternura de la carne.

Por otro lado, la expresión de los genes IGF1 y GLUT4 se vio disminuida en los novillos en pastoreo exclusivo manifestándose en el menor contenido de grasa intramuscular. En el caso de la MSTN, esta aumentó e inhibió el incremento de grasa intramuscular y grasa de cobertura en los novillos. La relación inversa entre la expresión de los genes IGF1 y GLUT4 con el gen MSTN, se evidenció en el bajo contenido y tamaño de grasa intramuscular.

Considerando los resultados obtenidos, se sugiere los genes GLUT4, MSTN e IGF1 como posibles marcadores del nivel de grasa intramuscular y desarrollo muscular, los cuáles pueden ser útiles para la selección de animales con potencial de calidad de carne cuando se emplean diferentes estrategias de alimentación.

Si bien es cierto que, la alimentación es un factor importante para el éxito de la producción, en el presente trabajo, no se observaron grandes diferencias en cuanto a la calidad de la carne en novillos Braford alimentados a pastoreo exclusivo con los novillos terminados con suplementación con silo de maíz.

Por lo tanto, el tipo de alimentación estará definida por el productor en cuanto al poder adquisitivo en el que se encuentre, mas no en las diferencias que posean las características de la carne.

CONCLUSIONES GENERALES

El presente trabajo de investigación sobre la determinación de parámetros productivos en sistemas ganaderos, utilizando tecnologías como la ultrasonografía y la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real, favorece a conocer, obtener y mantener buenas tasas de producción en el tiempo.

La ultrasonografía resulta una herramienta útil para el diagnóstico precoz de gestación, obteniendo resultados tempranos de preñez y realizar si lo requiere actividades de manejo adecuadas, para mantener y/o mejorar los índices reproductivos.

El uso de herramientas de biología molecular, como la PCR en tiempo real, permite cuantificar la expresión de genes relacionados con características de importancia en calidad de carne, como el contenido y la distribución de la grasa. El uso de esta tecnología permite utilizar a estos genes como posibles marcadores a nivel de grasa intramuscular y desarrollo muscular.

Ante este escenario, concluimos que el uso de tecnologías en la producción animal resulta ser una herramienta útil en el proceso de producción desde el diagnóstico temprano de gestación hasta el producto final de terminación, midiendo las características de importancia en calidad de carne a través de marcadores.

Si bien, es necesario seguir realizando más trabajos de investigación para ratificar estos resultados. Consideramos que el uso de las tecnologías en los sistemas de producción, tiene importancia e impacto social, ambiental, productivo y económico en las regiones ganaderas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Informe de Mercados Internacionales de Carne Bovina. IPCVA.2014. p. 116. http://www.ipcva.com.ar/documentos/1309_1402323969_informedemercadosinternacionalesdecarnebovina2013.pdf
2. Ficha provincial Santiago del Estero. Secretaría de Política Económica y Planificación del Desarrollo. Santiago del Estero; 2015.
3. Encuesta ganadera bovina de carne Santiago del Estero. INTA, RIAN, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Santiago del Estero; 2011.
4. Med A, Rossanigo C, Arano A, Rodr G, Etchart F. Stock 2010 del ganado bovino. Inta-Senasa Rian. 2010;1–16.
5. Reineri PS. Fisiopatología del puerperio y manejo del rodeo. ISSN: N° 1. INTA, editor. 2016. 1-79 p.
6. Motta P, Ramos N, González C, Castro E. Follicular dynamics in the reproductive life of female livestock. Rev la Fac Med Vet y Zootec. 2011;5(2):88–99.
7. E CG. Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. 2003;(2):303–9.
8. Romano JE, Thompson JA, Forrest DW, Westhusin ME, Tomaszewski MA, Kraemer DC. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. Theriogenology. 2006;66(4):1034–41.
9. Lüttgenau J, Mang H, Borel N, Bruckmaier RM, Bollwein H. Ultrasonographic examination reduces the percentage of unsuccessful inseminations in dairy cows. Theriogenology. 2016;85(4):664–70.
10. Hanzen C, Pieterse M, Scenzi O, Drost M. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. Vet J. 2000;159(2):161–70.
11. Sofía E, Camargo C, Manuel E, Barón P. Aplicaciones de la ultrasonografía en la reproducción bovina: revisión Applications of bovine reproductive ultrasonography : review. 2012;9:29–37.
12. Medan MS, Abd El-Aty AM. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. J Adv Res. 2010;1(2):123–8.

13. King AM. Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. *Vet J.* 2006;171(3):408–20.
14. Kahn W. Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction. *Anim Reprod Sci.* 1992;28(1–4):1–10.
15. Sota RL, Formía N, Lares S. Aplicaciones De La Ultrasonografía En El Manejo Reproductivo De Rodeos De Carne Y Leche. *Univ Nac La Plata.* 2000;1–15.
16. Oficina de Riesgo Agropecuario ., Ministerio de Agroindustria. Atlas Climático Region Noroeste: Santiago del Estero. 2017. p. 1.
17. Richards MW, Wettemann RP. Nutritional anestrus in beef cows: body weight Change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. 1989;1520–6.
18. Inta. Guía para cuidado y uso de animales de experimentación. Vol. 1, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires; 2013.
19. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini M., Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.; 2016.
20. Reineri PS. Evaluación del efecto de la monensina y hormonas reproductivas sobre la tasa de preñez en vacas para carne con cría al pie, en servicio natural. Universidad Nacional de Cordoba; 2002.
21. Fertig M, Luchetti D. Bovinos: manejo reproductivo eficiente de un rodeo de cría. 2005;55–60.
22. Wettemann RP, Lents CA, Ciccioli NH, White FJ, Rubio I. Nutritional and suckling mediated anovulation in beef cows. *J Anim Sci.* 2003;81(14_suppl_2):E48-59.
23. Hess BW, Lake SL, Scholljegerdes EJ, Weston TR, Nayigihugu V, Molle JDC, et al. Nutritional controls of beef cow reproduction. *J Anim Sci.* 2005;83:E90–106.
24. Roche J., Boland M. Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. 1991;35(1):81–90.
25. Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci.* 2003;78(3–4):307–26.
26. Short RE, Bellows RA, Staigmiller, RB, Bernardinelli JG, Custer EE.

- Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci.* 1990;68:799–816.
27. Randel RD. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J Anim Sci.* 1990;68(3):853–62.
 28. Ciccioli NH, Wettemann RP, Spicer LJ, Lents CA, White FJ, Keisler DH. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J Anim Sci.* 2003;81(12):3107–20.
 29. Branda Sica A, Soria LA, Corva PM, Villarreal EL, Melucci LM, Mezzadra CA, et al. Variantes en dos genes candidatos para características de calidad de carne bovina en Argentina. *Arch Zootec.* 2011;60(231):521–32.
 30. FAO. Calidad de la carne. [Http://Www.Fao.Org/Ag/Ags/Industrias-Agroalimentarias/Carne-Y-Leche/Calidad-E-Inocuidad-De-La-Carne/Es/](http://www.fao.org/ag/ags/industrias-agroalimentarias/carne-y-leche/calidad-e-inocuidad-de-la-carne/es/). 2011.
 31. Santini FJ, Rearte D, Grigera JM. Algunos aspectos sobre la calidad de las carnes bovinas asociadas a los sistemas de producción. 1ra Jornada de Actualización Ganadera. 2003. p. 1–7.
 32. Zea Salgueiro J, Díaz Díaz MD, Carballo Santaolalla JA. Efecto del acabado en la calidad de carne y grasa de terneros y terneras alimentados con ensilados. *Arch Zootec.* 2008;57(220):465–76.
 33. Faucitano L, Berthiaume R, D'Amours M, Pellerin D, Ouellet DR. Effects of corn grain particle size and treated soybean meal on carcass and meat quality characteristics of beef steers finished on a corn silage diet. *Meat Sci.* 2011;88(4):750–4.
 34. Montoya C, García JF, Barahona R. Contenido de ácidos grasos en carne de bovinos cebados en diferentes sistemas de producción en el trópico Colombiano. *Vitae.* 2015;22(3):205–14.
 35. Bong JJ, Jeong JY, Rajasekar P, Cho YM, Kwon EG, Kim HC, et al. Differential expression of genes associated with lipid metabolism in longissimus dorsi of Korean bulls and steers. *Meat Sci.* 2012;91(3):284–93.
 36. Hocquette JF, Gondret F, Baéza E, Médale F, Jurie C, Pethick DW. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional

- control, and identification of putative markers. *Animal*. 2010;4(2):303–19.
37. D'Alessandro ME, Chicco A, Lombardo YB. Fish oil reverses the altered glucose transporter, phosphorylation, insulin receptor substrate-1 protein level and lipid contents in the skeletal muscle of sucrose-rich diet fed rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 2013;88(2):171–7.
 38. Takahashi H, Sato K, Yamaguchi T, Miyake M, Watanabe H, Nagasawa Y, et al. Myostatin alters glucose transporter-4 (GLUT4) expression in bovine skeletal muscles and myoblasts isolated from double-muscled (DM) and normal-muscled (NM) Japanese shorthorn cattle. *Domest Anim Endocrinol*. 2014;48(1):62–8.
 39. Chen L, Chen Q, Xie B, Quan C, Sheng Y, Zhu S, et al. Disruption of the AMPK–TBC1D1 nexus increases lipogenic gene expression and causes obesity in mice via promoting IGF1 secretion. *Proc Natl Acad Sci*. 2016;113(26):7219–24.
 40. Latimori NJ, Kloster AM, García PT, Carduza FJ, Grigioni G, Pensel NA. Diet and genotype effects on the quality index of beef produced in the Argentine Pampeana region. *Meat Sci*. 2008;79(3):463–9.
 41. Ruiz De Huidobro F, Miguel E, Blázquez B, Onega E. A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Sci*. 2005;69(3):527–36.
 42. AOAC. Official methods of analysis 15th ed. 1992. p. Suppl. 3, pp. 139–140.
 43. Schor A, Cossu ME, Picallo A, Ferrer JM, Naón JJG, Colombatto D. Nutritional and eating quality of Argentinean beef: A review. *Meat Sci*. 2008;79(3):408–22.
 44. Brito G, Lagomarsino X, Olivera J, Trindade G, Arrieta G, Pittaluga O, et al. Effect of different feeding systems (pasture and supplementation) on carcass and meat quality of Hereford and Braford steers in Uruguay. *Proc 54th ICOMST*. 2008;54th(Section B, 7):1–3.
 45. del Campo M, Brito G, Soares de Lima J, Hernández P, Montossi F. Finishing diet, temperament and lairage time effects on carcass and meat quality traits in steers. *Meat Sci*. 2010;86(4):908–14.
 46. del Campo M, Brito G, de Lima JMS, Martins DV, Sañudo C, Julián RS, et al. Effects of feeding strategies including different proportion of pasture and concentrate, on carcass and meat quality traits in Uruguayan steers. *Meat Sci*.

- 2008;80(3):753–60.
47. Duckett SK, Neel JPS, Lewis RM, Fontenot JP, Clapham WM. Effects of forage species or concentrate finishing on animal performance, carcass and meat quality 1,2. *J Anim Sci.* 2013;91:1454–67.
 48. Freitas AK de, Lobato JFP, Cardoso LL, Tarouco JU, Vieira RM, Dillenburg DR, et al. Nutritional composition of the meat of Hereford and Braford steers finished on pastures or in a feedlot in southern Brazil. *Meat Sci.* 2014;96(1):353–60.
 49. Frizzo A, Rocha MG Da, Restle J, Montagner DB, De Freitas FK, Dos Santos DT. Suplementação energética na recria de bezerras de corte mantidas em pastagem de inverno. *Rev Bras Zootec.* 2003;32(3):643–52.
 50. Vaz RZ, Lobato JFP, Pacheco PS. Performance of braford steers grazing on cultivated pastures and fed or not fed an energy supplement. *Rev Bras Zootec.* 2013;42(2):130–6.
 51. Realini CE, Duckett SK, Brito GW, Dalla Rizza M, De Mattos D. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Sci.* 2004;66(3):567–77.
 52. Orellana C, Peña F, García A, Perea J, Martos J, Domenech V, et al. Carcass characteristics, fatty acid composition, and meat quality of Criollo Argentino and Braford steers raised on forage in a semi-tropical region of Argentina. *Meat Sci.* 2009;81(1):57–64.
 53. Latimori N, Kloster AM, Amigone MA, García PT, Carduza FJ, Pensel NA. Calidad de la carne bovina según genotipo y sistema de alimentación. *Rev Argentina Prod Anim.* 2005;25(Suppl. 1):365–7.
 54. Neel JPS, Fontenot JP, Clapham WM, Duckett SK, Felton EED, Scaglia G, et al. Effects of winter stocker growth rate and finishing system on: I. Animal performance and carcass characteristics. *J Anim Sci.* 2007;85(8):2012–8.
 55. Vestergaard M, Therkildsen M, Henckel P, Jensen LR, Andersen HR, Sejrsen K. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Sci.* 2000;54:187–95.

56. Latimori NJ, Kloster AM, Carduza FJ, Grigioni G, García PT. Influence of diet on quality meat indexes of steers with different composition of *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Rev Argentina Prod Anim*. 2012;175–86.
57. Cassar-Malek I, Picard B, Bernard C, Hocquette J-F. Application of gene expression studies in livestock production systems: a European perspective. *Aust J Exp Agric*. 2008;48(7):701–10.
58. Sellier P. Genetics of meat and carcass traits. *Genet pig*. 1998;463–510.
59. Armstrong E, Peñagaricano F, Artigas R, De Soto L, Corbi C, Llambí S, et al. Marcadores moleculares asociados al veteado de la carne en bovinos Criollos uruguayos. *Arch Zootec*. 2011;60(231):707–16.
60. Jimenez J. Diseños experimentales. *Model Exp [Internet]*. 2012;4. Available from: <http://juliojimenez-modelosexperimentales.blogspot.com.co/>
61. Lauren h. *Diseño Experimental*. 2000;59–81.
62. Galbiati Riesco JM. *Conceptos Básicos De Estadística*. :1–6.
63. INEI, Azurza herminia. *Glosario básico de términos estadísticos*. 2006;25–35.
64. *Experimentos TDEDDE. Teoría de Diseño de Experimentos*. Univ las Américas Puebla. :53–62.
65. Arribalzaga EB. Interpretación de las curvas de supervivencia. Febrero. 2007;págs:75–83.
66. Rojo Abuín JM. *Regresión con variable dependiente cualitativa*. 2007;
67. Navarro J, Rodríguez A, Sandoval JA. *Biología Molecular En Medicina. Mensaje Bioquímico*. 2008;32:163–73.
68. Felipe L, García J, Larios HM. *Biología celular y molecular*. Vol. 1. 2003. 912 p.
69. Vinueza-Burgos C. PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular. *REDVET*. 2009;10:13.
70. Costa J. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(5):299–305.
71. Silberman RPS. *Métodos físico-químicos en Biotecnología*. 2006;
72. Santambrosio E. PCR (Polymerase chain reaction). 2011;5.
73. Cortazar A, Silva EP. *Métodos físico-químicos en biotecnología: PCR*. PCR en

Tiempo Real. 2004;40.

74. Pérez de Castro AM. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Univ Politécnica Val. 2005;1–10.

ANEXO

ESTADÍSTICA

El siguiente anexo tiene el objetivo de brindar definiciones de términos que manifestaron dificultad en el trabajo de tesis.

1 DISEÑOS EXPERIMENTALES

Serie de pruebas de planeación y conducción de experimentos que inducen a cambios deliberados en variables, siendo posible identificar las causas de cambio. Así como en el análisis estadístico se evalúan los resultados, los diseños experimentales cumplen con el objetivo de tener conclusiones válidas y objetivas (60).

Para su desarrollo debe cumplir con un propósito, el cual establece la metodología que asegure las conclusiones válidas y objetivas del desarrollo. Los resultados son dependientes de la respuesta de la unidad experimental que es el elemento el cual será modificado en forma planeada por tratamientos cuyos efectos serán comparados (61).

2 VARIABLE

Es la característica del sujeto de una base de datos, la cual precisamente puede variar. Durante su proceso de definición es de mucha importancia hacerla de manera adecuada, ya que, definirá si nuestros resultados serán los correctos o errados (62).

2.1 Tipos

Variable independiente. - también llamadas tratamiento son la causa que se cree que influye directamente sobre la característica que se está estudiando. Se le asignan diferentes valores conocidos como nivel de tratamiento que servirán de gran ayuda para el análisis de resultados (63).

Variable dependiente. - son las que se miden en cada repetición del experimento con el objetivo de ver si la variable independiente influye directamente sobre sus valores (63).

Variable de bloqueo. – son las que pueden intervenir en la respuesta de la variable dependiente y se puede eliminar su influencia asignándole el valor de una constante (63).

3 UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental es la unidad básica sobre la cual se efectúa el proceso de medida, es decir, es donde se realizará el experimento. Pueden ser desde espacios físicos, personas, cosas abstractas o bien intervalos de tiempo (64) al que se le modificarán en forma planeada factores para revisar su respuesta (60).

4 ERROR EXPERIMENTAL

El error experimental es la variación de resultados debido a factores externos al experimento (60); se refiere a lo que el experimentador no puede variar, pero influyen sobre la variable dependiente (64).

5 VALOR P

Es definido como el mínimo nivel de significación α , para el cual los datos observados indican que se tendría que rechazar la hipótesis nula; es decir, si el valor α es mayor o igual que el valor P de un factor, se considera que dicho factor influye en la variable de respuesta (60).

6 CURVAS DE KAPLAN AND MEIER

Son curvas de comparación para estudiar la distribución de los tiempos de supervivencia de un conjunto de individuos. Sirve para analizar el tiempo hasta la aparición de un suceso cualquiera, no está limitada a términos de vida o muerte. La observación de cada paciente se inicia al diagnóstico (tiempo = 0) y continua hasta la muerte o hasta que el tiempo de seguimiento se interrumpe (65).

7 REGRESIÓN LOGÍSTICA

La regresión logística es un tipo especial de regresión que se utiliza para explicar y predecir una variable categórica binaria (dos grupos) en función de varias

variables independientes que a su vez pueden ser cuantitativas o cualitativas, permite modelizar la probabilidad de que ocurra un evento dado una serie de variables independientes (66).

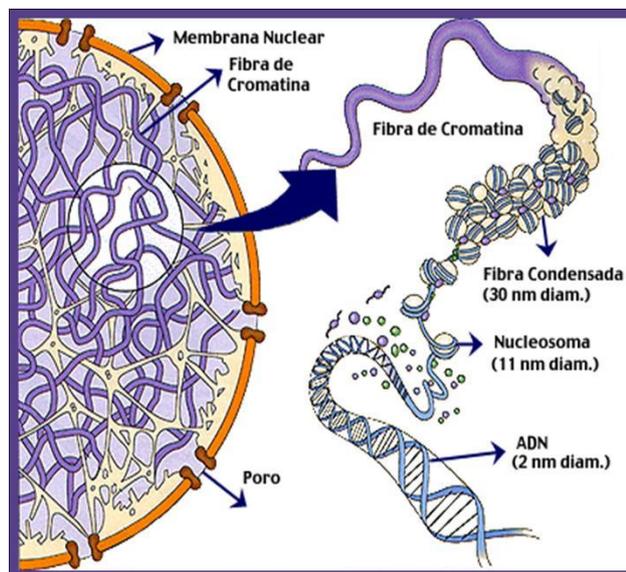
BIOLOGÍA MOLECULAR

El siguiente anexo tiene el objetivo de brindar definiciones de términos que manifestaron dificultad en el trabajo de tesis.

1 BIOLOGÍA MOLECULAR

La ciencia moderna ha logrado establecer que la vida en la tierra comenzó hace aproximadamente 3500 millones de años, poco después de que ésta se formó. Millones de años de evolución y diversificación han permitido que hoy en día existan organismos simples y otros extremadamente complejos, ambos tienen una química molecular, o bioquímica, muy similar (67).

Las proteínas son responsables de lo que es un ser vivo y lo que puede hacer en un sentido físico. Por otra parte, los ácidos nucleicos codifican la información necesaria para producir proteínas y son responsables de transmitir esta “receta” a generaciones subsecuentes. Los principales actores de la química de la vida son las moléculas conocidas como proteínas y ácidos nucleicos; la biología molecular básicamente está dedicada a entender la estructura y función de las proteínas y los ácidos nucleicos (68).



2 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La identificación de la expresión genética y de secuencias específicas de ADN o ARN es un factor crucial cuando se trabaja con técnicas de biología molecular; para obtener esta información algunas pruebas han sido desarrolladas, siendo la PCR una de las más usadas (69).

La técnica de PCR permite obtener millones de copias de una secuencia específica de **ADN blanco** mediante una poderosa catálisis llevada a cabo por una enzima conocida como ADN polimerasa, de tal manera que cantidades pequeñas de ADN pueden ser sintetizadas y copiadas fielmente para analizarse con diferentes fines (70). Este concepto fue expuesto por primera vez en un artículo en 1971 por Kleppe y sus colegas (71).

2.1 Reactivos necesarios

El elemento principal en la PCR es el ADN, cuya naturaleza química ofrece ventajas para su manipulación. Para entrar en contexto, es importante recordar que la molécula de ADN está formada por tres componentes: un azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada (adenina, timina, guanina o citosina) que es complementaria con la base de otra cadena, de tal forma, que el ADN se estructura en una doble hélice (72).

La enzima **ADN polimerasa** se encarga de la catálisis de la reacción, sintetizando las nuevas cadenas de ADN que llevan la secuencia de interés. La enzima más usada se llama Taq ADN polimerasa, que proviene de una bacteria termófila llamada *Thermus aquaticus*, la cual vive en condiciones de temperatura muy altas y por eso su ADN polimerasa es capaz de soportar ese tipo de temperaturas (72).

Los primers son secuencias de oligonucleótidos que flanquean y delimitan la secuencia blanca que se desea amplificar y son complementarios a ésta. Generalmente su tamaño oscila entre 15-25 pares de bases y la cantidad de G-C no debe ser más del 55% de la secuencia. Son dos secuencias diferentes de primers las que se utilizan en la PCR, una denominada «forward» o sentido y otra «reverse» o antisentido; ambas deben estar diseñadas para que hibriden con el templado y las cadenas de ADN puedan ser extendidas por la Taq polimerasa (73).

Por su parte, los dNTP's (desoxiribonucleótidos) son los ladrillos o bases nitrogenadas con los que la Taq polimerasa construye las nuevas cadenas de ADN. Son factores importantes que contribuyen a la especificidad de la reacción, por ello es importante que su concentración sea la adecuada ya que de lo contrario pueden afectar la función de la Taq polimerasa (72).

2.2 Mecanismo de la reacción

En primer lugar, es necesario que el DNA se desnaturalice, es decir, que las dos cadenas de DNA se separen. Esta primera fase se conoce como **desnaturalización** y se lleva a cabo elevando la temperatura a alrededor de 94°C (74).

El siguiente paso consiste en un descenso de la temperatura para permitir que los cebadores se unan por complementariedad al DNA molde. Esta segunda fase se conoce como **hibridación**. Temperaturas habituales en esta fase oscilan entre 35 y 60°C (74).

Por último, en la fase de **elongación o extensión**, la enzima polimerasa incorpora nucleótidos complementarios a partir del extremo 3' libre de la región en que han hibridado los cebadores. La temperatura a la que se lleva a cabo esta fase depende de la enzima polimerasa empleada; si se utiliza Taq polimerasa la temperatura de elongación suele ser de 72°C (74).

En la Figura se puede observar los pasos de la reacción de PCR.



2.3 Variantes de la PCR

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanca es copiada fielmente. La reacción puede llevarse a cabo usando como sustrato: ADN genómico, entonces típicamente hablamos de una PCR o ADN complementario (ADNc) denominada **RT-PCR (Transcripción Reversa-PCR)**. En la reacción de transcripción reversa el ARNm es transformado en molécula de ADNc. Cuando el objetivo de los análisis es analizar la de algún gen de interés utilizamos la RT-PCR (70).

En los últimos años, la reacción en cadena de la **polimerasa en tiempo real (qPCR)** ha surgido como una metodología robusta y ampliamente utilizada en investigación biológica ya que puede detectar y cuantificar cantidades muy pequeñas de secuencias específicas de ácidos nucleicos (71).

Mediante la técnica de PCR es posible amplificar un segmento de ADN de manera exponencial, ya que después de cada ciclo se duplica la cantidad de ADN que existe si la reacción ocurre con máxima eficiencia. El objetivo de la PCR en tiempo real ha sido detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción (72).

La tecnología de q-PCR está basada en la detección de una señal fluorescente producida proporcionalmente durante la amplificación del ADN blanco. Las pruebas de PCR en tiempo real determinan el punto en el tiempo durante el proceso de ciclado cuando se detecta por primera vez la amplificación de un producto de PCR (74).

Los agentes intercalantes frecuentemente usados en q-PCR son fluoróforos que aumentan notablemente la emisión de fluorescencia cuando se unen a ADN de doble cadena. El más utilizado es el SYBER Green I, el cual interacciona con el surco menor del ADN doble cadena, emitiendo 1000 veces más fluorescencia que cuando está libre en solución. El incremento de ADN en cada ciclo se refleja en un aumento proporcional de la fluorescencia emitida (73).

El análisis de la reacción es el paso final para determinar la cuantificación génica. Para ello, los termocicladores están provistos de una PC con un software que,

genera una serie de gráficas en donde se muestran todos los datos necesarios para conocer si la reacción fue exitosa. Una de estas gráficas es la de amplificación que muestra el curso y el progreso de la reacción, otra gráfica es la curva de disociación o curva melting que muestra información sobre la especificidad de la reacción (74).

Utilizando la técnica de PCR en tiempo real, es posible realizar una cuantificación relativa, en la cual se expresa los cambios fisiológicos que se producen al aplicarse tratamientos.

Informe de Actividades Practicas

PRESENTACIÓN GENERAL

Como parte de la formación y desarrollo profesional de los estudiantes de las áreas agropecuarias el desempeño de las Practicas Profesionales Supervisadas (PPS) son de vital importancia para complementar los conocimientos adquiridos en las aulas.

Con el objetivo de comunicar y poner en manifiesto a las autoridades de la Facultad de Agronomía y Agroindustria de la Universidad Nacional Santiago del Estero (FAyA-UNSE) de las actividades realizadas en las Practicas Profesionales Supervisadas por la becaria Alvarez Gutiérrez Milagros Arabela, según la programación presentada y aprobada oportunamente por la institución antes mencionada.

En el desarrollo de las PPS se trabajó en el área de bovinos para carne realizando “Actividades de campo y laboratorio relacionadas al manejo productivo y reproductivo de rodeos bovinos para carne”, se tuvo como tutor interno al Med. Vet. (Esp. M.Sc.) Reineri Pablo Sebastián docente de la FAyA y a la Lic. Coria María Sumampa (CONICET-Doctorando) como tutora externa.

El presente informe consta con la descripción de los establecimientos donde se trabajó, las actividades y técnicas realizadas, los equipos y herramientas empleadas, consideraciones finales y una sección de anexos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar actividades de campo y laboratorio relacionadas al manejo reproductivo de rodeos bovinos para carne.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el diagnóstico preñez por ultrasonografía en vaquillonas.
- Manejar de manera eficiente las instalaciones ganaderas y conducir al personal de campo.
- Colaborar con en el dictado de cursos relacionados con la temática.
- Preparar material de laboratorio y medios de cultivo.
- Esterilizar material de laboratorio (tips y medios)
- Aprender a manejar micropipetas automáticas.
- Elaborar y presentar el informe de la práctica profesional supervisada.

ÁREA DE TRABAJO

CAMPO

El campo experimental “Ing. Agr. Francisco Cantos” perteneciente al INTA-EEASE, ubicado en la Ruta Nacional N°9 Km 1108, La Abrita, Código postal: G420XBK, Santiago del Estero, Argentina. Tiene sobre toda la provincia de Santiago del Estero, situada en la región chaqueña y cuenta con dos laboratorios (suelos y forrajes) y una extensión de 7500 hectáreas en donde tiene lugar los ensayos de investigación y experimentación adaptativa realizados por investigadores y extensionistas a través de grupos de trabajo multidisciplinarios y en acuerdos interinstitucionales con el gobierno provincial, las universidades, las municipalidades, ONG’s, fundaciones y asociaciones de productores (quienes al mismo tiempo efectúan el control social del INTA).

A la vez, se efectúan actividades productivas y de servicios en conjunto con la asociación Cooperadora del INTA-EEASE: ganadería bovina de cría y engorde, caprina, agricultura de riego, producción y tratamiento de semillas, avicultura, vivero forestal y ornamental, entre otras.

LABORATORIO

Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE) es una unidad de dependencia entre el CONICET y la Universidad Nacional de Santiago del Estero. Los tópicos que se trabajan en el sitio mencionan: Producción Agropecuaria y Alimentos, recursos forestales, incluyendo en ambos casos estudios vinculados con ciencias básicas y desarrollo social.

El Centro de Investigación y Transferencia de Santiago del Estero (CITSE) se encuentra a 8 km de ciudad Capital, en el predio perteneciente a la FAyA (Ruta Nacional N°9 Km 1125, Villa Zanjón, Santiago del Estero, Argentina) y presenta dos niveles, con el 60% de la superficie destinada a laboratorios de investigación de distintas especialidades y el resto del espacio destinado al apoyo de esas actividades, con una superficie cubierta de 800 metros cuadrados.

TAREAS REALIZADAS

ACTIVIDADES DE CAMPO

En el desarrollo de las actividades de campo de la PPS estuvo orientada a la observación del aparato reproductor de hembras bovinas de raza Braford mediante la ultrasonografía. La intención de las ecografías fue el diagnóstico, evaluación y monitoreo de gestación, estableciendo si los animales estaban preñadas o vacías y las fechas probables de partos.

Se utilizó un ecógrafo Aquila Pro con un transductor lineal de 7,5 MHz para monitorear y realizar la medición de estructuras uterinas. El equipo consta de una consola y un transductor; la consola, está compuesta por monitor, comandos y teclado que permite visualizar las imágenes obtenidas a través del transductor en la pantalla del monitor; el transductor, posee una gran cantidad de cristales piezoeléctricos y ubicados en línea recta necesitando una mayor área de contacto con la superficie produciendo una imagen rectangular en la pantalla del monitor.

Para iniciar con el examen ginecológico primero se evacuaba las heces del recto priorizando evitar la formación de contenido fecal durante el examen, posteriormente se introducía el transductor sujetándolo con la palma de la mano y ubicando el útero, realizando suaves movimientos que nos permitiesen identificar el estado reproductivo en el que se encontraba el animal.

Como parte de la PPS, en la última revisión ginecológica se retiraron a los sementales como parte de las actividades de manejo del establecimiento.

El uso de la ultrasonografía permitió hacer un análisis de la condición reproductiva en la que se encuentra el campo posibilitando realizar comparaciones entre los animales, identificar algunos problemas de manejo y permite sincronizar posibles fechas de partos que favorezcan a la tasa de viabilidad del establecimiento.



Figura 10. Monitor del ecógrafo Aquila Pro con un transductor lineal de 7,5 MHz.

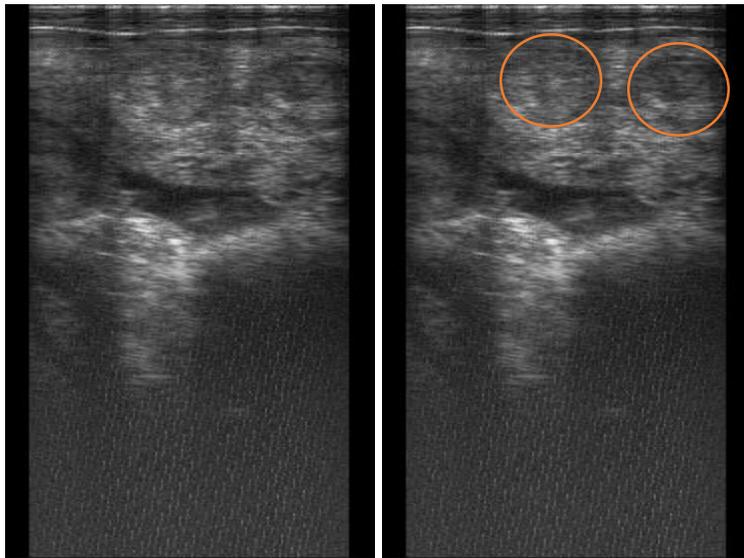


Figura 11. Cuernos uterinos vacíos. Imagen izquierda indican cada cuerno uterino.

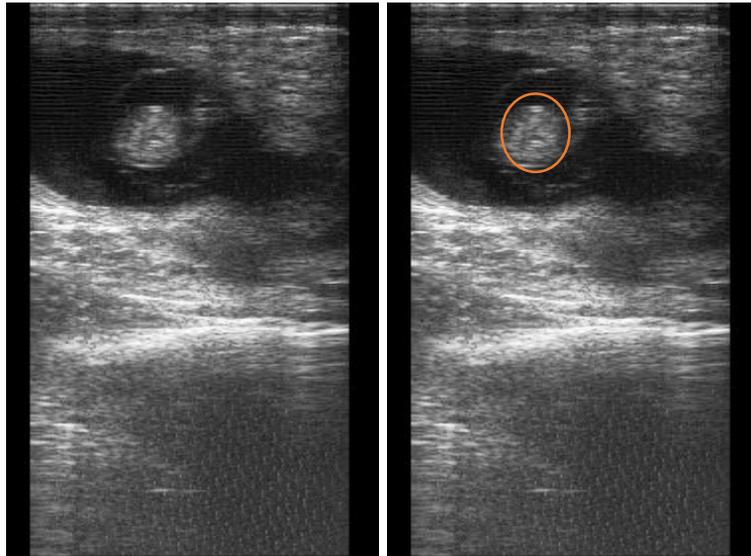


Figura 12. Preñez pequeña de 4,5 semanas de gestación. Imagen izquierda indica el embrión.

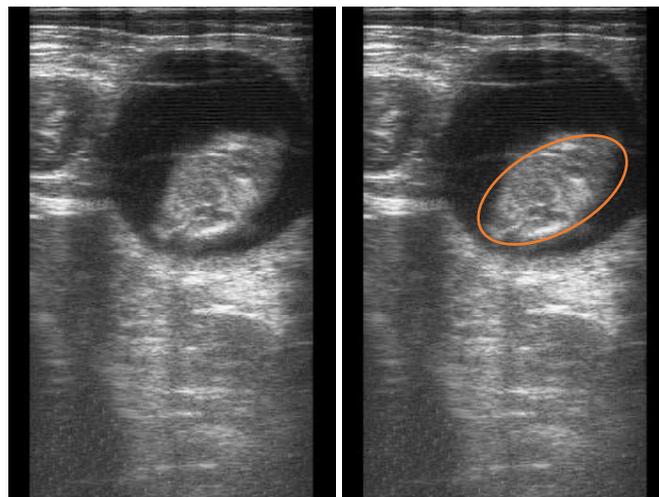


Figura 13. Preñez media de 8 semanas de gestación. Imagen izquierda es una vista torácica del embrión.

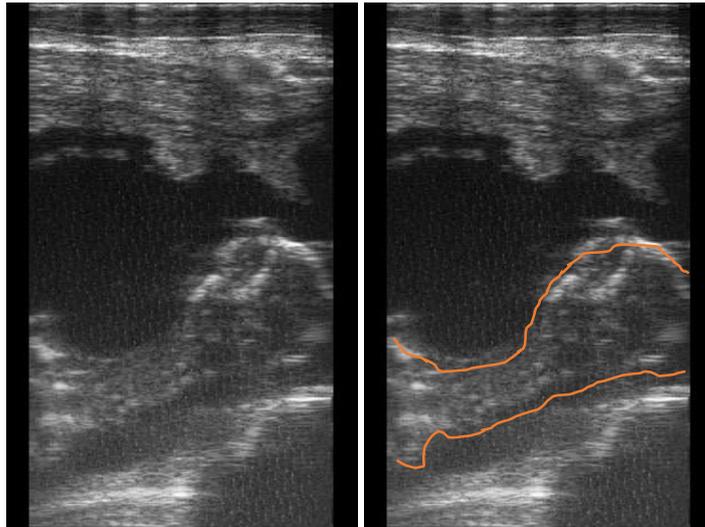


Figura 14. Preñez media-grande de 12 semanas. Imagen izquierda marca la cabeza y cuello del embrión.

ACTIVIDADES DE LABORATORIO

1.1.1 Esterilización de material de laboratorio

Como parte de las normas de bioseguridad de todo laboratorio, para iniciar cualquier tipo de análisis, muestreo, experimento, etc. es necesario esterilizar el material para evitar contaminación de las muestras. Se denomina esterilización al proceso por el cual se obtiene un producto libre de microorganismos viables. El proceso de esterilización debe ser diseñado, validado y llevado a cabo para asegurar que es capaz de eliminar la carga microbiana del producto o un microorganismo más resistente.

En el desarrollo de la pasantía se aprendió a utilizar un autoclave eléctrico para esterilizar a las herramientas y utensilios de laboratorio. Siguiendo una secuencia:

- Ubicar herramientas y utensilios en cajas según sea el tamaño y uso.
- Empaquetar cajas con papel mate oscuro.
- Rotular cajas con el contenido que posea.
- Preparar autoclave y colocar herramientas y utensilios a autoclavar.

Los autoclaves funcionan permitiendo la entrada o generación de vapor de agua, pero restringiendo su salida, hasta obtener una presión interna de 103 kPa por encima de la presión atmosférica, lo cual provoca que el vapor alcance una

temperatura de 120 grados Celsius. Un tiempo típico de esterilización a esta temperatura y presión es de 15-20 minutos. Transcurrido el tiempo de esterilización, se espera a que baje la temperatura y presión del autoclave y se coloca a secar el material, el cual queda libre de microorganismos.

1.1.2 Manejo de micropipetas automáticas

La micropipeta automática es un instrumento de laboratorio empleado para absorber y transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas científicas. Los volúmenes captables por estos instrumentos varían según el modelo: los más habituales, denominados p20, p200 y p1000, admiten un máximo de 20, 200 y 1000 μl , respectivamente. Es de destacar que el uso de micropipetas permite emplear distintos líquidos sin tener que lavar el aparato: para ello, se emplean puntas desechables, de plástico, que habitualmente son estériles. Existen varios tipos de puntas: por ejemplo, las cristales para pipetear volúmenes muy pequeños, las amarillas para pipetear volúmenes intermedios, y las azules para pipetear volúmenes grandes.

Las micropipetas automáticas aportaron más practicidad, bioseguridad y mayor velocidad para dispensar muestras y reactivos. Todas estas innovaciones con una excelente precisión y sin posibilidad de contaminación. El manejo adecuado de las micropipetas es importante para evitar generar resultados incorrectos o imprecisos en los trabajos.

El laboratorio cuenta con pipetas de diferentes cantidades, desde 10 μl hasta 5000 μl . Cada micropipeta tiene capacidad mínima y máxima, si nos excedemos en las cantidades, las mismas pueden romperse. Se recomienda utilizarlas en su capacidad media, donde es mucho más precisa y se tienen menos posibilidades de error.



Figura 15. Manejo de micropipetas en cámara de bioseguridad.

1.1.3 Preparar material de laboratorio y realizar q-PCR

Para determinar la expresión de los genes se puede realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Para poder llevar a cabo la misma, se debe preparar el material a utilizar, es decir, los reactivos, las micropipetas y el termociclador. Durante la estadía este tipo de análisis se realizó en cabinas de flujo laminar para preservar las muestras. Para realizar la q-PCR se debe proceder de la siguiente manera:

- Preparar micropipetas de 10 μ l, 20 μ l y 200 μ l
- Ubicar tips amarillos, azules, y cristales.
- Frascos con tubos eppendorf de diferentes capacidad, donde se llevarán a cabo las reacciones.
- Primers para genes de interés y de referencia. En nuestro estudio los primers foward y reverse de IGF1, GLUT4, MSTN, GAPDH y RPLP0.
- ADN complementario de animales alimentados a Pasto y con la Suplementación.
- Super Mix para PCR en tiempo real, que contiene la Taq polimerasa, el agente intercalante (SYBR) y el buffer necesario para la enzima.
- Agua ultra pura.

En primer lugar se realizó una mix común para cada gen, y posteriormente se dividió la misma en la placa de PCR, que está subdividida en 96 espacios. En las filas 1 a 3 se colocó la mix del gen IGF1; en las filas 4 a 6 la mix de GLUT4 y en la fila 7 a de 9 la mix de MSTN. Posteriormente en cada posillito se agregó 1 μ l del ADN complementario. Finalmente se llevó al termociclador donde se inició la q-PCR.

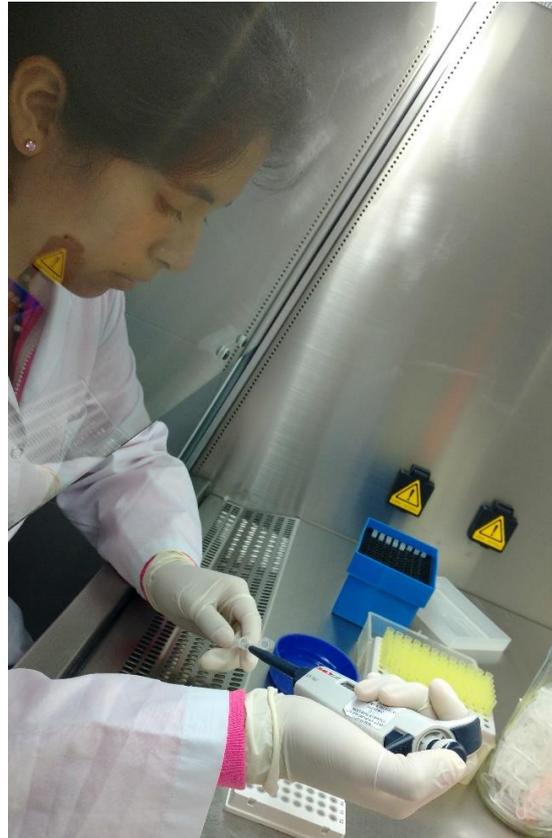


Figura 16. Colocando la mix de la reacción en la placa de PCR.



Figura 17. Ciclos de la reacción en cadena de polimerasa en tiempo real indicando temperaturas de cada fase.

1.1.4 Análisis físico de carne

1.1.9 Área de ojo de bife

El AOB es la medida del área del músculo dorsal largo (*longissimus dorsi*) en centímetros entre la 12^a y 13^a costilla. Es un fiel indicador de la calidad carnicera de la res y tiene correlación negativa con el engrasamiento: cuando aumenta la musculatura disminuye el engrasamiento y viceversa, lo que hace necesario un buen punto de equilibrio. Para realizar la toma de área de bife se contó con 3 costeletas con diferentes áreas a medir. En el desarrollo de la práctica se utilizaron:

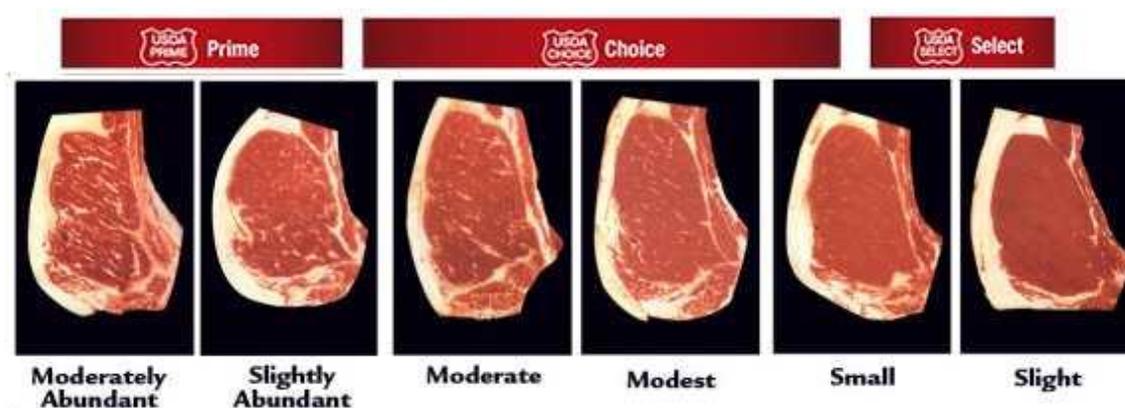
- 3 costeletas
- 1 bandeja
- 3 papeles de acetato traslucido.
- Lápiz y marcador

Se colocó cada costeleta en la bandeja intentando que este distribuida homogéneamente, para luego colocar papel acetato y hacer el trazo correspondiente del área de ojo de bife o *Longissimus dorsi*.

Después de oreado el papel con el trazo se utilizó un papel milimetrado para hacer el conteo y determinación del área.

ii. Veteado

Para determinar el veteado de la carne se usó los mismos bifes de AOB. Se determinó la graduación de los bifes mediante apreciación visual y comparación con los estándares de la USDA. Se inició la clasificación visual para contenido de grasa intramuscular, considerando diferentes niveles que van desde 0 (sin grasa) hasta 5 (llena de grasa); de los bifes observados cada uno recibió una clasificación distinta que oscilaba entre 2 a 3.



iii. Dureza

Para determinar la dureza de un bife se puede utilizar diferentes métodos, como ser por fuerza de corte de Warner Braztler y el análisis de perfil de textura, que es la fuerza de deformación. En este análisis la carne además, puede estar cocida (70°/10') o cruda.

Se determinó la fuerza de corte de WB y la fuerza necesaria para la deformación de muestras crudas y cocidas. Se trabajó con el músculo longissimus dorsi de las costeletas analizadas en AOB y veteado.

ACTIVIDADES SECUNDARIAS

Durante el periodo que duró la pasantía se aprendió a utilizar diferentes herramientas tecnológicas e informáticas, como:

A. Gestor de referencias

Para la citación de la bibliografía se empezó a utilizar y aprender el manejo del software Mendeley, bajo el estilo de normas ISO690 con los diferentes formatos de citación.

B. InfoStat

Se utilizó el software InfoStat, versión 2012. Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, para realizar los diferentes análisis estadísticos requeridos durante la pasantía.

CONSIDERACIONES FINALES

La formación académica profesional no culmina en las aulas, por tanto, la PPS resultan un factor importante en el proceso de adiestramiento del estudiante, como instrumento clave para aplicar y perfeccionar los conocimientos teóricos adquiridos en situaciones reales de campo interviniendo en la transformación y solución de problemas o situaciones que se plantean.

En la fase de desempeño de la PPS, según las actividades realizadas se fue adquiriendo conocimiento y experiencia de beneficio para el desarrollo laboral, social y profesional; combinando los conocimientos teóricos con los nuevos conocimientos prácticos se lograron adquirir destrezas y mejor desenvolvimiento.

La técnica de aprendizaje enfatizó en la interpretación de datos, la aplicación de técnicas participativas, innovadoras y experimentales para la mejora progresiva del estudiante en los temas conceptuales, procedimentales y prácticos.

En el desarrollo de actividades la asistencia de los profesionales fue de importancia para la incorporación de elementos prácticos; asimismo, la participación de técnicos de diferentes áreas de trabajo (en campo como en laboratorios) facilitó el mejor desarrollo de metodologías, cumplimiento de normas de seguridad e higiene, como al conocimiento y comprensión del manejo de equipos, herramientas e insumos en las diferentes actividades realizadas.

Siendo, la PPS realizada en conjunto con la FAyA-UNSE e INTA brindó y facilitó las condiciones necesarias para lograr los objetivos planteados; a la vez, ayudo al desarrollo de habilidades al trabajo en equipo y mejor organización y proyección de actividades, resolución de problemas y al fortalecimiento de las relaciones interpersonales.

PRACTICO 1

PRIMERA CLASE PRÁCTICA ALUMNOS FAYA: CONDICIÓN CORPORAL E INSTALACIONES

Como parte del desarrollo del curso de producción bovinos para leche se realizó una clase teórico – práctico el día lunes 17 de abril a los estudiantes de la Facultad de Agronomía y Agroindustria (FAyA), en instalaciones de la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (EAGyG) ubicada en la Ruta Nacional N° 9 km 1620 S/N Villa Zanjón, Santiago del Estero.

La clase estuvo orientada a los alumnos de 4° y 5° año de la carrera de Agronomía de la facultad ya mencionada, ambos cursos pertenecen a la cátedra de producción de bovinos para leche.

La clase fue organizada por el docente encargado y responsable de la cátedra Ing. Agr. Gonzáles Pérez Miguel. El encargado del dictado y desarrollo del teórico – práctico fue el Med. Vet. (Esp., M.Sc.) Reiner Pablo Sebastián, del equipo de producción animal de la EEA INTA Santiago del Estero y docente de la UNSE.

El objetivo fue capacitar y reconocer forma teórica y práctica a los estudiantes del curso en las instalaciones y manejo de rodeos para cría y leche; incluyendo criterios de bienestar animal para el adecuado uso de las instalaciones logrando canalizar esto en un registro que permita la evaluación del tambo y generar los índices productivos del establecimiento.

Agenda de Clase:

- Sujeción del animal en las instalaciones adecuadas.
- Identificación mediante caravana.
- Evaluación de la condición corporal de los animales.

a. Actividades Desarrolladas

Antes de desarrollar la parte práctica de la clase, hubo una previa introducción teórica con el fin de describir las labores y mejor manejo de los conceptos para el óptimo desarrollo de la práctica. Se trabajó con un total de 15 animales de la raza Holstein Argentino en diferentes etapas. Cada uno de los animales se manejó de la misma forma y de manera sistemática.

A continuación, se muestran figuras que detallan la clase práctica:



Figura 18. Previa introducción a las actividades a realizar en la práctica.



Figura 19. Manga de ingreso de animales a evaluarse en la práctica.

Durante el desarrollo de la práctica se procedió a valorar la condición corporal, en donde los estudiantes afianzaron los conocimientos adquiridos en las aulas.



Figura 20. Evaluación de condición corporal por alumnos del curso.

Como parte del practico se graduó una balanza mecánica para tomar el peso con mayor presión de los animales y encontrar la relación a su condición corporal.



Figura 21. Reconocimiento de balanza para bovinos y explicación del funcionamiento.



Figura 22. Calibración de balanza.

Al finalizar la clase teórica – práctica dio como resultado a estudiantes capacitados y aptos para desarrollar técnicas mínimas en rodeos de bovinos para leche, generando registros de acuerdo a la evaluación de su condición corporal e identificando según los datos de la caravana.

b. Conclusiones

El tambo cuenta con las instalaciones adecuadas para un buen desarrollo de una producción de bovinos para leche.

Del total de animales evaluados en la practica la mayoría se encuentran en buena condición corporal.

c. Sugerencias

Ajustar algunos aspectos de las instalaciones para poder maximizar su uso y tener mejores resultados.

Realizar una saca de los animales que tengan condiciones muy bajas y no se logren recuperar.

PRACTICO 2

SEGUNDA CLASE PRÁCTICA: CRONOLOGÍA DENTARIA

Dentro del desarrollo de la cátedra de producción de bovinos para leche se considera de importancia generar clases teórico – prácticas para lograr destrezas y afianzar los conocimientos adquiridos en las aulas.

El objetivo del presente trabajo es evaluar e identificar el estado reproductivo y morfológico del rodeo de animales para leche de la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja (EAGyG) ubicada en la Ruta Nacional N° 9 km 1620 S/N Villa Zanjón, Santiago del Estero.

La clase del día lunes 08 de mayo, estuvo a cargo del Med. Vet. (Esp. M.Sc.) Reineri Pablo Sebastián, del equipo de producción animal de la EEA INTA Santiago del Estero y docente de la UNSE.

La agenda de trabajo:

- Sujeción del animal en las instalaciones adecuadas.
- Identificación mediante caravana.
- Determinación de la edad, mediante cronología dentaria.

El desarrollo de esta actividad fue utilizado para transferir, afianzar y desarrollar destrezas tanto teórico como práctico a los alumnos del curso como parte de su formación profesional en el ya mencionado establecimiento.

a. Actividades Desarrolladas

Para el desarrollo adecuado de la práctica se formaron grupos de trabajo cada grupo con tres integrantes, en total se evaluaron 21 animales de la raza Holstein Argentino en diferentes etapas.

Los datos obtenidos fueron la identificación por caravana y edad por cronología dentaria, se trata de un rodeo en buen estado y el rango entre edades es adecuado para el número total de cabezas que cuenta deduciendo que en su mayoría cuentan con animales jóvenes, considerando lo anterior, no es suficiente para la determinación de los índices productivos del tambo, pero si nos acerca a tener una visión general de cómo es su estado.



Figura 23. Presentación de responsables del tambo y previa introducción a las actividades a realizar.



Figura 24. Sujeción de los animales para evaluación de edad.



Figura 25. Determinación de edad por cronología dentaria.

b. Conclusiones

El tambo en mayor cuantía posee animales tiernos o jóvenes.

El tambo cuenta con las instalaciones adecuadas para un buen desarrollo de una producción de bovinos para leche.

c. Sugerencias

Desarrollar un sistema de registros que permita la evaluación constante de los animales y así mejorar de manera significativa el tambo.

Someter a evaluación nutricional a los animales implementando un plan nutricional que cubra sus necesidades fisiológicas, reproductivas y productivas.

Realizar control lechero midiendo la productividad de los animales evaluando de manera individual y conjunta para identificar posibles problemas.