

ISSN: 0798 - 7269

Zootecnia lropical AÑO 25 VOL. 25 No. 1 2007

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS - VENEZUELA

Agradecimiento

Los miembros del Comité Editorial de la revista *Zootecnia Tropical* desean expresar públicamente su agradecimiento a las siguientes personas por su valiosa colaboración en la revisión de los artículos científicos que conformaron el Volumen 24 del año 2006.

Adolfo Torres, INIA July Urdaneta, INIA Alexander Sánchez, INIA Leyla Rios, UCV Alvaro Ojeda, UCV Luis Dickson, INIA Aniello Barbarino, INIA Luis Marcano, INIA Antonio Manrique, UNERG Manuel Castejon, UCV Antulio Prieto, UDO María J. Pérez, INIA Belkis Vásquez, INIA Miguel Benezra, UCV Carlos Carmona, IVIC Néstor Obispo, INIA Cecilia Sánchez, INIA Noris Roa, INIA Cesar Obando, INIA Patricia Argenti, INIA Ramón D'Aubeterre, INIA Douglas Altuve, INIA Freddy Espinoza, INIA Rangel Jiménez, INIA Gonzalo Martínez, UCV Rosa Razz, LUZ Gustavo Morales, INIA Selina Camacaro, UCV Herminia Aliso, INIA Susmira Godoy, INIA Hilda Bastardo, INIA Thais Díaz, UCV José Alió, INIA Walkiria Aragort, INIA Yusmary Espinoza, INIA José Palma, INIA Judith Principal, UCLA Zuleima Chirinos, LUZ

De igual manera, agradecemos a todos aquellos investigadores que nos enviaron sus artículos y exhortamos a la comunidad científica del área de producción animal a seguir enviándonos sus trabajos a la revista *Zootecnia Tropical*.

SUMARIO Vol. 25 No. 1

Editorial

Agradecimiento

Artículos científicos

MARTÍNEZ-GONZÁLEZ J. C., CASTILLO-RODRÍGUEZ S. P., LUCERO-MAGAÑA F. A. y ORTEGA-RIVAS E. Influencias ambientales y heredabilidad para características de crecimiento en ganado Sardo Negro en México	1
PALACIOS E. A., ESPINOZA V .J. L., GONZÁLEZ-PEÑA D., GUERRA I. D., DE LA PEÑA R. DE L. y RODRÍGUEZ A. F. Estimación de componentes de covarianza con diferentes modelos para las primeras cuatro lactancias en ganado Holstein	9
ESPINOZA V. J. L., LÓPEZ A. R., PALACIOS E. A., ORTEGA P. R., ÁVILA S. N. y MURILLO A. B. Efecto del toro sobre el comportamiento estral de vacas Chinampas (<i>Bos taurus</i>) en una región tropical seca	19
DÍAZ DE RAMÍREZ A., RAMÍREZ I. L. N., MORILLO L. J. G. y BARRETO B. A. J. Infección con <i>Cryptosporidium</i> sp. y su asociación con diarrea en becerros de ganadería de doble propósito	29
QUIÑÓNEZ R., GONZÁLEZ C, POLANCO D., PERDOMO B. y ARAQUE H. Evaluación de diferentes tipos de deshidratación de raíz y follaje de yuca amarga (<i>Manihot esculenta</i>) sobre su composición química	37
MEDINA M. G., GARCÍA D. E., CLAVERO T., IGLESIAS J. M. y LÓPEZ J. G. Evaluación inicial de la morera (<i>Morus alba</i> L.) en condiciones de vivero	43
PARRA B., RUIZ L. J. y PRIETO A. Índices ecológicos y parámetros biométricos de Haemulidae (<i>Pisces: Perciformes</i>) en la zona costera de la Isla de Cubagua, Venezuela	51
RUFFINENGO S., MAGGI M, FAVERIN C., GARCÍA DE LA ROSA S. B., BAILAC P., PRINCIPAL J. y EGUARAS M. Toxicidad de aceites esenciales relacionados con <i>Varroa destructor y Apis mellifera</i> en condiciones de laboratorio	63

TABLE OF CONTENTS Vol. 25 No. 1

Editorial

Acknowledgements

Scientific articles

ARTÍNEZ-GONZÁLEZ J. C., CASTILLO-RODRÍGUEZ S. P., LUCERO-MAGAÑA F. A., and ORTEGA-RIVAS E. Environmental effects and heritability for growth traits in Sardo egro cattle from Mexico	
ALACIOS E. A., ESPINOZA V .J. L., GONZÁLEZ-PEÑA D., GUERRA I. D., DE LA EÑA R. DE L., and RODRÍGUEZ A. F. Estimation of covariance components for the first our lactations in Holstein cattle according to different models	
SPINOZA V. J. L., LÓPEZ A. R., PALACIOS E. A., ORTEGA P. R., ÁVILA S. N., and IURILLO A. B. Effect of bull on estrual behavior of Chinampo (<i>Bos taurus</i>) cows in a dry opical region	9
ÍAZ DE RAMÍREZ A., RAMÍREZ I. L. N., MORILLO L. J. G, and BARRETO B. A. J. fection with <i>Cryptosporidium</i> sp., and its association with diarrhea in calves of dual-purpose erds.	9
UIÑÓNEZ R., GONZÁLEZ C, POLANCO D., PERDOMO B., and ARAQUE H. Effect of afferent types of root and leaf dehydration of bitter cassava (<i>Manihot esculenta</i>) on its chemical composition	7
MEDINA M. G., GARCÍA D. E., CLAVERO T., IGLESIAS J. M., and LÓPEZ J. G. Initial valuation of mulberry (<i>Morus alba</i> L.) in nursery conditions	3
ARRA B., RUIZ L. J., and PRIETO A. Ecological indexes and biometric parameters of aemulidae (<i>Pisces: Perciformes</i>) in the coastal zone in the Cubagua island, Venezuela	1
UFFINENGO S., MAGGI M, FAVERIN C., GARCÍA DE LA ROSA S. B., BAILAC P., RINCIPAL J., and EGUARAS M. Essential oils toxicity related to <i>Varroa destructor</i> and <i>Apis nellifera</i> under laboratory conditions	3

Influencias ambientales y heredabilidad para características de crecimiento en ganado Sardo Negro en México

Juan Carlos Martínez-González^{1*}, Sonia Patricia Castillo-Rodríguez¹, Froylán Andrés Lucero-Magaña¹ y Eligio Ortega-Rivas²

¹ División de Estudios de Postgrado e Investigación, Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias. Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. *Correo electrónico: jmartinez@uat.edu.mx

² Asociación Mexicana de Criadores de Cebú, Naranjo No. 1006, Col. Águila, Tampico, Tamaulipas, México.

RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto de algunos factores ambientales en el peso al nacimiento (PN), peso ajustado a 205 (P205), 365 (P365) y 550 días (P550) y ganancia diaria predestete (GDP), así como estimar la heredabilidad (h²) para esas características en animales Sardo Negro. Se utilizó la información generada de 1997 a 2005 en ranchos ubicados en México. Los ranchos se dedican a la cría de ganado Sardo Negro de registro y pertenecían a la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Los modelos estadísticos incluyeron los efectos fijos de hato, año y época de nacimiento del animal (Seca y Lluviosa) y sexo (Macho o Hembra) y el efecto aleatorio del residual. El modelo para estimar la h² directa incluyó el efecto fijo de grupo contemporáneo (criador-año-época-sexo) y el efecto aleatorio aditivo directo. Los análisis se realizaron mediante los procedimientos de modelos lineales generales y máxima verosimilitud restringida libre de derivadas. Los promedios para PN, P205, P365, P550 y GDP fueron 32,9 185,1 281,4 384,9 y 0,742 kg, respectivamente. Las h² para efectos directos fueron 0,00 0,27 0,26 0,12 y 0,27 para PN, PD, P365, P550 y GDP, respectivamente. Los resultados de este estudio demuestran que los efectos ambientales son fuentes de variación relativamente importantes para P205, P365 y GDP. Las altas h² estimadas indican que es factible mejorar el crecimiento del ganado Sardo Negro a través de la selección.

Palabras clave: Sardo Negro, crecimiento, heredabilidad, ganado de registro.

Environmental effects and heritability for growth traits in Sardo Negro cattle from Mexico

ABSTRACT

Information on Sardo Negro cattle obtained from 1997 to 2005, from breeding herds, from the Mexican Association of Zebu Breeders, localized in herds of Mexico was used. The objectives of the study were to evaluate the effect of several environmental factors on birth weight (BW), weight adjusted to 205 (W205), 365 (W365), and 550 days of age (W550), and pre-weaning daily weight gain (DWG) and to estimate heritability (h²) for those traits. The statistical models included the fixed effects of herd, year and season of birth (dry and rainy) and sex of the calf (male or female). The model to estimate the h² included the fixed effect of contemporary group (herd-year-season-sex) and the direct additive random effect. Analyses were carried out using general linear models and multiple traits derivative-free restricted maximum likelihood procedures. Means for BW, W205, W365, W550, and DWG were 32.9 ± 1.5 , 185.1 ± 34.8 , 281.4 ± 50.1 , 384.9 ± 58.5 y 0.742 ± 0.170 kg, respectively. Heritability estimates for BW, W205, W365, W550, and DWG were 0.00 ± 0.08 , 0.27 ± 0.14 , 0.26 ± 0.13 , 0.12 ± 0.19 y 0.27 ± 0.14 , respectively. The results of this study show that environmental factors are important sources of variation for W205, W365, and DWG. The high h² estimates indicates that it is possible to improve the growth of Sardo Negro cattle by selection.

Keywords: Sardo Negro, growth traits, heritability, registered cattle.

Recibido: 30/03/2006 Aceptado: 14/11/2006

INTRODUCCIÓN

En México las zonas con clima tropical (húmedo y seco) abarcan el 27,7% del territorio nacional (Rzedowski, 1978) y juegan un papel importante en la producción de carne y leche (Tewolde y Dijk, 1993). Sin embargo, las condiciones ambientales que prevalecen en estos climas dificultan la producción animal principalmente con ganado bovino de origen europeo (*Bos taurus*) y donde el ganado Cebú (*Bos indicus*) destaca por sus características de adaptación para producir bajo dichas condiciones (De Souza *et al.*, 2003).

Los bovinos de razas cebuinas son los que predominan en los ecosistemas tropicales y subtropicales. La raza Sardo Negro, llamada la raza cebuina mexicana, es el resultado de seleccionar animales para producción de leche y carne y cuyo pelaje no se acepta para los patrones raciales de Gyr e Indubrasil (Bavera, 2002; AMCC, 1996). Esta raza ha demostrado que se adapta favorablemente a una gran gama de ambientes y climas tropicales y subtropicales. Es un ganado rústico de gran talla con excelente pigmentación de color negro, cuyos reportes de campo indican altas producciones de habilidad materna v excelente cruzamientos con Holstein y otras razas europeas (AMCC, 1996). Existen escasos y aislados estudios sobre características de crecimiento en el ganado Sardo Negro (Anónimo, 2002; Bremauntz, 2000; Martínez, 1999), por lo que la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú (AMCC) a partir de 1994 inició las primeras pruebas zootécnicas para implementar un programa de mejoramiento genético de cebuinos con el Programa de Control de Desarrollo Ponderal (PCDP). Este programa consiste en llevar registros de los pesos de los becerros desde el nacimiento hasta los 550 días, para lo cual se pesaban al menos cada 90 días y se registraba la condición de crianza (AMCC, 1996).

La información que está generando la AMCC a través de la implementación del PCDP en las condiciones de crianza del país puede servir para realizar evaluaciones genéticas, con lo que se espera mejorar la productividad de los animales Sardo Negro de las zonas tropicales al contar con parámetros genéticos que son una herramienta para establecer los programas de mejoramiento para incrementar la producción de carne (Eler *et al.*, 1995). Según datos

de la AMCC la población de animales de la raza Sardo Negro tiene 13,549 pesajes en el PCDP (Ortega *et al.*, 2005).

Por otro lado, en los estudios realizados en Brasil por Eler *et al.* (1995), Martins *et al.* (2000), Cabrera *et al.* (2001) y De Souza *et al.* (2003) se pudo observar que existe un importante efecto genético directo. La heredabilidad (h²) va de moderada a alta desde 0,12 a 0,59 para características de crecimiento, lo cual indica un buen potencial para progreso genético en el ganado *B. indicus*.

Algunos investigadores (Albuquerque y Meyer, 2001; Cabrera *et al.*, 2001) han señalado que los valores de h² pueden ser afectados por el genotipo del animal (efecto directo), por el de la madre (efecto materno) y por las covarianzas entre estos factores, particularmente en los períodos pre-nacimiento y predestete. También, los efectos ambientales propios de cada sistema de producción afectan los valores de h². Por lo tanto, la inclusión de todos estos factores serán fundamentales para la obtención de estimadores de heredabilidad precisos y confiables.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la productividad y las heredabilidades de características de crecimiento desde el nacimiento hasta el peso a los 550 días en animales de la raza Sardo Negro de registro de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizó la base de datos de los registros de PCDP de la AMCC con sede en Tampico, Tamaulipas, México La información registrada fue obtenida por los técnicos de dicha asociación para lo cual pesaban los animales de la raza Sardo Negro, al menos cada 90 días y nacidos entre 1997 y 2005.

El manejo zootécnico de los animales de la base de datos ha sido previamente descrito en otros trabajos (Martínez, 1999; Fernández *et al.*, 1997; Castro, 1995; Castillo, 1993). De manera general, los becerros fueron pesados e identificados con un tatuaje en la oreja o con arete de plástico al momento del nacimiento. Antes de ser destetados los animales fueron vacunados contra enfermedades producidas por clostridios y pausterelas. También, se trataban contra parásitos internos y externos. Los animales se

destetaban aproximadamente a los ocho meses de edad y en ese momento se identificaban con hierro candente (fierro de propiedad, número de identidad y año de nacimiento), se pesaban, revacunaban y desparasitaban de nuevo. El desarrollo postdestete se podía dar en una de tres diferentes modalidades: pastoreo, semi estabulación o estabulación. Los pastos más utilizados fueron yaragua (Hyperrhenia rufa), pangola (Digitaria decumbens), estrella (Cynodon nlemfuensis), guinea (Panicum maximum), elefante (Pennisetum purpureum) y Brachiaria (Brachiaria spp.).

Edición y análisis de la base de datos.

La base de datos proporcionada por la AMCC fue editada con los paquetes computacionales de Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1993), Microsoft Excel® y Microsoft Visual FoxPro 6.0®, con la finalidad de eliminar todos aquellos registros que no correspondieran a respuestas biológicamente normales o que se encontraban fuera del rango de dos desviaciones estándar, aquellos con datos incompletos y los que presentaran igual número de identificación del padre y la madre. Las variables consideradas para el estudio fueron: peso al nacimiento (PN), peso al destete ajustado a 205 días (PD), peso ajustado al año de edad (P365), peso ajustado a los 550 días de edad (P550) y ganancia diaria de peso predestete (GDP), de acuerdo a las fórmulas recomendadas por la Federación del Mejoramiento de la Carne (BIF, 2002).

Las variables ambientales fueron consideradas en el grupo contemporáneo (hato, sexo del animal, año y época de nacimiento), las épocas de nacimiento fueron definidas como época de sequía (enero-junio) y época de lluvias (julio-diciembre) y se incluyó la edad de la vaca como covariable lineal y cuadrática. Se consideró el efecto genético aditivo aleatorio de animal para estimar las covarianzas. El efecto materno aditivo y permanente no fue incluido debido a la estructura de los datos.

El modelo animal ajustado para cada una de las características fue:

$$Y = X\beta + Z\mu + e$$

donde: Y = vector de observaciones para PN, PD, P365, P550 ó GDP; $\beta = \text{es}$ el vector de efectos fijos (grupo contemporáneo y covariable lineal y cuadrática de edad de la vaca); X es la matriz que asocia β con Y, μ es el vector de efectos aditivos directos, Z es la matriz que asocia β con Y y e es el vector de efectos aleatorios residuales.

Para este modelo, los supuestos fueron

$$E[y] = X\beta$$

$$Var\begin{bmatrix} g \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\boldsymbol{\sigma}_{g}^{2} & 0 \\ 0 & I_{N}\boldsymbol{\sigma}_{e}^{2} \end{bmatrix}$$

donde: N es el número de registros, A es la matriz del numerador de relaciones de parentesco e I es la matriz de identidad del orden apropiado.

Las varianzas y covarianzas genéticas fueron estimadas por el método de máxima verosimilitud restringida usando un algoritmo libre de derivadas, utilizando el programa MTDFREML (Boldman *et al.*, 1995). Las heredabilidades se estimaron a partir de los componentes de varianza proporcionados por el mismo programa. El criterio de convergencia del modelo fue considerado en 1 x 10⁻¹³ y se realizaron tres reinicios en el análisis hasta que el cambio en el logaritmo de la función de verosimilitud fue menor a 1x10⁻⁴, para asegurar el mínimo global.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos fenotípicos

Las medias fenotípicas para cada una de las variables de crecimiento estudiadas en este trabajo se presentan en el Cuadro 1, donde se aprecia que la media para PN fue de 32,9 ± 1,5 kg. Este valor es similar al citado en el informe de la XL Asamblea General de la AMCC (Anónimo, 2002) y similar al de otras razas cebuinas, como por ejemplo Nelore del Brasil (Martins *et al.*, 2000) y Brahman de México (Ortega *et al.*, 2005) con pesos de 32,7 y 32,3 kg, respectivamente. Sin embargo, la media de PN de este

estudio fue superior al peso encontrado en ganado Gyr (Ribeiro *et al.*, 2005), pero inferior al reportado para el ganado Brahman (Cundiff *et al.*, 1996) y Guzerat (Pensabé *et al.*, 1991).

Con relación al PD, la media de peso fue de 185,1 ± 34,8 kg, el cual es superior al reportado en el informe de la XL Asamblea General de la AMCC (Anónimo, 2002), donde se menciona un peso de 175 kg para esta raza de becerros. Por otro lado, Ribeiro *et al.* (2005), De Souza *et al.* (2003) y Ortiz *et al.* (2004) mencionan que los becerros Nelore destetados aproximadamente a los siete meses de edad pesaron 155 kg en promedio, lo que puede ser el resultado del tipo de explotación dado que los animales únicamente se alimentaban de pastos. Cabe destacar que se han reportado pesos superiores a los del presente estudio para becerros Nelore (Garnero *et al.*, 2001) y Brahman (Castillo y Martínez, 1993).

Para el caso del P365, el valor encontrado fue de $281,4 \pm 50,1$ kg, el cual es superior al reportado por Eler *et al.* (1995) y Cabrera *et al.* (2001), quienes observaron en becerros Nelore una media de peso al año de 212 y 255,8 kg, respectivamente. Como es del conocimiento general, muchos productores de ganado

de registro suplementan al ganado después del destete con la finalidad de ofrecer animales en buenas condiciones para su comercialización.

La media de P550 fue de $384,9 \pm 58,5$ kg, la cual es similar a la citada en el informe de la XL Asamblea General de socios de la AMCC (Anónimo, 2002). Sin embargo, el P550 es superior al reportado para becerros de otras razas cebuinas, como los Nelore (Garnero *et al.*, 2001), Guzerat, Gyr e Indubrasil (Ribeiro *et al.*, 2005) en Brasil y de Brahman en Venezuela (Plasse *et al.*, 1994), con pesos de 252, 313, 292, 359 y 300 kg, respectivamente.

Por último, la media general para GDP fue de 0.742 ± 0.17 kg, valor similar al encontrado por Martínez (1999) para becerros de la raza Gyr que fueron presentados a exhibición, con una GDP de 0.743 ± 0.135 kg. Sin embargo, la GDP de este estudio fue inferior a la reportada para becerros Sardo Negro sometidos a prueba de comportamiento, los que alcanzaron una GDP/día de edad de 0.903 ± 0.067 kg, resultado que puede deberse a que se trataba de becerros machos y en estabulación completa (Bremauntz, 2000).

Cuadro 1. Estructura de los datos y medias fenotípicas de cada una de las características analizadas en ganado Sardo Negro

	en ganaao sa	140110810			
Variable†	Pedigrí	Sementales	Crías/Semental	Vacas	$\mu \pm \sigma$
					kg
PN	3209	186	1,804	1.204	$32,9 \pm 1,5$
PD	3209	124	1,558	864	$185,1 \pm 34,8$
P365	3209	127	1,519	940	$281,4 \pm 50,1$
P550	3209	87	1,598	424	$384,9 \pm 58,5$
GDP	3209	124	1,558	864	$0,742 \pm 0,170$

† PN = peso al nacimiento; PD = peso al destete; P365 = peso al año; P550 = peso a los 550 días;

Efectos genéticos

En el Cuadro 2 se presentan los componentes de varianza y las heredabilidades (h^2) de los análisis univariados para cada una de las características de crecimiento. La h^2 para PN fue de 0.00 ± 0.08 , que

puede ser considerada como baja según la clasificación de Preston y Willis (1974). No se encontraron trabajos publicados para el h² en el ganado Sardo Negro, por lo que la comparación se realizó con otras razas cebuinas. Resultados superiores fueron encontrados por Kriese *et al.* (1991)

GDP = ganancia diaria de peso; μ = media; σ = desviación estándar.

quienes publican h² para PN de becerros Brahman de 0,37. Sin embargo, Martins *et al.* (2000) analizaron datos de dos hatos de ganado Nelore en Brasil y reportaron h² de 0,59. Por otro lado, Eler *et al.* (1995) y Holanda *et al.* (2004) mencionaron que las h² para PN fueron de 0,23 en ganado Nelore en Brasil.

De igual modo, el valor de h² para PD fue de 0,27 ± 0,14, considerado como un valor medio (Preston y Willis, 1974). Valores superiores fueron señalados por Fernández *et al.* (1997) quienes al analizar el comportamiento de becerros Brahman encontraron que el h² del peso de destete a los 24 meses de edad fue de 0,66. Existen numerosos trabajos (Cabrera *et al.*, 2001; Gunski *et al.*, 2001) donde se señala que el h² para PD es moderado e inclusive bajo (Castro, 1995; Plasse *et al.*, 1994). Debido a que el h² fue medio se puede decir que parte de la variación entre animales está producida por el componente genético aditivo, siendo posible la

utilización de programas genéticos para mejorar esta característica, si los animales son sometidos a selección.

Similarmente, el h² para PA fue de 0.26 ± 0.13 y al igual que en el caso anterior se puede considerar como un parámetro genético de valor medio (Preston y Willis, 1974). Fernández *et al.* (1997) encontraron que el h² para el peso al año de edad de becerros Brahman fue de 0.66. Sin embargo, son numerosos los trabajos donde se menciona que el h² de PA es bajo (Martínez y Castillo, 1995; Eler *et al.*, 1995) o moderado (Cabrera *et al.*, 2001; Gunski *et al.*, 2001). La variación observada en la población de ganado Sardo Negro sugiere que es posible el establecimiento de programas de mejoramiento genético debido a que una mediana proporción del peso al año de edad esta influenciada por genes aditivos.

Cuadro 2. Componentes de varianza y heredabilidad para las variables analizadas en ganado Sardo Negro de registro en México

Variable	$\sigma_a^2\dagger$	$\sigma_{\rm e}^2$	σ_{p}^{2}	$h^2 \pm \sigma_{h^2}$
Peso al nacimiento	0,000	0,9272	0,9272	$0,00 \pm 0,08$
PD peso al destete	218,8	604,9	823,7	$0,27 \pm 0,14$
P365 peso al año	399,9	1.130,6	1.530,5	$0,26 \pm 0,13$
P550 peso a los 550 días	170,9	1.239,8	1.410,7	$0,12 \pm 0,19$
Ganancia diaria de peso	5.305,9	24.345,8	19.651,7	$0,27 \pm 0,14$

[†] σ_a^2 = varianza aditiva; σ_e^2 = varianza ambiental; σ_p^2 = varianza fenotípica; σ_e^2 = heredabilidad.

La estimación del h² para P550 fue de 0,12 ± 0,19 que se traduce en un efecto aditivo bajo, el cual es inferior al que reportaron Garnero *et al.* (2001) y Martínez (1999) quienes encontraron valores entre 0,52 a 0,99 con datos de ganado Nelore, Gyr, Indubrasil y Brahman. No obstante, otros investigadores (Gunski *et al.*, 2001) señalaron h² moderados a bajos para peso a los 18 meses de edad. La variabilidad observada en este estudio puede deberse principalmente a efectos ambientales y es el resultado del manejo de los animales a esta edad.

Por último, el h^2 para ganancia diaria de peso fue de 0.27 ± 0.14 y al igual que en los casos de P205 y P365 se puede considerar como un valor medio (Preston y Willis, 1974), que corresponde a animales que se encuentran en crecimiento. Datos superiores

fueron reportados por otros investigadores (Martínez, 1999; Fernández *et al.*, 1997) en ganado Brahman, Gyr, Indubrasil y Nelore. Sin embargo, Kriese *et al.* (1991) señalaron que h² para ganancia diaria de peso predestete fue moderado (0,31). Una mediana proporción de la varianza fenotípica es debida a efectos genéticos aditivos lo que podría traducirse en avances genéticos en el mejoramiento de las características de crecimiento del ganado Sardo Negro de registro.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados del presente estudio se puede concluir que las constantes productivas del ganado Sardo Negro están dentro de los patrones publicados para el ganado Cebú en condiciones tropicales. Los índices de herencia en general fueron altos excepto para peso al nacimiento y peso a los 550 días, lo que posibilita el progreso genético por medio de la selección de características de crecimiento en la población de ganado Sardo Negro de registro en México.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento a los Fondos Sectoriales SAGARPA-CONACYT por el financiamiento para la realización de este estudio a través del convenio SAGARPA-2002-C01-0316 y al Ing. Manuel Luciano Guzmán Siller, Presidente de la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú.

LITERATURA CITADA

- Albuquerque G.L. y K. Meyer. 2001. Estimates of direct and maternal genetic effects for weights from birth to 600 days of age in Nellore Cattle. J. Anim. Breeding Gen., 118: 83-92.
- AMCC. 1996. Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México. 72 p.
- Anónimo. 2002. XL Asamblea General Ordinaria de la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Cebú Mex.. Julio: 11-19.
- Bavera G. 2002. Sardo Negro. Documento en línea: http://www.produccionbovina.com/informacion_t ecnica/razas_bovinas/50-raza_sardo_negro.htm
- BIF. 2002. Uniform Guidelines for Beef Improvement Programs. 8^{va} ed. Beef Improvement Federation, Animal y Dairy Science Department, The University of Georgia. Athens, GA, USA.
- Boldman K.G., L.A. Kriese, L.D. Van Vleck y S.D. Kachman. 1993. A Manual for Use of MTDFREML. A set of programs to obtain estimates of variances and covariances. Agricultural Research Service, USDA.
- Bremauntz A.E. 2000. Prueba de comportamiento en Veracruz. Cebú Mex., Septiembre: 32-33.

- Cabrera M.E., A.V. Garnero, R.B. Lobo y R.J. Gunski. 2001. Effects of the inclusion of direct-maternal genetic covariance in the analysis of growth traits in Nellore cattle. Livestock Res. Rural Dev., (13)3: www.cipav.org.co/1rrd/1rrd13/3/cabr133.htm
- Castillo S.P. 1993. Factores genéticos y ambientales de características productivas y reproductivas de un hato Brahman bajo condiciones de trópico seco. Tesis Master. Universidad Autónoma de Tamaulipas, Ciudad Victoria, Tamaulipas. México.
- Castillo S.P. y J.C. Martínez. 1993. Factores ambientales y genéticos en el peso al destete de becerros Brahman en trópico seco. Memorias VI Reunión de Avances en Investigación Agropecuaria. Universidad de Colima. Colima, Colombia p. G4-G7.
- Castro S.A. 1995. Predicción de valores genéticos para crecimiento predestete en ganado Indubrasil. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Cundiff L.V., F. Szabo, K.E. Gregory, R.M. Koch, M.E. Dikeman y J.D. Crouse. 1996. Breed comparisons in the germoplasma evaluation program at MARC. USDA, Clay Center, Nebraska, USA.
- De Souza J.C., C.H. Gadini, L.O.C. Da Silva, A.A. Ramos, K.E. Filho, M.M. De Alentar, P.B.F. Filho y L.D. Van Vleck. 2003. Estimates of genetic parameters and evaluation of genotype x environment interaction for weaning weight in Nellore cattle. Arch. Latin. Producción Anim., 11(2): 94-100.
- Eler J.P., L.D. Van Vleck, J.B.S. Ferraz y R.B. Lobo. 1995. Estimation of variances due to direct and maternal effects for growth traits in Nelore cattle. J. Anim. Sci., 73: 3253-3258.
- Fernández A., C.U. Magnabosco, M. Ojala, A.R. Caetano y T.R. Famula. 1997. Grupa bien conformada, mayor peso y mejor productividad. México Ganadero, 420(Febrero): 29-31.

- Garnero A.V., R.J. Gunski, E.B. Schwengber y R.B. Lôbo. 2001. Comparación entre criterios de selección para características de crecimiento correlacionados con edad al primer parto en la raza Nelore. Livestock Res. Rural Dev., (13)2: www.cipav.org.co/lrrd/lrrd13/2/garn132.htm
- Gunski R.J., A.V. Garnero, B.A. De los Reyes, B.L.A. Framartino y R.B. Lôbo. 2001. Estimativas de parámetros genéticos para características incluidas em criterios de seleçãon em gado Nelore. Ciencia Rural Santa María, 31(4): 603-607.
- Holanda M.C.R., S.B.P. Barbosa, A.C. Ribeiro y K.R. Santero. 2004. Tendências genéticas para crescimento em bovinos Nelore em Pernambuco, Brasil. Arch. Zootecnia, 53: 185-194.
- Kriese L.A., J.K. Bertrand y L.L. Benyshek. 1991. Genetic and environmental growth trait parameter estimates for Brahman and Brahman-derivative cattle. J. Anim. Sci., 69: 2362-2370.
- Martínez G.J.C. 1999. Tendencias fenotípicas, genéticas y ambientales de características de crecimiento en el ganado Cebú. Tesis Doctorado. Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. p. 119.
- Martínez J.C. y S.P. Castillo. 1995. Factores ambientales y genéticos sobre el peso al año de edad de becerros Brahman en trópico seco. Avances Inv. Agrop., 4: 57-62.
- Martins A.G., M.R. Filho, M.F. Lima y B.R.N. Lôbo. 2000. Influência de fatores genéticos e de meio sobre o crescimento de bovinos de raça Nelore no Estado do Maranhão. Rev. Bra. Zootecnia, 29(1): 103-107.
- Ortega R.E., J.C. Martínez, G.M. Parra y F.J. García. 2005. Catálogo de Sementales. Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México.

- Ortiz P.C.D., R. Carvalheiro, S.A. Queiroz y L.A. Fries. 2004. Comparison of selection criteria for pre-weaning growth traits of Nellore cattle. Livestock Prod. Sci., 86: 163-167.
- Pensabé C.C., F. Martinez, M.U. Leal y J. Quiroz. 1991. Evaluación de becerros de rejerguería en el trópico. Memorias. Cuarta Reunión Científica Forestal y Agropecuaria. CIPAF. Villahermosa, Tabasco, México.
- Plasse D., O. Verde, J. Beltrán, N. Márquez, A. Capriles, L. Arriojas, T. Shultz, N. Braschi y A. Benavides. 1994. Tendencias anuales de producción e influencias genéticas y ambientales en un rebaño Brahman genéticamente cerrado. 1. Pesos y mortalidad de becerros. Arch. Latin. Producción Anim., 2: 85-102.
- Preston T. y M. Willis. 1974. Producción Intensiva de Carne. Editorial Diana, México.
- Ribeiro-de Freitas A., C.V. Presotti y F.L. Buranelo-Toral. 2005. Alternativas de análises em dados de medidas repetidas de bovinos de corte. Rev.. Bra. Zootecnia, 4(6 Supl.): 2233-2244.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Limusa, México.
- SAS Institute. 1993. SAS User's Guide. 5^{ta} ed. SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Tewolde A. y V.J. Dijk. 1993. Conservation and preservation of animal genetics resources in dairy and beef cattle of Latin America. CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Estimation of covariance components for the first four lactations in Holstein cattle according to different models

Alejandro Palacios Espinoza¹, José Luis Espinoza Villavicencio^{1*}, Dianelys González-Peña², Danilo Guerra Iglesias², Rafael de Luna De La Peña¹ y Felipe Rodríguez Almeida³

¹ Universidad Autónoma de Baja California Sur, Carretera al Sur km. 5.5, CP 23000, La Paz, BCS, México.

² Instituto de Ganadería Tropical, Carretera Central km 21.5, Cotorro, La Habana, Cuba.

³ Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia, Periférico Francisco R. Almada, Chihuahua, Chih., México.

*Correo electrónico: <u>ilvilla@uabcs.mx</u>

ABSTRACT

Milk production of Cuban Holstein cows was analyzed. There were 15415 lactation records of 9382 cows, which gave birth to the calves of 482 sires. Three models were established to study the milk production for 305 days during each of the first four lactations. Model I was an independent univariate analysis of milk production for lactation. Model II was a repeatability model where lactation was considered the repeated measurement of the same characteristic. Model III was a multivariate analysis in which each lactation was considered an independent characteristic correlated with the rest. The program REMLF90 was used for the analyses. The data show that for the Holstein breed under these study conditions, the estimation of covariance components for milk yield in the first four lactations are best carried out using a multivariate animal model.

Keywords: covariance, heritability, correlations, Cuban Holstein.

Estimación de componentes de covarianza con diferentes modelos para las primeras cuatro lactancias en ganado Holstein

RESUMEN

Fueron analizadas 15415 lactancias de 9.382 vacas Holstein en Cuba, hijas de 482 sementales. Se establecieron tres modelos para estudiar la producción de leche en 305 d durante las primeras cuatro lactancias. El Modelo I fue un análisis univariado de la producción de leche de cada lactancia, el Modelo II fue un modelo de repetibilidad donde cada lactancia se considera una medida repetida de un mismo rasgo y el Modelo III fue un análisis multicarácter donde cada lactancia se consideró un rasgo independiente correlacionado con las restantes. Se empleó para el análisis el programa REMLF90. De los resultados obtenidos se puede concluir que en la raza Holstein bajo las condiciones en estudio, la estimación de componentes de covarianza se pueden llevar a cabo favorablemente mediante un modelo animal multicarácter, siendo éste modelo la mejor opción para la evaluación genética de bovinos Holstein respecto a la característica producción de leche en sus primeras cuatro lactancias.

Palabras clave: covarianza, heredabilidad, correlaciones, Holstein Cubano.

INTRODUCTION

There are various procedures for predicting the milk yield genetic value of dairy cattle (Norman et

al., 1991). Generally, the primary goal of evaluation is to obtain precise predictions of the genetic value of an individual, so that the genetic gain of the population can be maximized (Henderson, 1975).

Recibido: 24/10/2006 Aceptado: 02/02/2007

Thus, the correct estimation of genetic parameters that guarantee an accurate prediction of genetic merit is of great importance (Schaeffer, 1984). The basic difference between the procedures is related mainly to the amount of information used, and the possibility of making more frequent evaluations without having to manipulate a great amount of information (Martínez et al., 1999).

In authors this way, numerous have demonstrated that information about the first lactation is a good indicator of the productive performance of a cow. In general, the genes that affect milk production in the first lactation also influence production in the following, and although it is desirable to include more lactations, this can cause a dramatic change in rank of genetic values due to selection effects (Teepker & Swalve, 1988; Alburquerque et al., 1996; Pösö & Mäntysaary, 1996a; Guo et al., 2002). García-Cortés et al. (1995) demonstrated that medium to high positive genetic correlations exist among the milk yields of the first lactation and the rest, and recommended a multivariate analysis including the four first lactations.

The present work was conducted to estimate the covariance components of milk yield during 305 days of each of the first four lactations of Holstein cows under Cuban environmental conditions and management, using the BLUP procedure, and univariate, repeatability, and multivariate animal models.

MATERIALS AND METHODS

The information analyzed was collected at several Holstein cattle farms in Havana province, located between 20 and 23° N, and 74 and 85° W. A warm tropical climate prevails in most of Cuba. There are two clearly defined seasons: the rainy (summer) season from May to October, in which 70-80% of rain falls (960 mm), and the dry (winter) season from November to April (240 mm). The average annual temperature is 23.1°C, with relative humidity of 60-70% during the day and 80-90% during the night (Hernández *et al.*, 1998).

There were 15,415 at 305-day milk production records of Holstein cows which calved between 1990

and 2003, distributed in 188 farms. The feeding system was based on grazing by approximately 12 h a day. Cows were fed mainly Stars grass (*Cynodon nlemfuensis*) and Guinean grass (*Panicum maximum*), but during the rainy season, the cows were fed additional natural grass. Cows were milked twice a day, and during each milking they were fed 0.45 kg of concentrate per liter of milk from the fourth liter produced. In the afternoon, the animals were kept in the barn and fed cut forage such as King Grass (*Penisetum purpureum*) and Cane sugar (*Saccharum officinarum*).

Production data were included for any and up to the first four lactations. There were 9,382 first (L1), 3,468 second (L2), 1,604 third (L3), and 961 fourth (L4) lactations recorded. The quarter of the year of calving was used as a time criterion. Contemporary groups were defined by the combination of farm, and the year and quarter of calving. The genealogy file was comprised by 40,591 animals. This included all known individuals up to the second generation of ancestors, and in cases that the identity of an ancestor was not known, it was replaced with a zero. The data were analyzed with the program REMLF90 (Misztal, 1999), which uses a REML procedure with an accelerated EM algorithm. The following statistical models were used.

Model I. Univariate analysis

The lactations were analyzed individually using the following model:

$$y = Xb + Za + e$$

where:

y is the observation vector, in this case the L1, L2, L3, or L4 records.

b is the fixed effects vector of the group of contemporaries (year-farm-quarter) and of the calving cow, as linear and quadratic covariable.

a is the additive random genetic effects vector of the animal.

e is the residual random effects vector.

X and **Z** are the incidence matrices that relate the data to the fixed and random effects, respectively.

It is assumed that

$$\operatorname{var}\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 \\ 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

where: A is the matrix of additive relationships

between individuals, I is the identity matrix, and σ_a^2

and σ_e^2 are the additive and residual genetic variances, respectively.

Model II. Repeatability analysis

Milk production records per lactation were used as repeated measurements for a given animal. This assumes genetic correlation equal to 1 among the various lactation measurements, according to the following statistical model:

$$y = Xb + Za + Wpe + e$$

in which y, b, a, e, X, and Z are defined as in Model I, but with the production observations for the different lactations as if they were a single characteristic, pe is the random effects vector of the permanent environment, and W is the incidence matrix that relates the observations in y with the cows in question.

It is assumed that

$$\operatorname{var} \begin{bmatrix} a \\ pe \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 & 0 \\ 0 & I\sigma_{pe}^2 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

where: σ_{pe}^2 is the variance of permanent effects in the natural environment.

Model III. Multivariate analysis

The following statistical model was adjusted for the four lactations:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \\ y_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & X_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & X_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & X_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \\ b_3 \\ b_4 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & Z_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & Z_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & Z_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \\ a_4 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \end{bmatrix}$$

where:

 y_i is the production observation vector for the *i*-th lactation.

 b_i is the fixed effects vector (year-farm-quarter, and age at calving as linear and quadratic covariables) for the i-th lactation.

 a_i is the random effects vector of the animal for the i-th lactation.

 e_i is the random residual effects vector for the *i*-th lactation.

 X_i and Z_i are design matrices that relate the data to the fixed and random effects, respectively.

It is assumed that

$$\operatorname{var} \begin{bmatrix} a_i \\ e_i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G_0 \otimes A & 0 \\ 0 & R_0 \otimes I \end{bmatrix}$$

where:

 G_0 is a matrix of additive genetic variances-covariances of the four lactations, and R_0 is a matrix of variances-covariances of residuals of the lactations. A is the matrix of additive genetic relationships, and I

is the identity matrix. Thus, each lactation was considered as an independent characteristic.

RESULTS AND DISCUSSION

Milk yield

Table 1 shows averages and standard deviations for milk yield of the 305-day lactations, and the calving ages (AC). The averages for milk yield in this study were a little higher than those of Friesian cows in Zimbabwe (2015 kg) in the smallholder sector, in that natural pasture accounted for 90% of feed available during the wet season (Ngongoni et al., 2006). However, the averages for milk yield in this study were lower than those observed in Brazil by other authors for the same breed (Barbosa & Fernandes, 2000; Ferreira et al., 2001; Arione et al., 2005) and for Brown Swiss (Vieira et al., 2003). Milk yield was lower than that observed for Harton from Valley x Holstein Colombian cows, grazing in a tropical environment and feeding on a concentrated supplement during milking (Vargas et al., 2006). These differences, probably due to the downfall of socialism in eastern Europe, had serious repercussions Cuba's trade situation and undermined development of the livestock sector. Since then, Cuba's livestock sector has emphasized selfsufficiency, based on the utilization of pasture (Pérez, 1999). During the 90s, milk production in Havana province was reduced from 320 to 60 million liters annually, which parallels the importation of cattle feed (Monzote et al., 2005).

Heritability

Variance components and heritabilities obtained with each model appear in Table 2. A larger residual variance for later lactations is observed relative to the first. The univariate and multivariate models showed larger residual variance in the later lactations than the first. This could be caused by factors that do not influence the first lactation, but only the following, such as previous dry period and period of service, among others (Teixeira *et al.*, 1996).

Similarly, heritability was estimated by applying the REML method, using records for

another Cuban Holstein herd from between 1990 and 2000 (González–Peña *et al.*, 2003) and using the DFREML algorithm in Ayrshire cattle in Kenya (0.12) where the poor performance is not only due to the direct effect of climate, but more importantly the poor quality of roughage, low concentrate feed inputs and the high incidence of diseases and parasites and poor economic environment and infrastructure (Amimo *et al.*, 2007).

Table 1. Numbers of observations (N), averages and standard errors (±) of milk yield (MY) for each lactation (L1 to L4) and average ages at calving (AC)

Lactation	N	MY	AC
		kg	month
L1	9382	2260 ± 789	34.3 ± 8.8
L2	3468	2204 ± 815	50.7 ± 10.9
L3	1604	2274 ± 752	68.9 ± 13.3
L4	961	2355 ± 760	82.7 ± 14.3

In general however, the heritability values determined in each model were below those found in the Holstein breed from Japan (0.30), and Mexico (0.26), in which Mitsuyoshi & Van Vleck (1994) and Palacios-Espinosa *et al.* (2001), respectively, applied DFREML using an animal model with repeated records to estimate variances. A MTDFREML algorithm was used on Holstein cattle from Brazil (Barbosa & Fernández, 2000), and a heritability value of 0.30 was obtained.

A limited number of records used for parameter estimation, which are not confirmed by repeated estimations based on different random samples of data, may lead to misleading results (Strabel *et al.*, 2005). Accordingly, Pool *et al.* (2000) stated that their preliminary results from 8000 lactations were inconsistent and indicated that more data should have been used for estimation. In a study using the AIREML algorithm of lactation records for crossbred Holstein cattle from dairy organizations and smallholders throughout Thailand, heritability was upwardly biased when data from only small herds

were included. This might imply that a small number of records per contemporary group affected the estimate and caused confusion between additive and permanent environmental effects (Chanjivit *et al.*, 2005). Based on these references, the estimated heritability for the third (1604 records) and fourth (961 records) lactations, using the univariate model in this study might be downwardly biased. In other work however, the heritability of milk yield was 0.31 when

274 records were used in a linear regression model (Yang *et al.*, 2005).

The heritability values obtained for each lactation using univariate analysis were lower than those using the repeatability model, but the repeatability model assumed that yields in different lactations had a genetic correlation of 1 (Yang *et al.*, 2005). In this study the genetic correlations between lactations were less than 1.

Table 2. Additive genetic components of variance (σ^2 a), residuals (σ^2 e), and heritabilities (h^2) of milk yield estimated with the studied models.

Model	Lactation	σ^2 a	σ^2 e	σ^2 pe	h^2
	L1	20658	126700		0.15
T	L2	22229	158000		0.13
1	L3	24744	234300		0.10
	L4	23139	218400		0.10
II		33993	168074	22621	0.16
	L1	23071	125100		0.17
III	L2	27768	159600		0.16
111	L3	37450	202300		0.16
	L4	32650	200500		0.14

Using multivariate analysis, the heritabilities for the first and second lactations were close to those estimated by the repeatability model, while those of the third and fourth lactations were higher, possibly due to correction of selection bias made by multivariate analysis.

The performance of the heritability estimates in this study coincides with that of Alburquerque *et al.* (1996), who concluded that the heritability for milk yield in the first lactation was higher than for later lactations. Al-Seaf *et al.* (2007), using a MTDFREML algorithm, obtained heritabilities of milk yield in Holstein cows of 0.18, 0.18, and 0,14 for lactations 1, 2, and 3+, respectively. However, Pösö & Mäntysaary (1996b), using linear multitrait REML, showed that the heritability for the third lactation was higher than for the second. A multiple-lactation model was applied in the first 3 lactations of Polish

Black and White cattle by Strabel & Jamrozik (2006), who found heritabilities of 0.18, 0.16, and 0.17 for 305-day milk yields in the first 3 lactations.

In this study, estimates of heritability for yields in later lactations were a little less than for lactations 1 and 2 (univariate analysis) or lactation 1 (multivariate analysis); this could result from selection in lactations 1 and 2, which could reduce the range of differences of later records (Al-Seaf *et al.*, 2007).

Correlations

The lowest genetic correlations across lactations were between first and third parities (0.62) and the highest between third and fourth parities (0.88); the rest varied between 0.02 and 0.21 (Table 3). Another study reported genetic correlations of

0.69 0.79, and 0.98 between parities 1 and 2, 1 and 3, and 2 and 3, respectively (Mrode & Swanson, 2003). Carlén *et al.* (2004) found the highest genetic correlations across lactations between second and third parities (0.99) and the lowest between first and third parities (0.90) in Holstein cows. Estimates of genetic correlations above 0.96 between 305-d milk production for different parities were reported in Chinese Simmental cattle (Yang *et al.*, 2005).

In this research, the differences in genetic and residual correlations among lactations varied between 0.47 and 0.63, so application of multivariate analysis is valid according to Schaeffer (1999), who suggested the feasibility of this type of analysis for characteristics where there are large differences between the genetic and residual correlations, preferably greater than 0.50.

Table 3. Genetic (above the diagonal) and environmental correlations (below the diagonal) of milk yield among lactations (L1 to L4), estimated with the multivariate analysis

Lactation	L1	L2	L3	L4
L1	1	0.68	0.62	0.65
L2	0.21	1	0.73	0.80
L3	0.10	0.17	1	0.88
L4	0.02	0.04	0.08	1

Breeding values

Expected progeny difference (EPD) values for the worst and best sires for each lactation and model used appear in Table 4. Notice that the greatest differences appeared with Model II, but this is because the analysis included all lactations from the first to the fourth. Therefore there is a greater variation, and the sires with first lactation calves only could be affected. With the univariate model, higher differences between maximum and minimum breeding values (worst and best sires) were in lactations 1 and 2, whereas with the multivariate model greater differences occurred in the third and fourth lactation. For a given lactation, the greatest difference between maximum and minimum breeding values occurred when multivariate analysis was applied. These differences probably favor a multivariate model, due to correction of selection bias. For example, the predicted breeding values for the third lactation varied from -141.7 to 81.5 kg when the univariate model was used, indicating that the calves had a genetic amplitude of 223.2 kg, but that amplitude was almost 40% greater when a multivariate model was used.

The correlations of Pearson and Spearman appear in Table 5 above and below the diagonal, respectively, for the estimated genetic values for the sires in the different models. In univariate and multivariate models, the genetic correlations for the different lactations varied from 0.02 to 0.15 and from 0.72 to 0.97, respectively. The residuals went from 0.04 to 0.33 in Model I, and from 0.65 to 0.96 in Model III, showing correlations from 0.02 to 0.98 among the estimated genetic values. Correlations among estimated genetic values in Model II varied from 0.03 to 0.38 with Model I, and from 0.32 to 0.38 with Model III. These results suggest a greater consistency in global response to selection using a multivariate animal model in the prediction of genetic values.

	st and worst sites obtain			
Model	Lactation	Minimum	Maximum	Difference
			Kg	
	L1	-141.5	224.5	366.0
T	L2	-59.2	53.8	113.0
1	L3	-141.7	81.5	223.2
	L4	-79.4	65.3	144.7
II	All lactations	-339.5	293.5	633.0
	L1	-172.4	235.7	408.1
III	L2	-150.5	151.3	301.8
111	L3	-311.7	247.9	559.6
	L4	-266.9	213.4	480.3

Table 4. Differences in the expected progeny difference (EPD) for milk yield between the best and worst sires obtained with the studied models

Table 5. Correlations of Pearson (above the diagonal) and Spearman (below the diagonal) among estimated genetic values for milk yield obtained with the studied models

Mode	Lactation -		Mod	del I		Model II		Mod	lel III	
1	Lactation	L1	L2	L3	L4	-	L1	L2	L3	L4
	L1	1.00	0.06	0.02	0.30	0.38	0.98	0.68	0.60	0.70
T	L2	0.04	1.00	0.05	0.14	0.18	0.17	0.66	0.50	0.53
1	L3	0.06	0.33	1.00	0.15	0.03	0.08	0.43	0.68	0.51
	L4	0.27	0.19	0.09	1.00	0.25	0.33	0.28	0.22	0.37
II	-	0.33	0.18	0.02	0.29	1.00	0.43	0.40	0.37	0.41
	L1	0.97	0.15	0.02	0.31	0.38	1.00	0.79	0.72	0.81
III	L2	0.62	0.64	0.42	0.29	0.36	0.74	1.00	0.93	0.97
111	L3	0.53	0.49	0.66	0.22	0.32	0.65	0.92	1.00	0.97
	L4	0.65	0.51	0.48	0.36	0.38	0.77	0.96	0.96	1.00

CONCLUSIONS

The results presented here show that the multivariate animal model was the best for genetic evaluation of milk yield for Holstein cattle in Cuba. This model produced the greatest differences between genetic and residual correlations, the highest heritability values for the four lactations, the highest values of expected progeny difference for the best and worst sires, as well as the greatest correlation among estimated genetic values. In addition, the fact that genetic correlations for milk yields between parities all are not equal to 1 proved adequately that estimation of genetic parameters for milk yields using a multivariate animal model on parities was more

reasonable than a repeatability animal model in Cuban Holstein cattle.

LITERATURE CITED

Alburquerque L.G., J.F. Keow & L.D. Van Vleck. 1996. Genetic parameters of milk, fat and protein yields in the first three lactations, using an animal model and restricted maximum likelihood. Rev. Bras. Genet., 19(1): 79-86.

Al-Seaf A., J.F. Keown & L.D. Van Vleck. 2007. Genetic parameters for yield traits of cows treated

- or not treated with bovine somatotropin. J. Dairy Sci., 90(1): 501-506.
- Amimo J.O., J.W. Wakhungu, B.O. Inyangala & R.O. Mosi. 2007. The effects of non-genetic factors and estimation of genetic and phenotypic parameters and trends for milk yield in Ayrshire cattle in Kenya. Livestock Res. Rural Develop., 19(1): http://www.cipav.org.co/lrrd /lrrd19/1/amim19013.htm
- Arione A.B., P.R. Nogara, G.B. Barbosa, T. Weber, C.J. Kippert & J. Andreazza. 2005. Herdabilidade e tendência genética para as produções de leite e de gordura em rebanhos da raça Holandesa no estado do Rio Grande do Sul. Rev. Bras. Zootec., 34(5): 1512-1518.
- Barbosa G.B. & H.D. Fernández. 2000. Parâmetros genéticos para características produtivas em bovinos da raça Holandesa no estado de Goiás. Rev. Bras. Zootec., 29(2): 421-426.
- Carlén E., E. Strandberg & A. Roth. 2004. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. J. Dairy Sci., 87(9): 3062–3070.
- Chanvijit K., M. Duangjinda V. Pattarajinda & Ch. Reodecha. 2005. Model comparison for genetic evaluation of milk yield in crossbred Holsteins in the tropics. J. Appl. Genet., 46(4): 387-393.
- Ferreira A., M. Cordeiro, J. Valente, N.M. Teixeira, M.L. Martínez & M.L. Magalhães. 2001. Parâmetros genéticos para produções de leite e gordura nas três primeiras lactações de vacas Holandesas. Rev. Bras. Zootec., 30(3): 709-713.
- García-Cortés L.A., L. Moreno & L. Varona. 1995. (Co) variance components estimation of yield traits between different lactations using animal model. Livestock Prod. Sci., 43(2): 111-117.
- González-Peña D., A. Fernández, D. Guerra & J. Ortiz. 2003. Causas de variación que afectan la producción de leche en vacas Holstein.

- Resúmenes Concurso Científico Juvenil Municipal. CIMA, La Habana, Cuba. p. 35.
- Guo Z., M.S. Lund, P. Madsen, I. Korsgaard & J. Jensen. 2002. Genetic parameters estimation for milk yield over multiple parities and various lengths of lactation in Danish Jerseys by random regression models. J. Dairy Sci., 85(6): 1596-1606.
- Henderson C.R. 1975. Use of all relative in intraherd prediction of breeding values and producing abilities. J. Dairy Sci., 58: 1910-1916.
- Hernández I., M. Milera, L. Simón, D. Hernández, J. Iglesias, L. Lamela, O. Toral, C. Matías & G. Francisco. 1998. Avances en las investigaciones en sistemas silvopastoriles en Cuba. Memorias Conferencia electrónica "Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica". FAO-CIPAV. pp. 47-59.
- Martinez M.L., R.S. Verneque, R.L. Teodoro, A.A. Pimental & W.J. Ferreira. 1999. Análise comparativa de procedimentos metodológicos para avaliação genética de vacas para produção de leite. Rev. Bras. Zootec., 28(3):495-503.
- Misztal I. 1999. REMLF90 Manual. Disponible en: http://nce.ads.uga.edu/~ignacy/numpub/blupf90 /docs/remlf90.pdf
- Mitsuyoshi S. & L.D. Van Vleck. 1994. Heritability and repeatability for milk production traits of Japanese Holstein from an animal model. J. Dairy Sci., 77(2):583-588.
- Monzote M., E Muñoz & F. Funes-Monzote. 2005. Integración ganadería agricultura. Desarrollo Aternativo AC. Disponible en: http://www.laneta.apc.org/desal/spip/article.ph p3?id_article=52
- Mrode R.A. & G.J.T. Swanson. 2003. Estimation of genetic parameters for somatic cell count in the first three lactations using random regression. Livestock Prod. Sci., 79(2-3): 239-247.

- Ngongoni N.T., C. Mapiye, M. Mwale & B. Mupeta. 2006. Factors affecting milk production in the smallholder dairy sector of Zimbabwe. Livestock Res. Rural Develop., 18(5): http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd18/5/ngon 18072.htm
- Norman H.D., R.L. Powell & G.R. Wiggans. 1991. Comparison of genetic evaluations from animal model and modified contemporary comparison. J. Dairy Sci., 74: 2309-2316.
- Palacios-Espinosa A., F. Rodríguez-Almeida, J. Jiménez-Castro, J.L. Espinoza-Villavicencio & R. Núñez-Domínguez. 2001. Evaluación genética de un hato Holstein en Baja California Sur utilizando un modelo animal con mediciones repetidas. Agrociencia, 35: 347-353.
- Pérez R. 1999. La ganadería cubana en transición. Rev. Mundial Zootec., 92/1: http://www.fao.org/docrep/x1700t/x1700t04.htm# P0 0 (Enero 5, 2007)
- Pool M.H., L.L.G. Janss & T.H.E. Meuwissen. 2000. Genetic parameters of Legendre polynomials for first-parity lactation curves. J. Dairy Sci., 83(11): 2640–2649.
- Pösö J. & E.A. Mäntysaary. 1996a. Relationships between clinical mastitis, somatic cell store and production for the first three lactations of Finish Ayrshire. J. Dairy Sci., 72(7): 1284-1291.
- Pösö J. & E.A. Mäntysaary. 1996b. Genetic relationships between reproductive disorders, operational days open and milk yield. Livestock Prod. Sci., 46(1): 41-48.
- Schaeffer L.R. 1999. Multiple traits animal models. Univ. Guelph. Disponible en: http://www.aps.uoguelph.ca/~lrs/Animalz/lesson1 5 (Agosto 24, 2005).
- Schaeffer L.F. 1984. Sire and cow evaluation under multiple trait models. J. Dairy Sci., 67(6): 1575-1578.

- Strabel T., J. Szyda, E. Ptak & J. Jamrozik. 2005. Comparison of random regression test-day models for Polish Black and White cattle. J. Dairy Sci., 88(10): 3688–3699.
- Strabel T. & J. Jamrozik. 2006. Genetic analysis of milk production traits of Polish Black and White cattle using large-scale random regression test-day models. J. Dairy Sci., 89(8): 3152-3163.
- Teepker G. & H.H. Swalve. 1988. Estimation of genetic parameters for milk production in the first three lactations. Livestock Prod. Sci., 20(3): 193-202.
- Teixeira N.M., J. Valente y R.S. Verneque. 1996. Factores de ajustamento da produção de leite para período de serviço e período seco na raçã Holandesa. Anais Reunido Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Fortaleza. SBZ. pp. 54-56.
- Vargas A., C.A. Osorio, J. Loaiza, N.A. Villa & A. Ceballos. 2006. Efecto del uso de una somatotropina bovina recombinante (STbr) en vacas lecheras a pastoreo bajo condiciones tropicales. Arch. Med. Vet., 38(1): 33-38.
- Vieira C., R. de Almeida, F. Palma, J.C. Pereira, C. Silva, S.I. Araújo, R. de Almeida, H. Cavalcanti, L. Navajas & F. da Rocha. 2003. Tendência genética para características produtivas em bovinos da raça Pardo-Suíça. Rev. Bras. Zootec., 32(6): 1872-1877.
- Yang R.Q., H.Y. Ren, L.R. Schaeffer & S.Z. Xu. 2005. Estimation of genetic parameters for lactational milk yields using two-dimensional random regressions on parities and days in milk in Chinese Simmental cattle. J. Anim. Breed. Genet., 122 (1): 49–55.

Efecto del toro sobre el comportamiento estral de vacas Chinampas (Bos taurus) en una región tropical seca

José Luis Espinoza Villavicencio^{1*}, Rigoberto López Amador¹, Alejandro Palacios Espinosa¹, Ricardo Ortega Pérez¹, Narciso Ávila Serrano² y Bernardo Murillo Amador³

RESUMEN

Para conocer el comportamiento estral del bovino Chinampo se utilizaron 24 vacas ciclando. Un grupo (GI) estuvo con un toro protegido con un mandil de tela para evitar la cópula, mientras que el otro (G2) permaneció aislado del macho. Se contabilizaron intentos de monta, montas realizadas, montas recibidas no aceptadas, montas recibidas aceptadas (MA), lamidos, topeteos, acompañamientos y olfateos. Se analizaron sus ocurrencias acumuladas dentro de las 30, 60 y 90 h posteriores al inicio de una observación constante, que inició a partir de las 30 h de concluido un protocolo de sincronización de estros. Dentro de las 30-60 h de observación constante hubo más eventos en G1. Hubo más interacciones secundarias del estro dentro de las 30-60 h en G1. Hasta las 30 h se registraron más MA en G1 y entre 60-90 h se constataron más MA en G2. El 60% de las vacas de G1 y el 18% de G2 iniciaron estro entre las 6:01-12:00 h. En G2, la mayoría de los estros iniciaron durante la noche. El 60% de las MA en G1 ocurrieron entre las 6:01-12:00 h, proporción superior a la observada en G2. La proporción de vacas con duración del estro menor de 8 h fue mayor en G1. Se concluye que en presencia del macho, las vacas Chinampas concentraron su conducta estral en un periodo más corto y aumentó la proporción de estros con duración menor de 8 h. El macho afectó la hora de inicio del estro y concentró las MA durante la mañana.

Palabras clave: Efecto macho; Comportamiento estral; Vacas Chinampas.

Effect of bull on estrual behavior of Chinampo (Bos taurus) cows in a dry tropical region

ABSTRACT

In order to know the estrual behavior of the Chinampo cows, 24 cycling cows were used. A group (G1) was with a teaser bull, while the other one (G2) remained isolated from the male. Attempts to mount, made mounts, received but not accepted mounts, received and accepted mounts (AM), licking, butting, following, and smelling were recorded. Their accumulated occurrences were analyzed within the 30, 60 and 90 h after the beginning of a constant observation, since the 30 h after a protocol of estrous synchronization was finalized. Within the 30-60 h there were more events in G1. All of the events in both groups happened within 90 h. There were more secondary estrous interactions within the 30-60 h in G1. Until the 30 h, more AM in G1 was registered and between 60-90 h more AM in G2 were stated. Sixty percent of the cows of G1 and 18% of G2 initiated the estrus between 6:01-12:00 h. In G2, most of the estrus happened during the night. Sixty percent of the AM in G1 happened between 6:01-12:00 h, superior proportion to the one observed in G2. The proportion of cows with estrus duration minor of 8 h was greater in G1. We concluded that in male presence, the estrual behavior of Chinampo cows was concentrated in a shorter period and increased the proportion of estrus with minor duration of 8 h. The male affected the time of the estrus beginning and concentrated the AM during the morning.

Keywords: Male effect; Estrual behavior; Chinampo cows

Recibido: 09/10/2006 Aceptado: 19/02/2007

¹ Universidad Autónoma de Baja California Sur, Carretera al Sur km. 5.5, CP 23000, La Paz, BCS, México. *Correo electrónico: jlvilla@uabcs.mx

² Universidad del Mar, Oaxaca, Ciudad Universitaria, Puerto Escondido, Mixtepec, Juquila, Oaxaca CP 71980, México

³ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo 195, Col. Playa Palo se Santa Rita, CP 23090, La Paz, BCS. México

INTRODUCCIÓN

En la República Mexicana existe una gran diversidad genética de bovinos, contándose con diferentes grupos raciales adaptados a las diversas regiones agroecológicas; sin embargo, muchas de estas razas aún no están caracterizadas. El ganado autóctono posee rasgos valiosos como su resistencia a enfermedades endémicas, longevidad y adaptación a situaciones difíciles y a alimentos de baja calidad, características todas ellas deseables para una ganadería sostenible con bajos insumos (Espinoza, 2004). El ganado bovino criollo o Chinampo de la península de Baja California en México no es la excepción; tiene su origen en los bovinos que fueron introducidos por los Jesuitas en 1697 y a través de los siglos se ha generado un tipo de animal pequeño (las vacas adultas pesan alrededor de 250 kg) y se han adaptado al ecosistema (Martínez-Balboa, 1980). Este ganado solamente ha sido tipificado en ciertas características morfométricas (Espinoza et al., 2002) y no se conocen muchas de sus particularidades fisiológicas como la reproducción, a pesar que una comprensión del ciclo estral y el conocimiento de las señales de estro son indispensables para mejorar la eficacia reproductiva (Allrich y Khutson, 1997).

El reconocimiento del comportamiento de la vaca durante el estro permite el diseño de programas biotecnológicos como la inseminación artificial, la transferencia de embriones y la monta controlada. El clima, la raza, el sistema de manejo y el grado de interacción social del hato influyen sobre la conducta, lo que ayuda o dificulta la determinación del ciclo (Mai *et al.*, 2002).

Es necesario conocer y precisar las diferentes actitudes de las vacas durante el estro ya que se han destacado diferencias importantes entre razas, sobre todo entre ganado *Bos taurus* y *Bos índicus*, incluso dentro del mismo ganado europeo dependiendo de determinados factores medio ambientales. Esta información se hace indispensable cuando se utiliza la inseminación artificial como herramienta para el mejoramiento genético. En dichas circunstancias, algunas veces es necesario implementar ciertas medidas como ayudas para la detección de estros. Dentro de esas medidas está el uso de toros marcadores. Sin embargo, no se sabe si en el caso del ganado bovino Chinampo, la presencia del macho en

un grupo de vacas con celo sincronizado pudiera alterar su comportamiento estral.

Por las razones expuestas anteriormente, el objetivo de este estudio fue determinar las manifestaciones características del comportamiento estral en vacas Chinampas y evaluar el efecto de la presencia del toro sobre su conducta, inmediatamente antes y durante el estro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio.

La presente investigación se realizó en la posta zootécnica de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, en La Paz, B.C.S., México. Se encuentra ubicada en una región de trópico seco en las coordenadas geográficas 26º 06'01" N y 110º 0'0" O, a 33 msnm. El clima predominante en la zona, según la clasificación de Köppen, modificado por García (1973) es BW (H) HW (X), siendo este clima seco y calido con lluvias en verano, invierno y escasas todo el año, con una precipitación pluvial media anual de 195.4 mm y una temperatura media anual de 28.7°C (Dgtenal, 1980).

Diseño del estudio

Se utilizaron 24 vacas Chinampas de primer parto (40 meses de edad, aproximadamente), sin cría, con un peso promedio de 250 ± 9 kg, las cuales se mantuvieron en corral, con una alimentación consistente en heno de alfalfa (*Medicago sativa*) conteniendo un 17% de PC y agua a libre acceso. Las vacas, cuyas crías habían sido destetadas a los 7 meses de edad y permanecían vacías, fueron observadas para la detección de estros durante tres ciclos estrales consecutivos con el fin de asegurar que estuvieran presentando un celo cada 18 a 21 d.

Antes del experimento, todas las vacas permanecieron separadas del macho en un corral alejado unos 50 m del mismo y manteniendo solamente contacto visual con este. Todos las hembras recibieron una inyección intramuscular de 25 mg de Dinoprost (Lutalyze; Pharmacia & Upjohn) en la mañana (7:00 h) del primer día del tratamiento, repitiéndose la dosis a la misma hora 11 d después de la primera aplicación. Inmediatamente después se formaron dos grupos de vacas aleatoriamente y se

mantuvieron en dos corrales separados (10 m de distancia uno del otro), entre los cuales los animales podían verse y escucharse. A partir de ese momento, el grupo 1 (GI; n=12) se mantuvo junto con un toro protegido en su abdomen por un mandil de tela para evitar la cópula. El grupo 2 (G2; n=12) permaneció aislado del macho. El toro utilizado (48 meses de edad) fue un híbrido de 430 kg, con experiencia sexual y producto de la cruza de Chinampo con raza(s) *Bos taurus* para carne, no definida.

La observación de los animales se hizo cada 6 h (12:00, 18:00, 24:00 y 6:00 h) después de la segunda inyección de Dinoprost, hasta las 30 h. A partir de entonces, la observación se llevó a cabo de manera permanente durante 90 h adicionales, completando un periodo de observación de 120 h. Todos los animales contaban con un arete de identificación con su número respectivo y antes de iniciar la observación se marcó con pintura el número correspondiente a cada vaca en ambos costados. Durante la noche se utilizó luz artificial tenue para facilitar la observación y el observador se mantuvo alejado para no interferir con el comportamiento de los animales.

Las variables evaluadas fueron: intentos de monta (IM) de un animal a otro sin llegar a completarla; montas realizadas (MR) o concluidas sobre animales en celo o no, montas recibidas no aceptadas (MRNA) en las cuales un animal era montado por otro retirándose inmediatamente y rechazando la monta; montas recibidas aceptadas (MA), en este caso la vaca permaneció inmóvil al ser montada por otra; y otras manifestaciones asociadas al estro como, lamiendo (LAM), topeteo (TOPE), acompañamientos (ACO) y olfateo (OLF). En G1 se contabilizaron tanto los eventos realizados por el toro, como aquellos efectuados por las vacas del grupo. Para fines de interpretación se consideró que una vaca se encontraba en celo mientras aceptara la monta (interacción primaria) de sus compañeras o del toro, en su caso (Villagómez et al., 2000). El resto de las interacciones mencionadas con anterioridad se consideraron como signos secundarios o asociados del estro.

Análisis estadístico.

La frecuencia acumulada de cada variable dentro de periodos de 30 h se comparó entre tratamientos (G1 y G2) a través de una prueba de Z para comparación de proporciones a las 30, 60 y 90 h,

después de iniciada la observación permanente de los animales. El intervalo entre montas aceptadas, total de interacciones secundarias (IM, MR, MRNA, LAM, TOPE, ACOM y OLF), MA por tratamiento y la duración del estro (DE), considerando a este último como el intervalo en horas entre la primera y la última monta aceptada, se compararon entre grupos mediante el siguiente modelo lineal general:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \varepsilon_{ij}$$

donde:

 Y_{ij} es la variable de respuesta correspondiente al intervalo entre MA, total de interacciones secundarias (IM, MR, MRNA, LAM, TOPE, ACOM y OLF), MA por tratamiento y la DE.

G es el efecto del i-esimo grupo (vacas en presencia o ausencia del toro).

 ${\cal E}$ es el error en el i-esimo grupo de la j-esima vaca.

Las proporciones de vacas cuyo estro duró menos de 8 h, de 8 a 16 h o más de 16 h fueron analizadas entre tratamientos, dentro de cada categoría, mediante una prueba de Chi cuadrada. Con el mismo método se analizó el efecto del tratamiento sobre la hora de inicio del estro, para lo cual se crearon cuatro categorías dentro de un periodo de 24 h (1:00-6:00, 6:01-12:00, 12:01-18:00 y 18:01-24:00) de acuerdo a lo establecido por White *et al.* (2002) y la comparación de las proporciones entre tratamientos se realizaron dentro de cada categoría.

El número de montas ocurridas dentro de las categorías de horario anteriores fueron comparadas entre tratamientos mediante el siguiente modelo lineal general:

$$Y_{ijk} = \mu + G_{(j)i} + \varepsilon_{ijk}$$

donde

 Y_{ijk} es la variable de respuesta correspondiente al número de montas dentro de las categorías de horario establecidas.

G es el i-esimo grupo dentro de la j-esima categoría de horario.

 \mathcal{E}_{ijk} es el error en el i-esimo grupo, dentro de la j-esima categoría de horario en la k-esima vaca.

Las medias de los datos no categóricos se compararon mediante el método de diferencia mínima significativa (LSD). Todos los procedimientos estadísticos utilizados fueron desarrollados a través del paquete SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento sexual

Durante las 30 h que siguieron a la segunda inyección de Dinoprost no se registraron interacciones secundarias ni vacas en estro, por tal motivo la presentación y discusión de los resultados se hace sobre los acontecimientos que ocurrieron a partir de ese momento. En momentos variables, posteriores a esas 30 h, todas las vacas presentaron celo.

Como se observa en la Figura 1, dentro de las primeras 30 y 60 h de observación constante se registró una mayor proporción de IM en las vacas que estuvieron con el toro. En las primeras 30 h se registró el 63% de los IM en G1 y el 5% en G2, diferencia que resulta altamente significativa (P<0,001). A las 60 h de observación constante se mantuvo la tendencia a un mayor registro de eventos (P<0,001) en G1 (93%) que en G2 (36,5%). La proporción de MR siguió la misma tendencia que los IM (Figura 2).

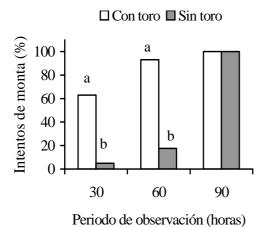


Figura 1. Intentos de monta efectuados por vacas Chinampas (mantenidas en presencia o ausencia del toro) durante un periodo de 90 h de observación constante, en un protocolo de sincronización del estro. Letras diferentes dentro de cada periodo de observación indican diferencias significativas (P<0.001).

En las primeras 30 h de observación constante se observaron más MR en G1 (43%) que en G2 (0%; P<0.001). Para las 60 h, se mantuvo la tendencia a un mayor registro de eventos (P<0,001) en G1 (84,5%) que en G2 (17,6%). En la Figura 3 se observa que la proporción de MRNA en las primeras 30 h de observación constante fue más alta en G1 (52%) que en G2 (4%; P<0,001). Para las 60 h, se mantuvo la misma tendencia a un mayor registro de eventos (P<0,001) en G1 (80,5%) que en G2 (27,3%). En la Figura 4 se aprecia que la proporción de MRA, las cuales indican un celo franco, fue de 51% en las primeras 30 h de observación constante en G1 y de 0% en G2, lo cual resultó en una diferencia altamente significativa (P<0.001). Para las 60 h, se mantuvo la tendencia a un mayor registro de eventos (P<0,001) en G1 (84,5%) que en G2 (14,5%).

Un comportamiento similar de las interacciones sexuales fue reportado por Galina et al. (1987) en vacas cebú. Señalan que la presencia del toro cambia los patrones de conducta estral en el hato; en ese estudio, las vacas mantenidas en pradera mostraron actividad estral en diferentes momentos después de la inyección de Dinoprost dependiendo de la presencia o ausencia del macho. Al respecto, Chenoweth (2000) señala que los machos son capaces de inducir reflejos neuroendocrinos que alteran la función ovárica en hembras de la misma especie. El estímulo biológico que deriva del toro para alterar la actividad reproductiva de las vacas no se conoce. Algunos investigadores especulan que el toro produce una feromona iniciadora que actúa a través de una ruta olfatoria para provocar la respuesta (Rekwot et al., 2001). Barauh y Kanchev (1993) demostraron que la orina del toro asperjada dentro del conducto nasal de vacas lecheras 7 d después del parto incrementó la concentración sistémica de LH y FSH dentro de los primeros 70 minutos de la exposición. De la misma manera, Fernández et al. (1996) encontraron que las vacas en la etapa posparto expuestas de manera intermitente a toros incrementaron su concentración media de LH y la frecuencia de pulsos de la misma con cada exposición realizada a intervalos de 2 h.

El 100% de las diferentes interacciones asociadas al comportamiento sexual en ambos grupos del presente estudio se registraron dentro de las 90 h de iniciada la observación permanente. La proporción de LAM, TOPE y OLF a las 30 h fue mayor (P<0.001) en G1 (25,9 28,9 y 33,8%,

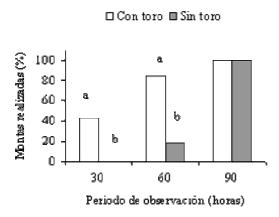


Figura 2. Montas realizadas por vacas Chinampas (mantenidas en presencia o ausencia del toro) durante un periodo de 90 h de observación constante, en un protocolo de sincronización del estro. Letras diferentes dentro de cada periodo de observación indican diferencias significativas (P<0,001).

respectivamente) que en G2 (12,8 15,0 y 4,6%, respectivamente). Una tendencia similar (P<0,001) se mantuvo a las 60 h de observación continua (G1 = 78,5 70,0 y 73,0%; G2 = 60,0 32,0 y 23,0% para LAM, TOPE y OLF, respectivamente).

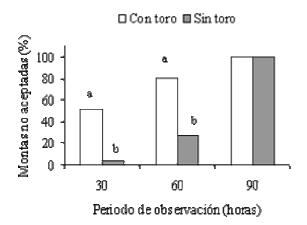


Figura 3. Montas recibidas no aceptadas por vacas Chinampas (mantenidas en presencia o ausencia del toro) durante un periodo de 90 h de observación constante, en un protocolo de sincronización del estro. Letras diferentes dentro de cada periodo de observación indican diferencias significativas (P<0,001).

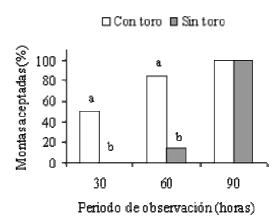


Figura 4. Montas aceptadas por vacas Chinampas (mantenidas en presencia o ausencia del toro) durante un periodo de 90 h de observación constante, en un protocolo de sincronización del estro. Letras diferentes dentro de cada periodo de observación indican diferencias significativas (P<0,001).

En el Cuadro 1 se pueden observar el número de interacciones secundarias (IM, MR, MRNA, LAM, TOPE, ACOM y OLF) previas y posteriores a la aceptación de la monta en diferentes tiempos después de iniciada la observación permanente (30, > 30-60 y > 60-90 h). Dentro de las primeras 30 h se registraron más interacciones en G1 (P<0,01). Después de las 30 h, hasta las 60 h de observación hubo una tendencia (P<0,06) a una mayor cantidad de eventos en G1 y después de las 60 h hasta las 90 h la cantidad de interacciones registradas fue igual entre tratamientos (P>0,05). De manera similar, Silva et al. (2002) trabajando con vacas Brahman en un programa de sincronización del estro con un implante subcutáneo de progestágeno, consideran que la introducción del toro 40 h después del retiro de los implantes pudo haber contribuido al aumento del porcentaje de manifestación de estros que se observó entre las 40 y las 50 h. Resultados diferentes fueron constatados por Orihuela et al. (1983) en ganado cebú, quienes reportan que cuando las vacas estuvieron en ausencia del toro la mayoría de las interacciones sexuales se circunscribieron a un periodo entre 50 y 70 h después de la segunda inyección de PGF2α, y cuando el macho estuvo presente, la actividad se extendió hasta el final de un periodo de observación de 100 h.

Cuadro 1. Número de interacciones secundarias asociadas al estro (intentos de monta, montas realizadas, montas recibidas no aceptadas, lamiendo, topeteos, acompañamientos y olfateos) expresadas por las vacas en cada uno de tres periodos posteriores a las 30 h que siguieron a la última invección de Dinoprost por tratamiento.

Periodo (horas)	Tratamiento	(media ± Ee)	D
r eriodo (noras)	Con toro	Sin toro	- 1
30	$30,2 \pm 3,8$	$16,2 \pm 2,0$	0,003
>30-60	$28,7 \pm 5,6$	$17,2 \pm 2,0$	0,060
>60-90	$24,9 \pm 3,6$	$18,2 \pm 2,0$	0,120

El total de MA por vaca fue similar entre grupos $(39.0 \pm 7.8 \text{ y } 44.1 \pm 9.5 \text{ en G1 y G2})$ respectivamente; P>0,05). Valores inferiores en invierno y verano (29 y 21, respectivamente) fueron obtenidos por Ávila et al. (2003) en vacas Gyr. En otros estudios se ha observado un menor número de montas aceptadas, como en el caso de las vaquillas Criollas Sanmartinero de Colombia con 14,5 montas (Góngora y Hernández, 2006) y de vacas Holstein x de Venezuela (2,2 montas) como lo Brahman describen Ramírez-Iglesia et al. (2002). Valores superiores (50 montas) han sido reportados en vaquillas para carne (Stevenson et al., 1996). También hay trabajos (White et al., 2002) en vacas para carne que reportan una cantidad de montas por estro ligeramente superior que las observadas en el presente estudio, constatándose también el efecto de la estación de año sobre dicha variable (59, 43 y 38 en invierno, verano y primavera, respectivamente). En vacas Holstein en pastoreo, el número de montas

durante el estro ha variado entre 8 y 33 (Xu et al., 1998).

La cantidad de montas aceptadas por vaca dentro de los periodos de 30, > 30-60 y > 60-90 h de observación constante se presentan en el Cuadro 2. Hasta las 30 h se registraron más MA en G1 (P<0.01). Después de las 30 h, hasta las 60 h, la cantidad de MA fue similar entre los tratamientos (P>0,05) y después de las 60 h de observación, hasta las 90 h se constataron más MA en las vacas que se mantuvieron aisladas del macho (P<0,01). Valores inferiores en vacas Cebú han sido constatados por Orihuela et al. (1983) quienes reportan 15,9 y 13,9 montas por hembra en estro, cuando permanecieron aisladas o en presencia del toro, respectivamente. En vaquillas Brahman en estro se han reportado de 13 a 41 montas homosexuales y de 2 a 10 montas realizadas por el macho cuando se hicieron las observaciones después de un programa de sincronización del estro con Crestar (Silva et al., 2002).

Cuadro 2. Promedio de montas aceptadas por vaca en cada uno de tres periodos posteriores a las 30 h que siguieron a la última invección de Dinoprost, por tratamiento

Daviada (haras)	Tratamiento	Tratamiento (media \pm Ee)		
Periodo (horas)	Con toro	Sin toro	_	
30	$16,4 \pm 7,5$	0	0,003	
> 30-60	10.7 ± 3.9	$4,9 \pm 2,6$	0,223	
> 60-90	4.8 ± 3.4	$29,0 \pm 7,1$	0,006	

Características del estro

Las vacas que fueron cortejadas por lo menos por una compañera o el toro celador y mostraban interés por la monta, topeteos y seguimiento fueron consideradas en proestro, o en estro cuando permitían la monta. Se pudo observar que los signos considerados como indicadores del proestro se manifestaron escasamente hasta las 60 h en las vacas que se mantuvieron aisladas del macho. La explicación de lo anterior se podría basar en el hecho de que algunos investigadores especulan que el toro produce una feromona iniciadora que actúa a través de una ruta olfatoria para generar una respuesta (Rekwot *et al.*, 2001).

Distribución de las montas e intervalo entre montas.

Como se indica en la Figura 5, el 60% de las vacas del G1 iniciaron el estro entre las 6:01 y 12:00 h, lo que resultó superior (P<0,05) a la observada en G2 (18,2%) dentro del mismo periodo; el resto de los estros en G1 se iniciaron entre las 12:01 y las 24:00 h (40%). En el grupo G2, el 54,6% de los estros iniciaron durante la noche (entre las 18:00 y 6:00 h). Los resultados observados en el grupo G1 concuerdan con las observaciones reportadas por Diskin y Sreeman (2000) quienes reportan que el 40% de las vacas lecheras en pastoreo, aceptaron por primera vez la monta a las 7:00 h. A diferencia de lo anterior, Dransfield et al. (1998) encontraron que en las vacas Holstein, la hora de inicio del estro se distribuye de manera casi uniforme a lo largo de los periodos establecidos para el presente trabajo.

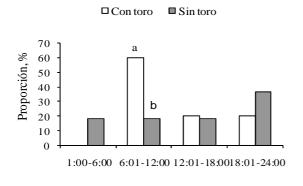


Figura 5. Proporciones de vacas que iniciaron su estro (aceptación de la primera monta) en diferentes horas del día, por tratamiento. Letras diferentes dentro de cada periodo de observación indican diferencias significativas (P<0,01).

Hora de inicio del estro

El 60% de las montas aceptadas en las vacas de G1 se concentraron entre las 6:01 y 12:00 h, lo que resultó superior (P<0,01) a la observada en G2 (18,2%) dentro del mismo periodo. El resto de las montas aceptadas en las vacas de G1 se distribuyeron

de manera uniforme entre las 12:01-18:00 y las 18:01-24:00 h y las proporciones fueron similares tratamientos (P>0,05). No obstante, la distribución del inicio de estros en G2 fue uniforme entre las cuatro categorías de horario. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Góngora y Hernández (2006) quienes reportaron que el 72% de estros observados en vaquillas Criollas Sanmartineras ocurrieron entre las 5:00 y 11:00 h. Observaciones similares fueron hechas por White et al. (2002) en vacas Hereford x Angus las cuales recibieron 3,2 montas por hora entre las 6:00 y 12:00 h y solo 2,1 montas por hora en las 18 h restantes. En otro estudio se observó que la mayor actividad de monta se registró entre 6:00 y 9:00 h en vacas que permanecieron aisladas (25%) o en presencia del toro (33%), respectivamente (Orihuela et al., 1983). En ese mismo trabajo, el 63% de todas las montas en las vacas aisladas del macho y el 53% de las que estuvieron con el toro se observaron durante la noche (18:00 a 6:00 h). De manera similar, en el presente estudio, el 72,8% de las vacas en G2, concentraron su actividad de monta en el horario antes señalado.

En este trabajo, el intervalo promedio entre MA fue de 24.9 ± 5.6 y 24.6 ± 3.5 minutos para las vacas que permanecieron con el macho o aisladas del mismo, respectivamente (P>0,05). Intervalos mayores entre montas fueron observados por White et al. (2002) en vacas Hereford x Angus durante el verano (4,1 h) y la primavera o el invierno (2,7 h). Esas discrepancias de resultados con el presente estudio podrían derivar de algunos factores asociados con el manejo, ya que las vacas en este trabajo se mantuvieron en un corral para su observación, mientras que en el experimento de White et al. (2002), los animales estuvieron en una pradera de 12 ha. Por otro lado, en ese trabajo las vacas presentaron estro natural en cambio, en nuestro estudio los estros estuvieron sincronizados. Esos dos concentraron la actividad en el tiempo y en el espacio, lo cual pudo haber influido en la discrepancia de los resultados.

Interacciones sexuales primarias y secundarias.

El número total de interacciones ($195 \pm 25 \text{ y}$ 217 ± 30 en G1 y G2, respectivamente) y la cantidad de MA resultaron similares entre tratamientos (P>0,05) con tendencia de estas últimas a una mayor cantidad en las vacas que estuvieron aisladas del toro ($39,1 \pm 7,8 \text{ y} 44,1 \pm 9,5 \text{ para G1 y G2}$,

respectivamente). Al respecto, Ramírez-Iglesia et al. (2000) señalan que, tanto en la interacción heterosexual como en la homosexual, se observaron los mismos signos (flehmen, lamidos y olfateos) y que dichas expresiones fueron más abundantes en la interacción vaca-toro. El número de interacciones previas a la aceptación de la monta fue diferente (P<0,01) entre G1 $(5,6 \pm 1,5)$ y G2 $(31,8 \pm 3,4)$. Sin embargo, la cantidad de dichos signos secundarios del estro fueron similares entre tratamientos (P>0,05) después de la última monta aceptada $(4,0 \pm 0.89 \text{ y } 3.4 \text{ }$ ± 1,0 para G1 y G2, respectivamente). En un estudio de Yoshida y Nakao (2005) con vacas Holstein, los animales mostraron signos secundarios de estro durante un periodo de 9,6 h antes del inicio y durante 18,4 h después de finalizado el mismo.

En el presente trabajo, el número de montas aceptadas en el grupo de vacas que permanecieron con el macho tuvo una distribución similar (P>0,05) en las diferentes horas del día. Sin embargo, en las vacas que permanecieron aisladas del toro hubo más montas (P<0,05) entre las 6:01 y las 12:00 h (17,8 ± 4,5) que en el resto de las categorías (Figura 6). El menor número de interacciones registradas en las hembras mantenidas con el macho, podría deberse a que cuando un toro es introducido en un grupo de vacas sincronizadas, este provoca varios cambios en su comportamiento. El toro establece dominancia sobre las vacas más grandes (Galina *et al.*, 1987) y la subordinación puede conducir a una atenuación del comportamiento sexual (Hafez y Hafez, 2000).

Duración del estro.

La DE fue similar en las vacas que se mantuvieron con el toro (10,7 \pm 1,1 h) a las del grupo testigo (16,3 \pm 2,6 h), pero se observa una tendencia (P<0,07) a una menor duración de la aceptación de la monta en las vacas de G1. Los resultados coinciden con un reporte de Vaca et al. (1985) quienes indican que la duración del estro en la hembra bovina se reduce con la presencia del toro. En otro estudio con vaquillas Criollas Sanmartinero de Colombia, se observo una duración del estro similar cuando estas fueron mantenidas con toros celadores en un de programa sincronización de estros Norgéstomet y valerato de estradiol (Góngora y Hernández, 2006). En una investigación de Silva et al. (2002) con vaguillas Brahman en el trópico Mexicano utilizando sincronización del estro con Norgéstomet y valerato de estradiol, observaron una

variación de 8 a 18 h en la duración del estro. Cabe destacar que en ese estudio las vaquillas fueron mantenidas con el macho a partir de las 40 h de haber retirado el implante de norgéstomet. Estros de13,2 y 10,9 h durante el invierno y el verano, respectivamente han sido reportadas para vacas Gyr (Ávila et al., 2003). Duraciones de estro similares a las observadas en el grupo testigo del presente trabajo fueron establecidas por White et al. (2002) en vacas Hereford x Angus de Oklahoma durante el verano (17,6)h) y el invierno (15,5)h).

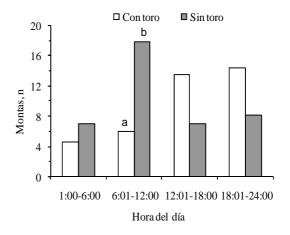


Figura 6. Número de montas aceptadas en diferentes horas del día, por tratamiento. Letras diferentes dentro de cada categoría indican diferencias significativas (P<0,05).

En la Figura 7 se puede observar que la proporción de vacas con una duración del estro de menos de 8 h fue diferente entre tratamientos (50 y 10% para G1 y G2, respectivamente; P<0,05). El 50% de las vacas en G1 presentaron un estro con duración de 8 a 16 h, porcentaje similar al observado en G2 (40%) para la misma categoría (P>0,05). Lo anterior significa que el 100% de las vacas que estuvieron en presencia del macho tuvieron un celo con duración no mayor de 16 h. En la Figura 7 se aprecia también que el 50% de las vacas en G2 presentaron un celo que duró más de 16 h. El 90% de los estros en este grupo duraron más de 8 h.

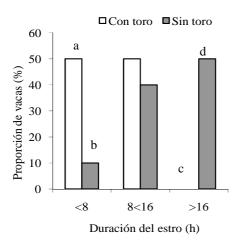


Figura 7. Proporciones de vacas con duración del estro menor de 8 h, de 8 a 16 h y mayor de 16 h, por tratamiento (a,b = P <0.05; c,d= P <0.01 dentro de cada categoría).

CONCLUSIONES

Se concluye que en presencia del macho, las vacas Chinampas sincronizadas con Dinoprost (Lutalize) concentraron en un periodo más corto la manifestación de los eventos asociados a la conducta estral y aumentó la proporción de estros con una duración menor de 8 h. Además, la presencia del macho influye en la hora de inicio del estro, agrupó la mayor proporción de estros en ciertas horas del día pero no influyó en el número de montas aceptadas por vaca ni en la duración del estro.

LITERATURA CITADA

- Allrich R.D. y R.J. Khutson. 1997. Improving the detection of estrus in dairy cattle. Animal Sciences Dairy. Purdue Univ. Cooperative Extension Service.
- Ávila P.M.F., N.G. Alves, F.J.M. Silva, L.S.A. Camargo y R.S. Verneque. 2003. Comportamento de vacas da raca Gir (*Bos taurus indicus*) em estro. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 55: 187-196.
- Barauh K.K. y L.N. Kanchev. 1993. Hormonal responses to olfactory stimulation with bull urine in postpartum dairy cows. Proc. VII World Conf. Anim. Prod., 3:356–359.

- Chenoweth P.J. 2000. Bull sex drive and reproductive behavior. *En* Chenoweth P.J. (Ed.). Topics in Bull Fertility. International Veterinary Information Service. Int. Vet. Inf. Serv. En línea: www.ivis.org/advances/Repro_ Chenoweth/chenoweth/chapter_frm.asp?LA=1 Consultado Feb 2007.
- Dgtenal (Dirección General de Geografía del Territorio Nacional). 1980. Carta topográfica. La Paz, Baja California Sur. G12D83. SPP. México.
- Diskin M.G. y J.M. Sreenan. 2000. Expression and detection of estrous in cattle. Reprod. Nutr. Dev., 40: 481-491.
- Dransfield M.B.G., R.L. Nebel, R.E. Pearson y L.D. Warnick. 1998. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. J. Dairy Sci., 81: 1874-1882.
- Espinoza J.L., A. Palacios y R. Ortega. 2002. Determinación de algunas medidas corporales en una población de hembras de bovino Criollo en Baja California Sur. XII Reunión Internacional sobre Producción de Carne y Leche en Climas Cálidos. Mexicali, B.C., México. pp. 237-240.
- Espinoza J.L. 2004. Estudio zoométrico en ganado bovino Criollo de Baja California Sur. Resumen XXVIII Congreso Nacional de Buiatría. Morelia. Mich. México. p. 170.
- Fernández D.L., J.G. Berardinelli, R.E. Short y R. Adair. 1996. Acute and chronic changes in LH secretion, and postpartum interval to estrus in first-calf suckled beef cows exposed continuously or intermittently to mature bulls. J. Anim. Sci., 74: 1098-1100.
- Galina C.S., A. Orihuela y A. Duchateau. 1987. Reproductive physiology in Zebu cattle: Unique reproductive aspects that affect their performance. Vet. Clin. North Amer., 3: 619-632.
- García E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación de Köppen. Carta de climas. G12D83 DGTNAL. SSP, México.

- Góngora A. y A. Hernández. 2006. Comportamiento sexual, duración del estro y del ciclo estral en novillas criollas Sanmartineras y Brahman del piedemonte llanero Colombiano. Livestock Res. Rural Devel., 18(1): http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd18/1/cont1801.htm.
- Hafez E.S.E y B. Hafez. 2000. Reproduction in Farm Animals. 7^{ma} ed. Lippincott, William y Wilkins. Pennsylvania, USA.
- Mai M.H., D. Ogwu, L.O. Eduvie y A.A. Voh Jr. 2002. Detection of oestrus in Bunaji cows under field conditions. Trop. Anim. Health Prod., 34: 35-47.
- Martínez-Balboa A. 1980. La Ganadería en Baja California Sur. Vol. 1. Ed. J. B. La Paz, B.C.S., México.
- Orihuela A., C.S. Galina, F.J. Escobar y E. Riquelme. 1983. Estrous behavior following prostaglandin $F_2\alpha$ injection in Zebu cattle under continuous observation. Theriogenology. 19: 795-809.
- Ramírez-Iglesia L.N., R.F.B. Viera, J.A. Martinez, A. Díaz y E. Soto. 2002. Conducta sexual y signos del celo en ganado mestizo de doble propósito. Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ, 12(Supl. 2.): 431-433.
- Rekwot P.I., D. Ogwu, E.O. Oyedipe y V.O Sekoni. 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. Anim. Reprod. Sci., 65: 157–170.
- SAS.1989. SAS/STAT User's Guide. Release 6.04. SAS. Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Silva C., R. Guzmán, R. Delgado y R. Aké. 2002. Respuesta de novillas Brahman a la sincronización del estro con progestágenos; conducta sexual y tasa de gestación. Rev. Biomed., 13: 265-271.
- Stevenson J.S., M.W. Smith, J.R. Jaeger, L.R. Corah y D.G. LeFever. 1996. Detection of estrus by visual observation and radiotelemetry in peripuberal estrus-synchronized beef heifers. J. Anim. Sci., 74: 729-735.

- Vaca L.A., C.S. Galina, S. Fernandez-Baca, F.J. Escobar y B. Ramírez. 1985. Oestrus cycles, oestrus and ovulation of the Zebu in the Mexican tropics. Vet. Rec., 117: 434-437.
- Villagómez E., H. Castillo, A. Villa-Godoy, H. Román Ponce y C. Vázquez. 2000. Influencia estacional sobre el ciclo estral y el estro en hembras cebú mantenidas en clima tropical. Tec. Pecu. Mex., 38: 89-103.
- White F.J., R.P. Wettemann, M.L. Looper, T.M. Prado y G.L. Morgan. 2002. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. J. Anim. Sci., 80: 3053-3059.
- Xu Z.Z., D.J. McKnight, R. Vishwanath, C.J. Pitt y L.J. Burton. 1998. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. J. Dairy Sci., 81: 2890-2896.
- Yoshida C. y T. Nakao. 2005. Some characteristics of primary and secondary oestrus signs in high-producing dairy cows. Reprod. Dom. Anim., 40: 150-155.

Infección con *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea becerros de ganadería de doble propósito

Adelina Díaz de Ramírez*, Lilido N. Ramírez Iglesia, José G. Morillo Luque y Alejandro J. Barreto Bastidas

*Universidad de Los Andes, Núcleo Trujillo. Apartado Postal 198, Trujillo 3150, estado Trujillo. Venezuela *Correo Electrónico: adediazra@yahoo.com

RESUMEN

La presencia de *Cryptosporidium* sp. y su asociación con diarrea fue determinada en 31 becerros mestizos de ganadería de doble propósito (*Bos taurus* x *Bos indicus*) nacidos durante cuatro meses consecutivos en una finca comercial. Durante el primer mes de vida fueron colectadas de cuatro a cinco muestras fecales por becerro, para un total de 140, las cuales fueron procesadas por el método de centrífugo-flotación con NaCl y coloreadas con carbol-fucsina. Los resultados mostraron que todos los becerros adquirieron la infección antes de los 15 días de edad, observándose asociación altamente significativa (P<0,01) entre la edad de los animales y la infección con *Cryptosporidium* sp. Las muestras presentaron consistencia liquida y semilíquida (47,1%) y de estas muestras, el 84,8% exhibieron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. En contraste, solo el 33,8% de las muestras de consistencia normal presentaron dichas formas, observándose una asociación altamente significativa entre infección con *Cryptosporidium* sp. y la consistencia de las heces (P<0,01). El riesgo de manifestar diarrea en los becerros infectados con *Cryptosporidium* sp fue 2,51 veces mayor que los no infectados. Los casos de diarrea predominaron entre los 4 a 14 días de edad de los becerros. Aunque en todas las edades el porcentaje de muestras diarreicas fue mayor entre las positivas, solo en las tres primeras colectas existió una asociación significativa (P<0,05) entre la infección por *Cryptosporidium* sp y diarrea. Por consiguiente, el riesgo de presentar diarrea entre los becerros infectados fue significativamente mayor para los animales menores de 15 días de edad.

Palabras clave: Becerros, neonatos, Cryptosporidium sp., diarrea, ganadería doble propósito.

Infection with *Cryptosporidium* sp., and its association with diarrhea in calves of dual-purpose herds

ABSTRACT

The presence of *Cryptosporidium* sp. infection and its association with diarrhea were determined in 31 crossbred calves dual-purpose herds (*Bos Taurus* x *Bos indicus*) born during four consecutive months at a commercial farm. During the first months of life, four to five fecal samples per calf were collected for a total of 140. The samples were processed by the NaCl centrifugal-flotation method and staining with carbol-fuchsin. The results showed that all animals acquired the infection before 15 days of age, and it was observed a highly significant association (P<0.01) between the age of calves and the infection with *Cryptosporidium* sp. Consistency of the samples was liquid and semi-liquid (47.1%), while 84.8% of these samples showed *Cryptosporidium* sp. oocysts. In contrast, only 33.8% of the samples with normal consistency showed parasites. There was a highly significant association (P<0.01) between infection with *Cryptosporidium* sp and the fecal consistency. The risk of presenting diarrhea on infected calves with *Cryptosporidium* sp. was 2.51 times higher compared to those uninfected calves. The diarrhea cases were predominant from 4 to 14 days old calves. Even though the diarrheic sample percentage was higher among the positives ones for all ages, only there was a significant association (P<0.05) between infection due to *Cryptosporidium* sp. and diarrhea for the first three collections. Therefore, the risk of presenting diarrhea among infected calves was significantly higher for those animals that were less than 15 days old.

Keywords: Calves, neonates, *Cryptosporidium* sp., diarrhea, dual-purpose herds.

Recibido: 02/10/2006 Aceptado: 15/12/2006

INTRODUCCIÓN

La infección por *Cryptosporidium parvum*, patógeno que coloniza el epitelio del intestino de humanos, bovinos y otros animales, resulta a menudo en enteritis aguda y enfermedad diarreica (Casemore *et al.*, 1997; Fayer *et al.*, 1997). Este organismo presenta interés en salud pública debido a su carácter zoonótico y ha sido identificado con frecuencia en bovinos, particularmente en los becerros (Becher *et al.*, 2004; Santín *et al.*, 2004), en los cuales constituye uno de los principales agentes etiológicos de la diarrea neonatal (de la Fuente *et al.*, 1999; Moore y Zeman, 1991; Naciri *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000).

C. parvum es un organismo ubicuo y ha sido reportado desde muchas regiones geográficas del mundo. En Venezuela, el estudio sobre Cryptosporidium sp. en el ganado bovino es incipiente; no obstante, este parásito ya ha sido identificado en becerros de explotaciones ganaderas de algunas zonas del país (Surumay y Alfaro, 2000; Valera et al., 2001; Díaz de Ramírez et al., 2004).

En estudios conducidos en rebaños lecheros donde se evaluaron los factores asociados con el riesgo de infección, se ha señalado que los primeros 30 días de vida de los animales se corresponde con el período de máximo riesgo de infección con Cryptosporidium parvum (Castro-Hermida et al., 2002a; Becher et al., 2004), el cual se incrementa en condiciones de hacinamiento y cuando las medidas de higiene y ciertas prácticas de manejo son deficientes (Atwill et al., 1999; Mohammed et al., 1999). De esa forma, los becerros menores de un mes constituyen la población más vulnerable y cualquier esfuerzo diseñado para controlar la infección por C. parvum debe ser dirigido principalmente a este grupo de edad, en donde el parásito puede impactar adversamente sobre la salud de los animales, particularmente como agente causal de diarrea, ya sea sólo o en combinación con otros enteropatógenos (Xiao y Herd, 1994; Olson et al., 2004; O'Handley et al., 1999).

En la ganadería de doble propósito se requiere un mayor conocimiento del curso de la infección por *Cryptosporidium* sp., en particular durante el período de mayor riesgo de infección. Esto permitiría desarrollar medidas preventivas adecuadas, tendientes a reducir la contaminación ambiental y el riesgo para la salud animal y humana. En ese sentido, el objetivo

de este trabajo fue estudiar la infección por *Cryptosporidium* sp., durante el primer mes de vida, en becerros de una explotación de doble propósito, así como evaluar la importancia de este parásito como causa de diarrea en dichos animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y unidad de producción

El estudio se desarrollo en una finca comercial de doble propósito, ubicada en el estado Trujillo, Venezuela, en un área de bosque húmedo tropical, a los 9° 25' N y 70° 50' O, con precipitaciones que oscilan entre 2.000 y 2.500 mm al año y temperaturas anuales de 26 a 29°C. Esta finca presentaba historia de animales con diarrea y se estudiaron 31 becerros nacidos durante cuatro meses consecutivos. El grupo estaba integrado por 13 hembras y 18 machos, mestizos *Bos taurus* (Holstein o Pardo suizo) x *Bos indicus* (Brahman o Guzera).

Las primeras 24 horas siguientes a su nacimiento, los becerros se mantuvieron en el área de maternidad junto a sus madres y luego fueron transferidos a una becerrera colectiva hasta los siete días de edad. Posteriormente y hasta el destete, todos los becerros compartieron dos potreros, los cuales eran rotados cada 3 días y se les suministraba melaza Pecutrin®. Las vacas se mecánicamente dos veces al día con apoyo de sus crías, para lo cual, estas eran conducidas a la sala de ordeño y luego a un corral de post-ordeño donde permanecían entre 2 a 4 horas junto a sus madres. En dicho corral, así como en el de maternidad, las excretas fueron recolectadas dos o tres veces al mes. En el corral de recién nacidos, solo una tercera parte del piso era de cemento rústico, el cual se lavaba con un chorro de agua a presión una o dos veces por semana, dependiendo de la carga animal y de las excretas acumuladas. Las aguas servidas se eliminaban hacia una laguna de oxidación.

Colecta y procesamiento de las muestras.

Las muestras fecales, en número de cuatro a cinco por becerro, fueron obtenidas directamente del recto. La primera muestra fue colectada dentro de las 72 horas posteriores al nacimiento, la siguiente entre 4 y 7 días, continuándose luego con una muestra semanal, hasta completar el mes de vida de los

animales. De acuerdo a la consistencia, las heces se clasificaron en diarreicas (líquidas y semilíquidas) y en normales (formadas y pastosas). Las muestras fueron transportadas bajo refrigeración, conservadas a 4°C y procesadas dentro de las 24 horas de su colecta, usando un método de concentración mediante la centrifugación-flotación en una solución de cloruro de sodio (gravedad específica de 1,21) (Kuczynsca y Shelton, 1999). Las preparaciones fueron coloreadas con la técnica de carbol- fucsina (Arrowood, 1997) y examinadas en microscopio óptico, bajo el objetivo de inmersión 100X.

Análisis estadístico.

La estadística descriptiva fue realizada usando el PROC FREQ del programa estadístico SAS (1989). Los datos fueron analizados con la prueba exacta de Fisher's cuando el número de observaciones en alguna celda fue menor de 5, o pruebas de Jicuadrado cuando dicho valor supera a 5. Además, las muestras se agruparon por colecta correspondiendo a becerros menores de 3, 4-7, 8-14, 15-21 y 22-31 días de edad, correspondientes a la semana 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. Se calculó la tasa de riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza (IC) de 95%, para investigar la relación entre infección Cryptosporidium y diarrea en las diferentes colectas, usando cada grupo como referencia. El RR de infección fue considerado significante si el IC 95% no incluye 1. Los datos fueron procesados en el Centro de Computación de la Universidad de los Andes (CecalcULA).

RESULTADOS

En total se examinaron 140 muestras correspondientes a 31 becerros, 13 hembras y 18 machos, no observándose diferencias estadísticamente significativas entre sexos en el riesgo de infección por *Cryptosporidium* sp. Todos los animales resultaron infectados, considerando que al menos una de las muestras obtenidas de cada becerro fue positiva. La excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. se inició entre los 3-14 días de vida, mientras que 22,6% de los animales comenzaron a excretarlos a la edad de tres días, el 51,6% entre 4-7 y el 25,8% restante entre los 8-14 días de edad (Cuadro 1). De esta manera, para la segunda semana de vida, la totalidad de los becerros habían hecho patente la infección.

Las mayores prevalencias de infección se observaron cuando los animales tenían entre 4-14 días de edad y correspondieron a la 2^{da} y 3^{ra} colecta, con 77,4% y 81,5%, respectivamente. Luego el porcentaje de becerros que excretaron ooquistes disminuyó a 54,5 y 55,2% en la 4^{ta} y 5^{ta} colecta, respectivamente. Se observó una asociación altamente significativa (P<0,01) entre la infección por *Cryptosporidium* sp. y la edad de los becerros (Cuadro 1).

El examen de la consistencia de las heces señala que el 47,1% (66/140) de las muestras fueron diarreicas, y de estas, 84,8% (56/66) presentaron ooquistes de Cryptosporidium sp. En contraste, solo el 33,8% (25/74) de las muestras de consistencia normal exhibieron ooquistes (Figura 1). Al mismo tiempo, la mayoría de las muestras negativas (83%) mostraron consistencia normal. Igualmente, del examen de la consistencia de las heces se constató que en el 93,5% (29/31) de los becerros, al menos una de las cinco muestras examinadas resultó líquida o semilíquida. Los resultados indican que en general, existe una asociación altamente significativa entre infección con Cryptosporidium sp. y la consistencia de las heces (P<0,01). Adicionalmente, el análisis de relación entre diarrea e infección por Cryptosporidium sp. reveló un riesgo relativo de 2,51 (95% intervalo de confianza = 1,86-3,37) con un valor de asociación de P<0,001, lo cual indica una alta asociación significativa entre infección por Cryptosporidium y la ocurrencia de diarrea. Los episodios de diarrea se evidenciaron con mayor frecuencia entre 4 y 14 días de edad, alcanzando a 71% (22/31) y 66,7% (18/27) la proporción de animales que manifestaron diarrea cuando tenían edades comprendidas entre 4-7 y 8-14 días, respectivamente. Al examinar la relación entre infección por Cryptosporidium sp. y diarrea según la edad de los becerros, se aprecia que en todas las edades el porcentaje de animales infectados es mayor entre los diarreicos que entre los no diarreicos (Cuadro 2). Sin embargo, los resultados señalan que solo en las tres primeras colectas existe una asociación significativa (P<0,05) entre infección por Cryptosporidium sp. y diarrea. Igualmente, en los becerros <15 días de edad el riesgo de presentar cuadros de diarrea fue significativamente mayor para los infectados con Cryptosporidium que para los no infectados (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que existe una significativa asociación entre infección por Cryptosporidium sp. y la ocurrencia de diarrea.

Cuadro 1. Prevalencia de infección por Cryptosporidium sp. durante el primer mes de vida en becerros de ganadería doble propósito.

Colecta†	Edad	Becen	Prevalencia	
	_	Examinados	Positivos	
	días	nume	ro	%
1	≤3	31	7	22,6
2	4-7	31	24	77,4
3	8-14	27	22	81,5
4	15-21	22	12	54,5
5	22-31	29	16	55,2
Total		140	81	57,8

 $[\]chi^2 = 27,05$; P<0,01 † Muestreo semanal (4-5 muestras por becerro).

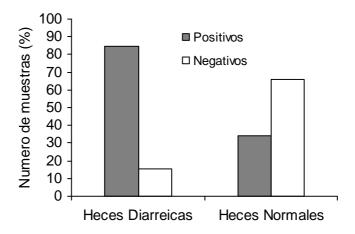


Figura 1. Relación entre presencia de ooquistes de Cryptosporidium sp. y diarrea en muestras fecales obtenidas en cinco colectas, durante el primer mes de vida en becerros de ganadería doble propósito ($\chi^2 = 37.3$; P<0,001)

Cuadro 2. Infección por Cryptosporidium sp. durante el primer mes de vida en becerros con cuadros de diarrea, riesgo relativo (RR) e intervalo de confianza (IC) de 95%

Edad	Becerros con diarrea			Becerros sin diarrea			RR	IC
	N	Infectados	No Infectados	N	Infectados	No Infectados	KK	IC
Días		%			%			
≤3	7	57,1*	42,9	24	12,5	87,5	4,57	1,35-15,45‡
4-7	22	95,5*	4,5	9	33,3	66,7	6,12	2,34-16,02‡
8-14	18	94,4*	5,5	9	55,6	44,4	3,86	1,28-11,67‡
15-21	10	70,0	30,0	12	41,6	58,4	1,94	0,71-5,30
22-31	9	77,8	22,2	20	45,0	55,0	2,84	0,79-10,12

^{*} Test exacto de Fisher (2 colas) P< 0,05

[‡] Indica significancia a P<0,05

DISCUSIÓN

Este estudio muestra que todos los becerros examinados excretaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp., antes de los 30 días de edad. Resultados similares fueron reportados en rebaños lecheros por Uga *et al.* (2000) y Castro-Hermida *et al.* (2002a) para animales pertenecientes al mismo grupo de edad, donde se señalan porcentajes de infección del 93 y 100%, respectivamente. De igual forma, en estudios donde los animales fueron evaluados mediante el examen de varias muestras fecales, las tasas acumulativas de infección alcanzaron el 100% (Anderson, 1981; Xiao & Herd, 1994; O'Handley *et al.*, 1999).

En becerros de ganadería de doble propósito con menos de 30 días de edad, se han reportado porcentajes de infección del 50,8% (Valera et al., 2001) y 43,1% (Díaz de Ramírez et al., 2004), mediante el examen de una única muestra por animal. Como la excreción de ooquistes de Cryptosporidium puede ser intermitente (O'Handley et al., 1999) y relativamente, de corta duración (Fayer et al., 1997; O'Handley et al., 1999; Uga et al., 2000), la tasa de detección del parasito presentará variaciones, dependiendo del número de muestras examinadas por animal. Al respecto, se piensa que el verdadero valor de prevalencia de la infección por Cryptosporidium, queda subestimado, si resulta del examen de una sola muestra por animal (Fayer et al., 1998; Castro-Hermida et al., 2002b). Por el contrario, en el presente estudio la excreción de ooquistes fue verificada a través del acompañamiento semanal durante el primer mes de vida de los becerros, aumentando así la probabilidad de detectar a los animales positivos.

Varios autores coinciden en señalar que los becerros menores de un mes son en particular susceptibles a la infección por *C. parvum* (Moore y Zeman, 1991; de la Fuente *et al.*, 1999; Mohammed *et al.*, 1999) y especialmente, alrededor de la segunda semana de vida se han constatado los mayores valores de prevalencia (Anderson, 1981; de la Fuente *et al.*, 1999; Uga *et al.*, 2000). Al respecto, en el presente estudio el mayor porcentaje (81,5%) de infección con *Cryptosporidium* sp. se observó cuando los becerros tenían entre 8 a 14 días de edad. Los resultados también sugieren que un número importante de ellos adquirieron la infección inmediatamente después del nacimiento, considerando que el 22,6% comenzó a

excretar ooquistes a los tres días de edad y más del 50% entre el cuarto y séptimo día. Varios autores señalan la detección de ooquistes del parasito en becerros de solo tres días de edad (Quílez *et al.*, 1996; Castro-Hermida *et al.*, 2002a; Díaz de Ramírez *et al.*, 2004) e incluso, Quílez *et al.* (1996) han reportado tasas de infección que alcanzan el 44,4 % en animales de apenas 3-4 días de nacidos.

En becerros experimentalmente infectados con C. parvum, el período prepatente está en el rango de dos a siete días (Fayer et al., 1997) mientras que en infecciones naturales, se estima que oscile de 3 a 12 días (Anderson, 1981). Es posible por lo tanto, que gran parte de los animales evaluados adquirieran la infección poco tiempo después del nacimiento, durante su permanencia en el área de maternidad. Algunos autores indican que, en aquellos sistemas de manejo donde se reduce el contacto entre las vacas y sus becerros, el riesgo de infección para estos últimos disminuye (Garber et al., 1994; Mohammed et al., 1999), mientras que otros sostienen la importancia del contacto becerro-becerro como fuente de transmisión (O'Handley et al., 1999, Becher et al., 2004). Tampoco se desestima que el suelo contaminado pueda representar un reservorio importante de ooquistes de Cryptosporidium, suficiente para inducir infección en los becerros. En un estudio conducido en explotaciones lecheras del sudeste del estado de Nueva York, Barwick et al. (2003) examinaron 782 muestras de suelo y observaron que el 17% presentaba ooquistes de Cryptosporidium spp. y además constataron que en el 92% de las 37 fincas evaluadas, al menos una de las muestras resultó positiva. Con relación a este último aspecto, en el presente trabajo se logró identificar ooquistes de Cryptosporidium en muestras de suelo recogidas en los corrales de maternidad y de recién nacidos, así como de los potreros donde permanecían los becerros hasta el destete (resultados no mostrados). Fayer et al. (1997) indican que los ooquistes son extremadamente resistentes y luego de su eliminación con las heces, permanecen infectivos en el ambiente durante largos períodos de tiempo.

Las condiciones higiénico-sanitarias deficientes, observadas en algunas áreas frecuentadas por los animales recién nacidos, incrementan el riesgo de infección y probablemente fueron factores que contribuyeron con la alta tasa de infección registrada. Varios autores han reportado que el riesgo de

infección tiende a disminuir cuando los animales son alojados individualmente en lugares previamente desinfectados, así como, cuando disponen de pisos de cemento que son lavados diariamente con agua, usando chorro de manguera a presión (Garber *et al.*, 1994; Mohammed *et al.*, 1999; Castro-Hermida *et al.*, 2002b).

El presente estudio se basó en la detección e identificación morfológica de los ooquistes de Cryptosporidium, y aunque el método utilizado provee evidencias sobre la presencia del parasito en la población estudiada, no permite identificar las especies o genotipos que infectan a los bovinos. Utilizando técnicas moleculares, Santín et al. (2004) demostraron que la prevalencia de las especies y genotipos de Cryptosporidium estaría relacionada con la edad. Sus hallazgos indican que los becerros menores de dos meses de edad representa la población predominantemente infectada (85%) con C genotipo zoonótico. Este organismo constituyó el 90% de las muestras positivas asociadas con becerros de 3 semanas de edad y fue la única especie asociada con becerros de una a dos semanas de vida.

Aunque se ha observado una variedad de signos clínicos, la diarrea constituye la principal manifestación de la criptosporidiosis. En general, esta suele ser moderada e intermitente, pero en algunos casos llega a ser profusa y acuosa. A veces, la diarrea está acompañada de fiebre, anorexia, deshidratación, debilidad y perdida de peso (Heine et al., 1984). Los resultados del presente trabajo sugieren que la infección por Cryptosporidium sp. pudo haber sido una causa importante de la diarrea observada en los animales menores de 30 días de edad. En efecto, de las 140 muestras fecales examinadas, 66 (47,1%) fueron líquidas o semilíquidas y en la mayoría de (84,8%) se detectaron ooquistes de Cryptosporidium sp. Se constató además, que los becerros que excretaron ooquistes tenían 2,5 veces mayor riesgo de manifestar diarrea que los animales encontrándose no infectados. una asociación altamente significativa entre infección Cryptosporidium sp. y ocurrencia de diarrea, en especial en los animales menores de 15 días de edad. En becerros de rebaños lecheros, diversos estudios han señalado que existe una asociación significativa entre la infección por C. parvum y los cuadros de diarrea (de la Fuente et al., 1999; O'Handley et al.,

1999; Naciri et al., 1999; Uga et al., 2000, Trotz-Williams et al., 2005).

A pesar que las infecciones concurrentes con otros enteropatógenos, así como los factores ambientales, de manejo y nutricionales pueden influir en el curso de la criptosporidiosis, varios autores coinciden en reconocer la importancia que tiene Cryptosporidium como patógeno primario, causante de diarrea aguda en becerros neonatos (Moore y Zeman, 1991; de la Fuente et al., 1999; O'Handley et al., 1999) Los resultados de este estudio sugieren que Cryptosporidium sp. induce cambios evidentes en la consistencia de las heces, razón por la cual son necesarias futuras investigaciones tendientes a determinar el potencial impacto de este parásito sobre la producción animal, así como identificar los factores que puedan estar asociados con el riesgo de adquirir la infección e inducir cuadros clínicos.

CONCLUSIONES

El presente estudio aporta información sobre la frecuencia de la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en becerros de una explotación de doble propósito. En el mismo, se evidenció que todos los animales eliminaron ooquistes del parasito antes de los 15 días de edad. Se constató además, que los becerros infectados con el parasito tenían 2,5 veces mayor riesgo de manifestar diarrea que los no infectados, encontrándose una asociación altamente significativa entre infección por *Cryptosporidium* sp. y ocurrencia de diarrea, en especial en los animales menores de 15 días de edad.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Agropecuaria Santa Teresa C.A. por el apoyo brindado.

LITERATURA CITADA

Anderson B.C. 1981. Patterns of shedding of cryptosporidial oocysts in Idaho calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., 78: 982-984.

Atwill E.R., E. Johnson, D.J. Klingborg, G.M. Veserat, G. Markegard, W.A. Jensen, D.W. Pratt, R.E. Delmas, H.A. George, L.C. Forero, R.L. Philips, S.J. Barry, N.K. McDougald, R.R. Gildersleeve y W.E. Frost. 1999. Age,

- geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds. Am. J. Vet. Res., 60: 420-425.
- Arrowood M.J. 1997. Diagnosis. *En* Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, USA, pp. 43-64.
- Barwick R.S., H.O. Mohammed, M.E. White y R.B. Bryant. 2003. Prevalence of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. on dairy farms in southeastern New York state. Prev. Vet. Med., 59(1-2): 1-11.
- Becher K.A., I.D. Robertson, D.M. Fraser, D.G. Palmer y R.C.A. Thompson. 2004. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in dairy calves originating from three sources in Western Australia. Vet. Parasitology, 123: 1-9.
- Casemore D.P, S.E. Wright y R.L. Coop. 1997. Cryptosporidiosis-human and animal epidemiology. *En* Fayer R. (Ed.) *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton. USA. pp. 65-92.
- Castro-Hermida J.A., y. A. González-Losada, M. Mezo-Menéndez y E. Ares-Mazás. 2002a. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. Vet. Parasitology, 106: 11-17.
- Castro-Hermida J.A., A. González-Losada y E. Ares-Mazás. 2002b. Prevalence of and risk factors involved in spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain). Vet. Parasitology, 106: 1-10.
- de la Fuente R., M. Luzón, J.A. Ruiz-Santa-Quiteria, A. García, D. Cid, J.A. Orden, S. García, R. Sanz y M. Gómez-Bautista. 1999. *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enterophatogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. Vet. Parasitology, 80: 179-185.
- Díaz de Ramírez A., L.N. Ramírez-Iglesia, O. Hernández y N. Montilla. 2004 *Cryptosporidium* sp. en becerros neonatos de ganadería lechera y de doble propósito del estado Trujillo, Venezuela. Zootecnia Trop., 22(2): 125 132

- Fayer R., C.A. Speer y J.P. Dubey. 1997. The general biology of *Cryptosporidium*. En Fayer R. (Ed.)
 Cryptosporidium and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 1-41.
- Fayer R., L. Gasbarre, P. Pascuali, A. Canals, S. Almeria y D. Zarlega. 1998. *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patters. J. Parasitol., 28(1): 49-56.
- Garber L.P., M.D. Salman, H.S. Hurd, T. Keefe y J.L. Schlater. 1994. Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. J. Am. Vet. Med. Assoc., 205(1): 86-91.
- Heine J., J.F.L. Pohlenz, H.W. Moon y G.N. Woode. 1984. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. J. Infect. Dis., 150: 768-775.
- Kuczynska E. y D.R. Shelton. 1999. Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures and soils. Appl. Environ. Microbiol., 65: 2820-2826.
- Mohammed H.O, S.E. Wade y S. Schaaf. 1999. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York state. Vet. Parasitology, 83: 1-13.
- Moore D.A. y D.H. Zeman. 1991. Cryptosporidiosis in neonatal calves: 277 cases (1986-1987). J. Am. Vet. Med. Assoc., 198: 1969-1971.
- Naciri M., M.P. Lefay, R. Mancassola, P. Poirier y R. Chermette. 1999. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. Vet. Parasitology, 85: 245 257.
- O'Handley R.M., C. Cockwill, T.A. McAllister, M. Jelinski, D.W. Morck y M.E. Olson. 1999. Duration of naturally acquired giardosis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. J. Am. Vet. Med. Assoc., 214(3): 391-396.
- Olson M.E., R.M. O'Handley, B.J. Ralston, T.A. McAllister y R.C.A. Thompson. 2004. Update on

- *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. Trends Parasitology, 20(4): 185-191.
- Quìlez J., C. Sánchez-Acedo, E. del Cacho, A. Clavel y A.C. Causape. 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infection in cattle in Aragòn (northeastern Spain). Vet. Parasitology, 66: 139-146.
- Santín M., J.M. Trout, L. Xiao, L. Zhou, E. Greiner y R. Fayer. 2004. Prevalence and age –related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. Vet. Parasitology, 122: 103-117.
- SAS Institute. 1989. SAS/STAT User's Guide. Version 6, 4^{ta} ed. SAS Inst. Cary, NC.
- Surumay Q. y C. Alfaro. 2000. *Cryptosporidium* spp. en bovinos jóvenes de fincas de la región oriental de Venezuela. Rev. Invest. Clínica. 41: 245-250.
- Trotz-Williams L.A., B.D. Jarvie, S.W. Martin, K.E. Leslie y A. Peregrine. 2005. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. Can. Vet. J., 46(4): 349-351.
- Uga S., J. Matsuo, E. Kono, K. Kimura, M. Inoue, S.K. Rai y K. Ono. 2000. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocysts shedding in calves in Japan. Vet. Parasitology, 94: 27 32.
- Valera Z., W. Quintero, R. Villarroel y E. Hernández. 2001. *Cryptosporidium* Sp. en becerros neonatos de una finca del Municipio Rosario de Perijá, estado Zulia, Venezuela. Rev. Cien. Fac. Cien. Vet LUZ, 11(3): 213-218.
- Xiao L. y R.P Herd. 1994. Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. Vet. Parasitology, 55: 257-262.

Evaluación de diferentes tipos de deshidratación de raíz y follaje de yuca amarga (*Manihot esculenta*) sobre su composición química

Rafael Quiñónez, Carlos González, Delia Polanco, Brunilda Perdomo y Humberto Araque*

Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela. *Correo E: araqueh@agr.ucv.ve

RESUMEN

El estudio se realizó con el objetivo de determinar el impacto de distintos tipos de secado de yuca amarga (*Manihot esculenta*) sobre la composición química de la raíz y follaje. Se utilizaron los siguientes tratamientos: T1: Patio de secado (PS); T2: Cuarto de secado con techo de vidrio (CS); T3: Estufa (E) y T4: Túnel de secado (TS). Se realizaron análisis bromatológicos del material, así como la concentración de ácido cianhídrico (HCN total y libre) y del contenido de cianuro total y libre. En la raíz, la MS, la cantidad total de almidón y de azúcares reductores no se afectaron (P>0,05); mientras que el porcentaje de azúcares totales aumentó a medida que es mayor la temperatura de secado en TS y E (8,56 y 7,29, respectivamente), con diferencias (P<0,01) en CS y PS (5,43 y 5,72, respectivamente). La determinación de MS, PC y FND en el follaje no presentaron diferencias. La concentración de HCN total se redujo de 132,73 ppm en la raíz fresca a 98,01 86,44 76,09 y 63,63 ppm para PS, CS; E y TS, respectivamente. En el follaje la concentración disminuyó de 135,59 ppm a 65,19 ppm (PS); 54,06 ppm (CS), 45,17 ppm (E) y 31,32 ppm (TS). Se concluye que las altas temperaturas y el deshidratado rápido a altas temperaturas son excelentes para disminuir la concentración de HCN tanto para la raíz como para el follaje. Sin embargo, ocurre cierto deterioro de la calidad de la raíz por el aumento en la cantidad de azúcares totales.

Palabras clave: Yuca amarga, composición química, HCN, tipos de deshidratado.

Effect of different types of root and leaf dehydration of bitter cassava (Manihot esculenta) on its chemical composition

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the impact of the type of drying treatment of roots and leaves of bitter cassava (*Manihot esculenta*), on its chemical composition. The treatments were: T1: yard drying (PS); T2: drying on room with glass roof (CS); T3: Stove (E) and T4: on drying tunnel (TS). Chemical analyses and hydrocyanic acid (HCN, free and total) concentration were determined. In the roots, MS, the total quantity of starch and of sugars reducers were not affected (P>0.05); while the percentage of total sugars increased with the drying temperature in TS and E (8.56 and 7.29, respectively), with differences (P<0.01) in CS and PS (5.43 and 5.72, respectively). The determination of MS, PC, and FND in the leaves did not show differences. The concentration of total HCN decreased from 132.73 ppm in fresh roots to 98.01 86.44 76.09, and 63,63 ppm for PS, CS, E, and TS, respectively. In the leaves the concentration diminished from 135.59 ppm to 65.19 ppm (PS); 54.06 ppm (CS), 45.17 ppm (E) and 31.32 ppm (TS). It is concluded that high temperatures and fast dehydration are excellent to lower the concentration of HCN for roots and leaves. However, some deterioration of the quality of the root occur due to the increment in the quantity of total sugars.

Keywords: Bitter cassava, chemical composition, HCN, types of dehydrated.

Recibido: 02/10/2006 Aceptado: 07/12/2006

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, la producción de cerdos tiene índices productivos eficientes basados en una producción vegetal deficiente con alta dependencia de las importaciones. Este es un esquema productivo frágil y no es el más apropiado para nuestras condiciones (González, 1994), por lo que resulta indispensable evaluar recursos con ventajas agroecológicas, que aprovechen las condiciones del trópico. La escasa disponibilidad, elevado precio y competencia con el consumo humano de las fuentes convencionales, constituyen un obstáculo para mantener la rentabilidad de la producción porcina (Pérez, 1997).

Recursos que merecen atención es la yuca amarga (Manihot esculenta Cranzt), que posee alto nivel de almidón en la raíz y el follaje es un recurso fibroso-proteico de buena calidad dada digestibilidad de sus componentes. Su limitado uso la alimentación animal, obedece desconocimiento de sus bondades nutricionales (González et al., 1999), así como el alto nivel de fibra, que podría afectar la respuesta fisiológica del animal, ocasionando aumento de la velocidad de tránsito y bajo aprovechamiento de los nutrimentos (Gonsalvo et al., 2001). Además posee factores cianhídrico), antinutricionales (HCN, ácido requiriendo un tratamiento previo para reducir la toxicidad a niveles aceptables; que no afecte a los cerdos.

En este sentido el objetivo de este trabajo fue determinar el impacto del tratamiento de secado de raíz y follaje de yuca amarga sobre la composición química: proteína, azúcares reductores y totales, almidón, fibra neutro detergente, la concentración de ácido cianhídrico antes y después del deshidratado en diferentes estructuras de deshidratado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela a 10° 17` N y 67° 3` O, a una altura de 455 msnm y una pluviosidad promedio anual de 982 mm.. Se utilizó el clon de yuca UCV-2241 con edad de 12 meses al

cual sólo se realizó control de malezas al inicio del cultivo. Las raíces fueron cosechadas y lavadas con agua corriente, troceadas en rodajas de 0,4-0,5 cm de espesor, las cuales se pesaron y se distribuyeron en los diferentes tratamientos de secado. Así mismo, el follaje de yuca fue pesado para ser colocado en los diferentes tratamientos de deshidratado. Se utilizó un diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y 7 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos fueron tanto para la raíz como para el follaje: T1: Patio de secado (PS) (Tratamiento testigo); T2: Cuarto de secado con techo de vidrio (CS); T3: Estufa (E) y T4: Túnel de secado (TS), con temperaturas de 25, 40, 65 y 183°C, respectivamente, hasta alcanzar peso constante. Las temperaturas en cada una de las fueron chequeadas a través estructuras termómetros diariamente y promediada al final del ensayo.

A la raíz y al follaje de yuca, fresca y deshidratada, les realizaron se bromatológicos de humedad, proteína, fibra neutro detergente (FND), azúcares reductores (AZR) y azúcares totales (AZT) a través de los métodos de la **AOAC** (1990)de Van Soest (1991).respectivamente. El almidón total (AT) se determinó por el método de McCready et al. (1956), empleando un Spectrometer Lambda II Perkin Elmer UV/VIS, a 520 nm, para la lectura de la absorbancia. Se determinó el HCN total y libre a través del método de Cooke (1979), modificado por O' Brien et al. (1991). La absorbancia se midió a 620 nm, en un espectrofotómetro Espectronic 20. El contenido de cianuro total y libre se calculó mediante la ecuación de Cooke (1979) ajustada por O' Brien et al. (1991). El cianuro potencial (CNP, equivalente a la cantidad de linamarina + el cianuro no glicosidico), se calculó por diferencia entre el HCN total y el libre. La linamarasa (EC 3.2.1.21) se extrajo de la cáscara de raíces de una variedad obtenida en el mercado local y su actividad se determinó por el método de Cooke (1979). La enzima se almacenó a -20°C y su actividad se chequeó periódicamente a fin de garantizar una actividad de 3 EU/mL. A los datos se les realizó análisis de varianza por el método de cuadrados mínimos, con un modelo de efectos fijos, para igual número de observaciones. Se verificó el cumplimiento de los supuestos del análisis de la varianza. Se utilizó el paquete estadístico Statixtix

versión 8.0. En aquellas variables con diferencias estadísticas significativas (P<0,01) se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey (Steel y Torrie, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se presenta la composición química y la concentración de HCN de la raíz de yuca amarga, para los diferentes tratamientos. El porcentaje de MS, la cantidad de AT y de AZR no se vieron afectados por el tipo de deshidratado utilizado (P>0,05); los valores de almidón son bajos al compararlos con los obtenidos por Seguera (1994) de 98,67%, lo cual puede deberse a una hidrólisis del almidón durante el proceso. El porcentaje de AZT se incrementó (P<0,01) a medida que aumentó la temperatura de secado, como se demuestra al comparar T1 y T2 (temperatura de 25 y 40°C) en comparación a los tratamientos con altas temperaturas del proceso de 65 y 183°C (T3 y T4), que logra modificar el almidón en dextrinas, situación conocida por Dergal (1999) quien afirma que las altas temperaturas aceleran los cambios que se suceden en los monosacáridos, catalizando las reacciones de caramelización y oscurecimiento no enzimático. Wiseman (1993) reporto que el deshidratado mejora la digestibilidad del almidón, contrario a un calentamiento excesivo, resultando en una menor disponibilidad de los nutrimentos, y por tanto, en una menor calidad nutricional, situación que se obtuvo con el presente trabajo al incrementarse el porcentaje de AZT. Para el HCN libre y el CNP, no hubo diferencias significativas entre tratamientos pudiéndose trabajar en la elaboración de raciones para cerdos con raíz de yuca sin afectar la palatabilidad ni el consumo. No obstante, se presentaron diferencias (P<0,01) para la reducción de los niveles de HCN total en la raíz fresca desde 132,73 ppm hasta 98,01 ppm; 86,44 ppm; 76,09 ppm y 63,63 ppm en PS, CS, E y TS, respectivamente. Se observo mayor reducción en TS, coincidiendo con CIAT (1981), donde el tipo de estructura y temperatura de deshidratado, además del tamaño, afectaron la calidad del producto procesado y particularmente sus niveles de HCN

En el Cuadro 2 se muestran los valores de MS, PC, FDN y el nivel de reducción en la concentración de HCN del follaje de yuca, no detectándose diferencias (P>0,05) para los diferentes tratamientos de secado. Los valores de PC están en el rango de 19,5 y 30,15% encontrado por Thacker & Kirkwood (1990) y más bajos a los reportados por González et al. (1999) de 30,15%. Estas diferencias pueden obedecer a cambios en fertilidad del suelo, clima, etapa de madurez en la cosecha; entre otras, siendo esta última, el factor que más contribuye a tal variabilidad (Thacker y Kirkwood, 1990). La fracción de FND contenida en el follaje de yuca amarga son más bajos comparado con lo reportado por González et al. (1999) de 41,50% y Wanapat et al. (2000) de 44,3%. En este sentido, la composición nutricional del follaje de yuca depende en gran parte de la edad de la planta y de la relación tallo:hoja; determinando la cantidad de fibra y proteína, y a su vez la calidad del producto final para la alimentación de animales monogástricos.

El HCN total presentó diferencias (P<0,01) para los tratamientos PS y TS, con CS y E. En este sentido, se evidencia la perdida de HCN total a medida que aumenta la temperatura. Estos resultados son similares a los obtenidos por Phuc et al. (2001b), donde los valores de HCNT fueron: 59 ppm (secado al sol) y 28 ppm (secado a 105°C). En este sentido, Phuc et al. (2001a) señalan que el secado lento al sol, resulta en un aumento de la actividad cianogénica, comparado con el secado artificial a 105°C. No obstante, Oke (1994) planteó que a 105°C el secado tiene un marcado efecto sobre el contenido de cianuro en las hojas de yuca y su toxicidad, por lo que estos antecedentes conllevan a verificar que existe retención de HCN total al aumentar la temperatura de secado (CIAT 1981).

En el CNP, se detectaron diferencias (P<0,01) para PS, E y TS, logrando una reducción en los niveles en follaje fresco de 135,59 ppm, considerado alto (>100 ppm) a un valor moderado (entre 50 y 100 ppm) para PS (65,19 ppm) y CS (54,06 ppm) y valores bajos (<50 ppm) para E (45,17 ppm) y TS (31,32 ppm), según la clasificación propuesta por Mkpong *et al.* (1990), donde la mayor temperatura de las estructuras es el factor que determina la eliminación de CNP en follaje.

Cuadro 1. Composición química y HCN de la raíz de yuca amarga con respecto a los diferentes tratamientos de deshidratado.

		incitos de de				****	
Tratamiento	MS†	Almidón	AZR	AZT‡		HCN	
					HCNL	HCNT	CNP
		%				ppm	
Fresco	36,41	84,22	2,14	6,50	16,78	132,73	115,95
PS	91,07	85,88	1,82	5,72b	32,31	98,01a	67,50
CS	91,51	81,51	1,87	5,43b	27,34	86,44ab	59,10
E	92,02	82,89	2,09	7,29a	21,73	76,09 ab	54,36
TS	92,15	82,09	1,61	8,56a	16,06	63,63b	47,57
C.V	1,04	6,28	26,21	12,79	53,54	18,73	27,22

[†] MS: Materia seca. AZR: Azúcares reductores. AZT: Azúcares totales. HCNL: HCN libre. HCNT: HCN total. CNP: Cianuro potencial.

Cuadro 2. Composición química y HCN del follaje de yuca con respecto a los diferentes tipos de secado.

ue sec	auo.					
Tratamiento	MS†	PC	FND		HCN	
				HCNL	HCNT‡	CNP
		%			ppm	
Fresco	25,72	21,40	32,35	5,10	140,69	135,59
PS	93,52	21,84	37,94	14,40	77,29a	62,49a
CS	93,68	21,28	36,81	19,79	67,28ab	47,49ab
E	93,74	21,56	36,79	18,25	63,54ab	45,29b
TS	94,38	21,37	38,92	22,50	54,03b	31,53c
C.V.	0,67	3,38	4,64	36,32	19,78	14,92

[†] MS: Materia seca. PC: Proteína cruda. FND: Fibra neutro neutro detergente. HCNL: HCN libre. HCNT: HCN total. CNP: Cianuro potencial.

CONCLUSIONES

El contenido de almidón y azúcares reductores en la raíz; la proteína cruda y fibra neutro detergente del follaje no se vieron afectados por el tipo de deshidratado, no obstante, el aumento en la proporción de azúcares totales en raíz de yuca es producto del aumento de la temperatura del proceso. Así mismo, la concentración de HCN disminuyó tanto para la raíz como para el follaje, ocurriendo la mayor retención de HCN en PS; no obstante, a esta concentración, ambos recursos pueden ser usados en la alimentación de animales monogástricos.

En las condiciones experimentales descritas, para garantizar un buen desarrollo y rápido crecimiento de las plantas en vivero, se deben utilizar estacas de 30 y 40 cm de longitud, con un grosor entre 3 y 3,9 cm y un número de yemas entre 4 y 5 para que las estacas puedan ser transplantadas a partir de la sexta semana.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

[‡] Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,01).

[‡] Letras diferentes en la misma columna indica diferencias significativas (P<0,01).

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15^{ta} ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington. USA.
- CIAT. 1981. Informe Anual del Programa de Yuca. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. Colombia.
- Cooke R. 1979. An enzymatic assay for the total cyanide content of cassava. J. Sci. Food. Agrc., 29: 345 352.
- Dergal B. 1999. Química de los Alimentos. 3^{ra} ed. Alhambra México.
- Gonsalvo S., D. Nieves, J. Ly, M. Macias, M. Caron y V. Martínez. 2001. Algunos aspectos del valor nutritivo de alimentos venezolanos destinados a animales monogástricos. Livestock Res. Rural Dev., 13(2): www.cipav.org.co/lrrd/lrrd13/2/gonz132.htm
- González C. 1994. Utilización de la batata (*Ipomoea batata* L) en la alimentación de cerdos confinados y en pastoreo. Tesis Doctoral. Fac. Agronomía. Univ. Central Ven., Maracay.
- González D., C. González, I. Díaz, J. Ly y H. Vecchionacce. 1999. Determinación en cerdos de la digestibilidad total aparente de los nutrientes del follaje de yuca amarga (*Manihot esculenta* Crantz) en interacción con lípidos. Rev. Comp. Producción Porcina, 6(1): 40-48.
- McCready R., J. Guggols y H. Silveira. 1956. Determination of starch and any lose in vegetable. Anal. Chem., 22(9): 1156-1158.
- Mkpong O.E., H. Yan, G. Chism. y R. Sayre. 1990. Purification, caractherization and localization of linamarasa in cassava. Plant Physiol., 93: 176 -181
- O'Brien G., A. Taylor y N. Poulter. 1991. Improved enzyme assay for cyanogens in fresh and processed cassava. J. Sci. Food Agric., 56: 277 289.

- Oke O.L. 1994. Eliminating cyanogens from cassava through processing: Technology and tradition. Acta Hort., 375: 163-174.
- Pérez R. 1997. Feeding Pigs in the Tropics. FAO Animal Production and Health Paper No. 132. FAO, Roma
- Phuc B.H.N., J.E. Lindberg, B. Ogle y S. Thomke. 2001a. Nutritive evaluation with rats of tropical biomass products for monogastrics: Comparison of eight green products evaluated at two levels of inclusion in relation to a casein diet. Asian-Aust. J. Anim. Sci., 14(7): 986-993.
- Phuc B., B. Ogle y E. Lindberg. 2001b. El valor nutritivo de la mandioca para los animales monogástricos. Disponible en línea: http://www.forum.org.kh/~mekarn/proccass/phuc.htm
- Sequera B. 1994. Efecto de la interacción entre las harinas de arroz, maíz y yuca y los aceites vegetales comestibles de maíz y palma sobre la digestibilidad de nutrientes y parámetros sanguíneos en ratas adultas. Trabajo de grado, Fac.Agronomía, Univ. Central Ven., Maracay.
- Steel R. y J. Torrie. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos.2^{da} ed. McGraw Hill. México.
- Thacker P. y R. Kirkwood. 1990. Nontraditional feed sources for use in swine production. Butterworth Publishers, Stoneham, USA.
- Van Soest P., J. Robertson y B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dietary Sci., 74: 3583 3597.
- Wanapat M., A. Petlum y O. Pimpa. 2000. Supplementation of cassava hay to replace concentrate use in lactating Holstein Friesian crossbreds. Asian-Aus. J. Anim. Sci., 13: 600-604.
- Wiseman J. 1993. El procesado de cereales en dietas de monogástricos. IX Curso de especialización FEDNA. Barcelona. España.

Evaluación inicial de la morera (Morus alba L.) en condiciones de vivero

Maria G. Medina¹*, Danny E. García², Tyrone Clavero³, Jesús M. Iglesias⁴ y José G. López¹

RESUMEN

Con el fin de evaluar el efecto del momento de medición, la longitud, diámetro y número de yemas de la estaca en algunos indicadores de *Morus alba* (L.) var. Criolla durante la fase de vivero, se llevó a cabo un experimento en la Estación Experimental "Rafael Rangel" en el estado Trujillo, Venezuela. Para ello se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 8 (tiempo de medición) x 3 (longitud de la estaca) x 3 (diámetro de la estaca) x 3 (número de yemas) y cinco réplicas por tratamiento. Las variables medidas fueron: altura de la planta, número de brotes, número de ramas, longitud de la rama, diámetro de la rama, hojas por rama, sobrevivencia, prendimiento, tasa de crecimiento e incidencia de plagas y enfermedades. No se observó interacción de ningún orden entre los factores estudiados. La altura de la planta, el número de brotes y ramas, la longitud de la rama y su diámetro, la cantidad de hojas por rama y la velocidad de crecimiento mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos (P<0,05). Las otras variables no presentaron variaciones sustanciales. En las condiciones de este experimento se recomienda emplear estacas de 30 a 40 cm de longitud, con un diámetro entre 3,0 y 3,9 cm y con 3 o 4 yemas, para un trasplante efectivo a las sexta semana de plantados los esquejes.

Palabras clave: morera, Morus alba, establecimiento, vivero, estacas.

Initial evaluation of mulberry (Morus alba L.) in nursery conditions

ABSTRACT

An experiment was carried out in order to evaluate the time of evaluation and length, diameter and bud number in *M. alba* L. Criolla variety during nursery stage in the "Rafael Rangel" Experimental Station in Trujillo state, Venezuela. The experiment was designed as a factorial design: 8 (time of measure) x 3 (stake length) x 3 (stake diameter) x 3 (bud number) with five replications. The measured variables were: height of plants, regrowth, and branches numbers, length and diameter of the branches, leaves number per branch, survival, growth rate, and existing plagues and illnesses. Plant height, numbers of growth, numbers of branches, branch length, stake diameter, leaves per branch and growth rate showed significant differences among treatments (P<0.05). The rest of variables were similar. It is recommended that under experimental conditions, to use the length of stakes between 30-40 cm, with a diameter between 3.0-3.9 cm, and with 3 our 4 buds per stake, in order to have a successful establishment of this plant after the sixth week of being planted.

Keywords: mulberry, Morus alba, establishment, nursery, stake.

Recibido: 30/03/2006 Aceptado: 14/11/2006

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Pampanito, estado Trujillo. Venezuela, *Correo electrónico: mgmedina@inia.gob.ve

² Estación Experimental y de Producción Agrícola "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, estado Trujillo. Venezuela

³ Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. Maracaibo, estado Zulia. Venezuela

⁴ Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba

INTRODUCCIÓN

La especie *Morus alba* L. pertenece al orden de las Urticales, Familia Moraceae, se conoce comúnmente como morera y es un árbol que tradicionalmente se ha utilizado para la alimentación del gusano de seda en diferentes países. Aunque esta especie es nativa de Asia, se ha adaptado de manera excelente a gran diversidad de condiciones edafoclimáticas y en la actualidad es reconocida como una de las especies multipropósitos más versátil.

Su uso como forraje comenzó a partir de la década del ochenta en América Central debido a sus excelentes características bromatológicas. Benavides (2000) reporto contenidos de proteína cruda superiores al 20% y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (MS) por encima del 80%. Otro de los aspectos sobresalientes de esta planta es su producción de biomasa, la cual puede alcanzar hasta 30 t MS/ha/año en sistemas intensivos de corte y acarreo, además de su alta retención de hoja durante el período seco (Martín, 2004).

Según Sánchez (2002), el método fundamental y más utilizado de propagación en esta especie es el

asexual, ya que constituye una forma fácil y rápida de conservar las características de la planta madre. Dado que en Venezuela existe escasa información acerca del comportamiento de dicha planta, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del tiempo de medición, la longitud y el diámetro de la estaca y el número de yemas en algunos indicadores de *Morus alba* (L.) var. Criolla durante la fase de vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el vivero de la Estación Experimental y de Producción Agrícola "Rafael Rangel", de la Universidad de los Andes, ubicada en el sector La Catalina, Vega Grande, municipio Pampán del estado Trujillo, Venezuela, a 200 msnm. Para la siembra del material vegetativo se usaron bolsas de nailon de polietileno negro de 1 kg, donde se depositó un sustrato compuesto con 70% de suelo franco limoso y 30% de materia orgánica (estiércol bovino tratado), utilizándose 1.080 estacas de 120 días de edad para llevar a cabo el experimento. Las condiciones ambientales prevalecientes durante el ensayo se reflejan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características climatológicas durante el período experimental.

Variable	Abril	Mayo	Junio	Julio
Precipitación (mm)	134	84	100	129
Temperatura media (°C)	26,9	26,9	27,1	27,2
Humedad relativa (%)	64,0	64,8	65,4	69,2

El material vegetal se sembró en forma vertical, según lo recomendado por Benavides (1999), con lo cual se garantiza entre un 95 y 100% de sobrevivencia. Previo a ello se le realizó en la punta un corte en forma de bisel retirando la corteza con ayuda de un escarpelo (Moreno *et al.*, 2005). Todo el material sembrado recibió riego diario manteniendo el suelo a su capacidad de campo, así como labores de

limpieza para eliminar las plantas arvenses. No se aplicó ningún tipo de enraizador ni fertilizante químico.

Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con arreglo factorial 8 (tiempo de medición) x 3 (longitud de la estaca) x 3 (diámetro de la estaca) x 3 (número de yemas) para un total de 216 casos.

Los niveles empleados fueron: tiempo: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 semanas; longitud estaca: 20, 30 y 40 cm; diámetro estaca: 1,0 - 1,9; 2,0 - 2,9 y 3,0 - 3,9 cm; y número de yemas: 3, 4 y 5.

Las mediciones se realizaron con una frecuencia semanal en cinco plantas por tratamiento identificadas como unidad de muestreo. Los indicadores evaluados fueron: altura de la planta (desde el nivel del suelo hasta el ápice de la rama apical), número de brotes (conteo visual), número de ramas (conteo visual), longitud de la rama (medida con regla graduada desde la base hasta la punta de la rama), diámetro de la rama (en la base de la rama con pie de rey), número de hojas por rama (conteo visual), brotación o prendimiento (conteo de estacas brotadas, relacionadas con el total de estacas y expresado en porcentaje), sobrevivencia (conteo de estacas vivas, expresado en porcentaje) y tasa de crecimiento (incremento en altura en cada semana).

En las primeras semanas de evaluación se consideraron brotes aquellas yemas que no sobrepasaron la longitud de 1 cm. Para la detección de plagas y enfermedades, durante su permanencia en la fase de vivero, se empleó la escala cualitativa propuesta por Machado *et al.* (1999), consistente de cuatro grados (0, 1, 2 y 3) para estimar el grado de lesiones producido por masticadores, raspadores, chupadores y trozadores. A cada uno de estos 4 niveles le correspondieron los siguientes rangos de lesiones: de 0 a 1% inmune, de 2 a 10% resistente, de 11 a 20% tolerante y mayores de 20% susceptible. Estos "rangos de lesiones" se apreciaron a nivel de las plantas individuales.

En cuanto a los síntomas causados por enfermedades y otros agentes no parasíticos se utilizó una escala de siete grados (0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6). A cada uno de estos niveles, le correspondieron los siguientes rangos de afección de acuerdo con la apreciación del observador: 0% de plantas y/o área afectada, 1% de plantas y/o área afectada, 5% de plantas y/o área afectadas, 10% de plantas y/o área afectada, 25% de plantas y/o área afectada y 100% de plantas y/o área afectada; respectivamente. Las plantas con grado 0 se consideraron inmunes, de 1 a 2 resistentes, de 3 a 4 tolerantes y de 5 a 6 susceptibles.

Para el procesamiento de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 mediante la opción GLM y empleando para la comparación de medias la dócima de Duncan a P<0,05. Los datos expresados en porcentajes (prendimiento, sobrevivencia y presencia de plagas y enfermedades) fueron transformados numéricamente según arcoseno ($\sqrt{\%}/100$) para la realización del ANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ninguno de los casos se observaron interacciones significativas de ningún orden entre los factores evaluados. Al respecto, el Cuadro 2 muestra el efecto de los factores independientes en la sobrevivencia, prendimiento y la aparición de plagas y enfermedades durante la fase experimental.

Teniendo en cuenta el efecto de las variables en estudio, la sobrevivencia de las estacas, el porcentaje de prendimiento, así como la presencia de plagas y enfermedades no mostraron variaciones significativas con ninguno de los tratamientos (P>0,05). Se observó una sobrevivencia superior al 97,8% y el porcentaje de prendimiento estuvo entre 99,2 y 100% de todo el material vegetal. Por su parte la presencia de plagas y enfermedades fue baja en todas las combinaciones. En cuanto al engrosamiento de las ramas y la cantidad de hojas se observaron incrementos altamente significativos (P<0,001). Estas mediciones fueron máximas en la octava semana (0,43 cm y 12,46 hojas; respectivamente). Al analizar el efecto de la longitud de la estaca en los indicadores altura de la planta, diámetro de las ramas y cantidad de hojas por rama, se observaron diferencias altamente significativas a favor de las estacas de 40 cm (P<0,001). El número de brotes y ramas, longitud de la rama y velocidad de crecimiento obtuvieron un mejor comportamiento en aquellos esquejes con longitudes de 30 y 40 cm.

En relación con el efecto del diámetro de la estaca, los resultados más satisfactorios se encontraron en las estacas con un grosor entre 3 y 3,9 cm. En las condiciones experimentales, la altura de la planta, brotación de yemas, longitud y diámetro de las ramas, el número de hojas y porcentaje de brotación de las plantas se mantuvieron en constante ascenso, lo que indica la factibilidad de aviverar esta especie y la eficiencia en la utilización del sustrato, incluso hasta

Cuadro 2. Efecto del momento de medición, la longitud, el diámetro y número de yemas de *Morus alba* en algunos indicadores de adaptabilidad durante la fase de vivero.

adaptabilidad durante la fase de vivero.					
Factor	Nivel		Indicado		
		Sobrevivencia	Prendimiento	Plagas	Enfermedades
			%		
	1	99,3	99,2	0,08	0,30
	2	98,5	99,9	0,10	0,30
	3	98,5	100	0,11	0,30
Comono	4	98,1	100	0,11	0,40
Semana	5	98,2	100	0,12	0,40
	6	98,2	100	0,12	0,60
	7	98,2	100	0,12	0,62
	8	97,8	100	0,12	0,61
EE		2,7	1,4	0,04	0,09
Longitud	20	99,4	99,9	0,09	0,45
Longitud (cm)	30	98,2	99,7	0,09	0,50
(CIII)	40	98,8	99,5	0,09	0,48
EE		1,9	1,0	0,03	0,10
Diámetro	1,0-1,9	99,9	99,4	0,08	0,32
(cm)	2,0-2,9	98,2	99,5	0,08	0,40
(CIII)	3,0-4,0	99,8	99,9	0,07	0,41
EE		1,2	1,4	0,02	0,28
Yemas	3	99,6	99,6	0,03	0,23
(Número)	4	98,2	99,6	0,06	0,32
(INUITIETO)	5	99,8	99,9	0,06	0,28
EE		1,5	1,1	0,02	0,09

las últimas semanas de evaluación. Según Espinoza & Benavides (1998), el comportamiento de estos procesos fisiológicos está directamente relacionado con el estatus nutricional de la semilla y las propias características genética de la variedad. También la evolución positiva de estos indicadores pudo estar dado por las condiciones favorables del ambiente y del origen del material del que provino la semilla, el cual fue de la parte media de ramas de 120 días de edad, las que presentan yemas maduras, con elevadas concentraciones de carbohidratos de reserva lo cual permite un rápido establecimiento, características muy importantes que deben considerarse al momento de seleccionar el material, según lo expresado por Cifuentes & Kee-Wook (1998) para la especie M. alba, pues ello garantizará el rápido y eficiente desarrollo inicial de la planta.

El crecimiento y el elevado porcentaje de sobrevivencia de las plantas en condiciones de vivero

denota la singularidad de esta especie, la cual se caracteriza por una elevada proporción de carbohidratos solubles, hormonas reguladoras y triterpenoides relacionados con el metabolismo del crecimiento a nivel de tallo (García *et al.*, 2005), lo que le confiere a la planta gran fortaleza y vigorosidad. Estos resultados coinciden con los de diversos autores (Benavides, 1996; Martín *et al.*, 1998; Boschini, 2002), quienes al final de la evaluación encontraron porcentajes de sobrevivencia entre el 95 y 100%.

Es interesante destacar la rapidez en la emisión de brotes (3 días) y el desarrollo alcanzado en los demás indicadores. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Moreno *et al.* (2005) en condiciones de campo y vivero y por Noa *et al.* (2004) al emplear canteros con fertilización y fitohormonas de enraizamiento, los cuales observaron los primeros brotes a los 14, 10 y 15 días, respectivamente.

Cuadro 3. Efecto del momento de medición, la longitud, el diámetro y número de yemas de *Morus alba* en algunos indicadores morfoestructurales durante la etapa de aviveramiento.

Factor	uviveiuii				Indic	ador			
	Nivel	Altura	Brotes	Ramas	Longitud	Diámetro	Hojas por rama	Crecimiento	
						rama rama			
	1	cm		nero		m	número	cm/d	
	1	30,4f†	1,25a	0,25d	0,8e	0,04e	0,60f	0,0c	
	2	30,5f	2,30a	1,95c	3,1d	0,21d	4,24e	0,0c	
	3	31,3f	2,10a	2,25bc	5,6c	0,21d	5,40e	0,12c	
Semana	4	35,9e	0,12b	2,40b	6,0c	0,25c	6,99d	0,96b	
Schlana	5	40,9d	0,10b	2,55b	10,3b	0,25c	8,65c	1,14b	
	6	43,9c	0,06b	3,00a	15,1a	0,30b	9,95b	1,92a	
	7	45,3b	0,02b	3,00a	15,5a	0,32b	10,95b	2,02a	
	8	47,0a	0,02b	3,10a	16,7a	0,43a	12,46a	2,06a	
EE		1,5*	1,04*	0,34**	1,6**	0,03***	1,20***	0,16*	
Longitud	20	25,6c	1,50c	1,42b	6,4b	0,23c	6,46c	0,81b	
•	30	38,9b	2,86a	2,68a	9,7a	0,26b	6,77b	1,09a	
(cm)	40	48,0a	2,82a	2,82a	10,2a	0,30a	8,89a	1,10a	
EE		1,5***	0,92*	0,29*	1,1**	0,03***	0,23***	0,08*	
Diámetro	1,0-1,9	37,9b	2,07c	1,93c	7,5c	0,24b	5,41c	0,85c	
	2,0-2,9	37,7b	2,68b	2,34b	8,2b	0,24b	7,64b	1,06b	
(cm)	3,0-4,0	39,3a	3,08a	3,13a	12,3a	0.30^{a}	$10,83^{a}$	1,39a	
EE		1,2**	0,21**	0,31**	1,3***	0,04*	1,28**	0,15***	
Vamas	3	38,8c	2,67b	2,08b	9,2b	0,26b	8,78a	1,07b	
Yemas	4	47,1b	2,67b	2,72a	14,0a	0,31a	7,17ab	1,41a	
(Numero)	5	48,1a	3,25a	2,81a	9,1b	0,23b	6,76b	1,07b	
EE		1,0*	0,41**	0,46**	1,1***	0,03*	1,28**	0,13***	

† Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según * (P<0,05), ** (P<0,01) y *** (P<0,001).

La ramificación, la longitud y número de hojas obtenidas al final de la evaluación, difiere al de otras variedades de morera cultivadas en el trópico, como es el caso de la Acorazonada, Tigreada, Indonesia y Cubana, las cuales presentan una mayor distribución en la zona caribeña que la Criolla. Al respecto, Cifuentes & Kee-Wook (1998) señalan que existen importantes diferencias varietales en la morfología de *M. alba*; en el caso de la Criolla, esta planta generalmente ramifica poco y posee hojas muy grandes y con poca lobulación que al madurar se tornan convexas, características observadas durante el ensayo.

La poca variación en el número de ramas, su longitud y la tasa de crecimiento a partir de la sexta semana puede ser un indicador del comienzo de la estabilización en el desarrollo integral de la planta y por ende una referencia para el inicio del transplante. Esto es contrario a lo que señalan algunas referencias bibliográficas acerca de que la edad de transplante es a partir de los tres meses (Noda *et al.*, 2004). No obstante, esto depende de una serie de factores dentro de los cuales se destacan la variedad, el tipo de sistema empleado, sustrato, las condiciones ambientales, aplicación o no de enraizadores y/o hormonas de crecimiento y fertilización.

Con relación al efecto individual de la longitud y el diámetro de la rama en los indicadores medidos, los resultados coinciden con los obtenidos por González & Cáceres (1996) y Grande *et al.* (2006) respecto a la poca influencia de ambos en la sobrevivencia y prendimiento de la estaca, atribuido a la elevada

capacidad de rebrote de la planta en la etapa inicial. Por otra parte, Caballero et al. (2006) determinaron que el incremento progresivo en los niveles de estas variables independientes provoca un comportamiento superior en el número de brotes, ramas, desarrollo radical, así como la velocidad de crecimiento debido a que la respuesta, se encuentra estrechamente relacionada con la traslocación de nutrientes hacia los puntos de crecimiento y la cantidad de metabolitos activadores por unidad de volumen. En este sentido, estacas con longitudes de 30 y 40 cm y un diámetro de 3 a 3,9 cm pueden garantizar un buen establecimiento de la planta en su fase inicial de desarrollo. Dichos propágalos cuando tienen poco grosor no se encuentran desarrolladas las vemas, existe poca capacidad de división celular y poco o ningún brote, mientras que en las estacas muy gruesas, más de 4 cm, se encuentran lignificadas y presentan reducidos rebrotes.

Con respecto al número de yemas, los indicadores evaluados mostraron un mejor comportamiento en aquellos esquejes con mayor número de yemas (4 y 5), lo cual ha sido recomendado por muchos autores (Benavides, 2000, Gómez, 2002, García 2004), ya que propicia una mayor emisión de ramas y hojas, condición importante para el posterior transplante de las posturas.

La poca incidencia de plagas y enfermedades durante el periodo experimental probablemente pudo estar relacionado con la presencia en la biomasa de algunos metabolitos secundarios que, aunque no constituyen factores antinutricionales por su baja concentración, presentan funciones protectoras y repelentes, como es el caso de los fenoles simples (Oxiresveratrol), cumarinas (Umbeliferona y Escopoletina), saponinas esteroidales e isoprenos (García, 2003).

CONCLUSIONES

El tiempo de medición, longitud y diámetro de la estaca y el número de yemas afectaron significativamente la altura de la planta, los números de brotes y ramas, la longitud y diámetro de las ramas, la cantidad de hojas por ramas y la tasa de crecimiento en *M. alba* en condiciones de vivero.

El porcentaje de prendimiento, sobrevivencia, así como la afección de plagas y enfermedades no

presentaron diferencias significativas con respecto a los factores estudiados.

Los mejores resultados en los indicadores evaluados se observaron a partir de la sexta semana en estacas con longitudes de 30 y 40 cm con un grosor de 3,0 a 3,9 cm y número de yemas de 4 y 5.

RECOMENDACIONES

En las condiciones experimentales descritas, para garantizar un buen desarrollo y rápido crecimiento de las plantas en vivero, se deben utilizar estacas de 30 y 40 cm de longitud, con un grosor entre 3 y 3,9 cm y un número de yemas entre 4 y 5 para que las mismas puedan ser transplantadas a partir de la sexta semana.

AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren expresar un reconocimiento especial al personal que labora en la Estación Experimental y de Producción Agrícola "Rafael Rangel" de la Universidad de los Andes, por el apoyo recibido para llevar a cabo esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Benavides J.E. 1996. Manejo y utilización de la morera (*Morus alba*) como forraje. Agroforestería en las Américas, 2(7): 27-30.
- Benavides J.E. 1999. Árboles y arbustos forrajeros: una alternativa agroforestal para la ganadería. *En* Benavides, J.E. (Ed) Agroforestería para la Producción Animal en América Latina. FAO. Roma. pp. 449-477.
- Benavides J.E. 2000. La morera un forraje de alto valor nutricional para la alimentación animal en el trópico. Pastos y Forrajes, 23(1): 1-14.
- Boschini C. 2002. Establishment and management of mulberry for intensive forage production. *En* Sanchez M.D. (Ed) Mulberry for Animal Production. FAO Animal Production and Heath Paper. N° 147. FAO, Roma. pp 115-122.
- Caballero C., L. Marín, R.A. Soto, E. Parets, D. Ramírez, Y. Kuan, R. Padrón y A. Socorro. 2006. Efecto del grosor del esqueje de morera (*Morus*

- *alba*) sobre su comportamiento durante los primeros 60 días de plantada. Memorias I Taller de Agricultura Alternativa. Universidad de Cienfuegos, Cienfuegos, Cuba. pp. 25-30.
- Cifuentes C. y S. Kee-Wook. 1998. Manual Técnico de Sericultura: Cultivo de la Morera y Cría del Gusano de Seda en el Trópico. Convenio Servicio Nacional de Aprendizaje-Centro de Desarrollo Tecnológico Sustentables. Colombia. 438 pp.
- Espinoza E. y J.E. Benavides. 1998. Efecto del sitio y la fertilización nitrogenada sobre la producción y calidad de la morera (*Morus alba*). Livestock Res. Rural Dev., 10(2):
 - http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd10/2/benav102.ht
- García D.E. 2003. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn). Tesis maestría en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba.
- García D.E., M.G. Medina y F. Ojeda. 2005. Carbohidratos solubles en cuatro variedades de morera (*Morus alba* Linn.). Pastos y Forrajes, 28(3): 233-239.
- García F.L. 2004. Evaluación agronómica de la Morera (*Morus alba* cv. Cubana) en un suelo ferralítico rojo típico. Tesis maestría en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba.
- Gómez A. 2002. Evaluación práctica de la producción de semillas de Morera (*Morus alba*) en condiciones de producción. Memorias V Taller Internacional Silvopastoril y I Reunión Regional de Morera. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. pp. 21.
- González E. y O. Cáceres. 1996. Comportamiento en vivero de Morera (*Morus* sp.) con diferentes sustratos en bolsa y tres diámetros de esquejes. Memorias Taller Internacional "Los árboles en los sistemas de producción ganadera" EEPF "Indio Hatuey". Matanzas. Cuba. pp. 16.
- Grande D., H. Losada, E. de la Garza y J. Vieyra. 2006. Establecimiento vegetativo de Mora (*Morus alba*), leñosa promisoria para la alimentación

- animal. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México, D.F. Disponible en linea: www.botanica-
- <u>alb.org/Publicaciones/Otros/5EcolFis.pdf</u> [Enero 23, 2006].
- Machado R., R. Roche, O. Toral y E. González. 1999. Metodología para la colecta, conservación y caracterización de especies herbáceas, arbóreas y arbustivas útiles para la ganadería. Pastos y Forrajes, 22(3): 181-203.
- Martín G. 2004. Evaluación de los factores agronómicos y sus efectos en el rendimiento y la composición bromatológica de la biomasa de morera (*Morus alba* Linn). Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba.
- Martín G., I. Yépes, I. Hernández y J. E. Benavides. 1998. Evaluación del comportamiento de cuatro variedades de morera durante la fase de establecimiento. Memorias. III Taller Silvopastoril "Los árboles y arbustos en la ganadería". EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. pp. 92.
- Moreno F., A. Márquez y T. Preston. 2005. Cuatro métodos de propagación vegetativa de Morera (*Morus alba*). Livestock Res. Rural Dev., 17(5): http://www.cipav.org.co/lrrd17/5/more17058.htm
- Noda Y., G. Pentón y G. Martín. 2004. Comportamiento de nueve variedades de *Morus alba* (L.) durante la fase de vivero. Pastos y Forrajes, 27(2): 131-138.
- Sánchez M.D. 2002. World distribution and utilization of mulberry and its potential for animal feeding. *En* Sanchez M.D. (Ed) Mulberry for Animal Production. FAO Animal Production and Heath Paper. N° 147. FAO, Roma. pp. 1-8.

Índices ecológicos y parámetros biométricos de Haemulidae (Pisces: Perciformes) en la zona costera de la Isla de Cubagua, Venezuela

Berta Parra¹, Lilia J. Ruiz^{2*} y Antulio Prieto²

1 Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. Cumaná, estado Sucre. Venezuela.

2 Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente. Apartado Postal 245. Cumaná, estado Sucre. Venezuela. *Correo electrónico: !iliaruiz@cantv.net

RESUMEN

En este trabajo se analizó la distribución espacial, composición, abundancia y riqueza de las especies de la familia Haemulidae en la isla de Cubagua, así como aspectos biométricos de las cuatro especies más abundantes. Se realizaron colectas mensuales en cinco estaciones, desde marzo 1999 a febrero 2000, utilizándose un tren de arrastre playero. Se capturaron un total de 2.393 ejemplares con peso de 80,36 kg, distribuidos en cuatro géneros y 15 especies, de las cuales 11 correspondieron al género *Haemulon*. Siete especies representaron el 97,33% de las capturas, siendo las más abundantes *Haemulon steindachneri* (57,84%), *H. aurolineatum* (21,27%), *Orthopristis ruber* (5,35%) y *H. boschmae* (5,06%). Las tres primeras presentaron un crecimiento isométrico con valores de b estadísticamente igual a 3, mientras que en *H. boschmae* fue alométrico mayorante (b > 3). Las colectas más representativas se realizaron en los meses de junio a noviembre de 1999, con un 67,36%, lo cual coincide con el período de lluvia y alta temperatura del agua. En las estaciones de Charagato y Las Minas, ubicadas en la zona norte de la isla, se capturó el mayor número de organismos (49,0 y 42,7%, respectivamente) y número de especies (11 y 9 especies, respectivamente), las cuales debido a la ubicación, son las áreas más protegidas y con una alta productividad. La diversidad osciló entre 1,03 y 2,10 con promedio de 1,53 bits/ind. *H. steindachneri*, por su abundancia en los muestreos y la presencia en todas las localidades y meses, fue la especie característica de Haemulidae en las localidades estudiadas.

Palabras clave: Peces Haemulidae, diversidad, distribución espacial y temporal, biometría.

Ecological indexes and biometric parameters of Haemulidae (Pisces: Perciformes) in the coastal zone in the Cubagua island, Venezuela

ABSTRACT

The aim of this work was to analyze the spatial and seasonal distribution, relative abundance of the Haemulidae species in the Cubagua island and biometric aspects of the four more abundant species. Monthly samples were obtained in five stations, from March 1999 to February 2000, with seine beach hauls. A total of 2393 specimens were captured distributed in four genus and 15 species, of which 11 corresponded to *Haemulon*. Seven species represented 97.33%, being the most abundant *Haemulon steindachneri* (57.84%), followed by *H. aurolineatum* (21.27%), *Orthopristis ruber* (5.35%), *H. boschmae* (5.06%). The three first they presented isometric growth with b similar to 3 while in *H boschmae* was significantly greater than 3. The most representative samples were in the months of June to November (67.33%), that which coincides with rainy period and high temperature of the water. In the stations 1 (Charagato) and 2 (Las Minas) the biggest number of organisms was captured (49.0 and 42.7%, respectively) and number of species (11 and 9 species, respectively), due to the location and the high productivity. Total diversity of family varied between 1.03 and 2.01 with average of 1.53 bits/ind. *H. steindachneri*, for its abundance in the sampling and the presence in all stations, was the species of Haemulidae characteristic in the Cubagua Island.

Keywords: Haemulidae fishes, diversity, spatial and seasonal distribution, biometry.

Recibido: 31/05/2006 Aceptado: 09/02/2007

INTRODUCCIÓN

La isla de Cubagua es una de las áreas de mayor importancia pesquera del oriente de Venezuela, aportando un volumen significante de la pesca artesanal en el estado Nueva Esparta. Pescadores que ocasionalmente visitan la zona y realizan labores de pesca en determinadas épocas del año informan capturas de hasta 50-60 t por lance. Los registros oficiales indican que para el año 1996 se reportaron 5.466 t (Novoa et al., 1998) y para el año 1999 la captura ascendió a 8.000 t/año (Marval y Gómez, 2000). Las condiciones ecológicas de las áreas costeras y el notable efecto de la surgencia que caracterizan la zona posibilitan la existencia de una gran abundancia temporal de peces (Gómez, 1996).

Las especies de la familia Haemulidae constituyen uno de los grupos de peces más abundantes en la región nororiental de Venezuela y representan un componente importante en la pesca artesanal del área, habitando en aguas someras de las zonas tropicales y subtropicales. En el Atlántico centro-occidental están representados por seis géneros y 23 especies (Carpenter, 2002) y en Venezuela se citan 21 especies, siendo *Haemulon* el más representativo con 14 especies (Cervigón, 1994).

La información sobre comunidades de Haemulidae en el área es escasa y esta basada en reportes previos de Gómez (1987a,b), quien ha señalado que esta familia constituye un componente importante en la ecología de la zona, dada su diversidad y abundancia. Los peces desempeñan uno de los papeles más importantes en el balance energético de estos ecosistemas y muchas de las especies del género Haemulon poseen un alto valor económico, las cuales sin embargo no han sido evaluados ni analizados en el contexto general de la ecología de las comunidades. En consecuencia, se planteó como objetivo del trabajo analizar la distribución, composición, abundancia, diversidad y parámetros biométricos de las especies más abundantes de la familia Haemulidae en la isla de Cubagua con el fin de contribuir a la interpretación ecológica del área.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron muestreos mensuales diurnos en cinco localidades, dos ubicadas en la costa norte de la isla (Bahía de Charagato y Las Minas), una en el este (Las cabeceras) y dos en la costa sur (Chucuruco y Punta Arenas) (Figura 1), desde marzo de 1999 hasta febrero de 2001. Para la colecta se utilizó un tren de arrastre playero de 60 x 3 m, con abertura de malla de 1,6 cm en el copo y 2,5 cm en los extremos. Después de cada muestreo los peces fueron preservados en cavas con hielo para ser trasladados al laboratorio. donde identificados, contados, medida su longitud total (LT) usando un ictiómetro de 1,0 mm de apreciación y pesados en una balanza digital de 0,01g de apreciación. Adicionalmente, se determinó la temperatura superficial del agua, con un equipo portátil de medición y la salinidad con un refractómetro con apreciación de 1‰.

Los datos de longitud y peso de las cuatro especies más abundantes de las cinco estaciones muestreadas fueron ajustados a un modelo de regresión exponencial, obteniéndose las ecuaciones y comparando estadísticamente los coeficientes de alometría a tres, mediante una prueba t-Student (Zar, 1996).

Con la lista de especies y la abundancia mensual se calcularon los siguientes índices ecológicos: diversidad numérica de la familia (H'), equitatibidad (Γ) y dominancia (ID), citados por Margalef (1980). Las especies típicas o características de la comunidad se determinaron mediante la frecuencia y abundancia de las especies en los muestreos.

Área de estudio y estaciones de muestreo

La isla de Cubagua (10° 49′ 30′′ N y 64° 10′ 0′′ O), situada en la plataforma de la región nororiental de Venezuela, al sur de la isla de Margarita, tiene una superficie de 22,4 km² y presenta una vegetación escasa y árida sin curso de agua. Presenta diferentes tipos de fondo: fangoarenosos, praderas de fanerógamas marinas, sustratos rocosos y coralinos en partes muy

localizadas y arenas limpias (Gómez, 1987a). Estación Bahía de Charagato (E1): Es una de las zonas más protegidas de esta isla, abierta y presenta distintos fondos, desde los arenosos limpios con praderas de *Thalassia testudinum*, hasta ambientes

rocosos y coralinos de poca extensión en sitios bien localizados. A partir de los 4-5 m de profundidad abundan los octocorales que prácticamente tapizan el fondo de la bahía, cuya profundidad alcanza los 3,5 m (Gómez, 1988).

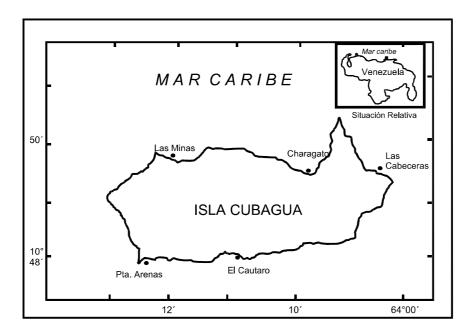


Figura 1. Frecuencia relativa del número de especies y organismos de Haemulidae, recolectados en cinco estaciones en la Isla de Cubagua, Venezuela.

Estación Las Minas (E2): Zona situada en el extremo nor-occidental de la isla (cerca de Punta Palenquete) y caracterizada por una franja pedregosa formada por cantos rodados en la parte externa y hasta poco menos de un metro de profundidad, a partir de donde el sustrato es arenoso y las aguas son transparentes.

Estación Punta Arenas (E3): Área ubicada en la costa sur-occidental de la isla. Los muestreos se realizaron en una playa arenosa.

Estación El Cautaro (E4) Zona situada en la costa sur de la isla caracterizada por una franja pedregosa formada por cantos rodados en la parte externa y hasta poco menos de un metro de

profundidad, a partir de donde el sustrato es arenofangoso y las son turbias.

Estación Punta Las Cabeceras (E5): Situada en la costa oriental de la isla, en una playa arenosa de aguas transparentes, con parches de *Thalassia testudinum* y formaciones coralinas aisladas en la zona más profunda.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Temperatura y salinidad

La temperatura del agua fluctuó entre 23,5 y 28°C, con valores altos en el período de julio a diciembre que correspondió con valores bajos de salinidad producto de las lluvias y de la pluma de

agua, rica en nutrientes, que viene desde la desembocadura del río Orinoco. Además de un período de temperaturas bajas de enero a junio que corresponde a la época de surgencia costeras, característica de la región nororiental del país y cuyo rango de amplitud es mayor que el indicado para las aguas superficiales de la Bahía de Charagato (Gómez, 1987a). La salinidad promedio anual fue de 37,10‰ que puede considerarse dentro de los valores señalados para la zona por Gómez (1987a y b).

Número de organismos

Se recolectaron un total de 2.393 ejemplares con un peso total de 80,36 kg, en su mayoría juveniles, distribuidos en cuatro géneros y 15 especies, de las cuales 11 correspondieron al género Haemulon. Siete especies representaron el 97,33% de las capturas, siendo las más abundante Haemulon steindachneri (57,84%), seguida de H. aurolineatum (21,27%), *Orthopristis ruber* (5,35%), *H. boschmae* (5,06%), H. striatum (3,13 %) y H. bonariense (2,59%) (Cuadro 1). El número de organismos capturados mensualmente varió entre 109 y 415 con promedio de 199,42 ± 93,34. Las colectas más representativas se obtuvieron en los meses de junio a noviembre de1999 (67,36%), registrándose los valores más bajos de marzo-mayo de 1999 y enerofebrero de 2000 (Cuadro 2). Los meses en donde se capturó el mayor número de organismos coinciden con las más elevadas temperaturas del agua y bajas salinidades producto de las lluvias, lo cual conlleva el aporte de nutrientes desde la desembocadura del Orinoco a la zona. Este mismo comportamiento es señalado para la ictiofauna de una playa arenosa en la Bahía de Charagato (Gómez, 1987a).

Número de especies

El número de especies de haemúlidos capturadas mensualmente varió entre 3 y 9, con promedio de $6 \pm 1,86$. Las estaciones donde se registró mayor número de organismos y especies fueron Bahía de Charagato con 49,0% de las capturas, representadas por 11 especies, y Las Minas con 42,7% y 9 especies (Figura 2), las cuales están ubicadas en la costa norte de la isla y son áreas más protegidas. Gómez (1987a,b) informó para una playa arenosa de la Bahía de Charagato, la presencia de 7 especies de Haemulidae; sin embargo, en una

pradera de *Thalassia* en la misma localidad encontró 10 especies, 5 en muestreos diurnos y 9 en muestreos nocturnos, entre las que señala a *Anisotremus surinamemnsis*, especie no recolectada en este estudio, con lo que se elevaría a 16 el número de especies de la familia en la zona costera de la isla de Cubagua. En las estaciones E3, E4 y E5, a pesar de que el número de organismos capturados fue relativamente bajo (menor del 6,0%), el número de especies estuvo entre 5 y 7 (Cuadro 1).

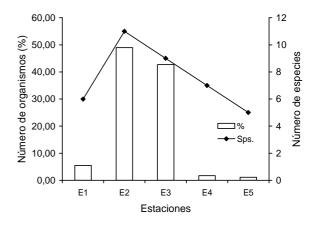


Figura 2. Frecuencia relativa del número de especies y organismos de Haemulidae, recolectados en cinco estaciones en la Isla de Cubagua, Venezuela

Haemulidae es una de las familia que presenta mayor número de especies en ecosistemas costeros en el oriente de Venezuela; habiendo sido reportada como la más diversa en una playa arenosa (8 especies) y en una pradera de Thalassia testudinum (7 especies) del islote Caribe y la comunidad ictiofaunística de los islotes Los Lobos (8 especies). ubicados al norte del estado Sucre (Ramírez, 1997a,b), en playas arenosas y praderas de T. testudinum de la Bahía de Charagato, isla de Cubagua (Gómez 1987a,b) y en tres localidades con fondo de macrofitas del Golfo de Cariaco, donde fue la más abundante, tanto en número como en especies (Allen y Jiménez, 2001). Villamizar (1993) la indicó como la segunda familia con mayor número de especies en praderas de Thalassia en el archipiélago de Los Roques. Ruiz et al. (2003) la señalan también como la segunda familia más diversa después de la Scaridae en un parche arrecifal en Cautaro, Bahía de Mochima, con 6 especies.

Los haemúlidos constituyen la cuarta familia de peces costeros demersales en la isla de Trinidad, siendo las especies más abundantes en la estación seca, entre las que destacan H. steindachneri y H. sciurus (Manickchand-Heileman y Filien-Flus, 1990). Sedberry y Carter (1993) analizando la comunidad de peces en una laguna de una barrera arrecifal en Belice, señalaron que los Haemulidae dominaron las colectas, tanto en número como en biomasa. especialmente H. sciurus flavolineatum. Por otra parte, se ha señalado que la sobreexplotación pesquera del pargo Lutjanus synagris en el Golfo de Batabanó, Cuba, provocó una disminución del recurso, nicho que fue sustituido por tres haemulidos (Claro, 1991).

Aspectos biométricos de algunas especies de Haemulidae

Haemulon steindachneri (Jordan y Gilbert, 1882) fue la especie de Haemulidae más abundante. Se capturaron 1.384 ejemplares de tallas comprendidas entre 72 y 230 mm de LT con promedio de 120,16 mm. El peso total de la captura fue de 39.224 kg, oscilando entre 5,15 y 194,0 g con promedio de 28,67 g. El 67% de los peces recolectados de esta especies fueron adultos con tallas entre 90 y 130 mm de LT, mientras que 22% de los individuos presentaron tallas superiores a 130 mm y escasos individuos con longitudes menores de 90 mm (Figura 3A), presentando una distribución de

Cuadro 1. Especies la familia Haemulidae y número de organismos por especies, recolectados en las cinco localidades (E1-E5) de la isla de Cubagua, Venezuela.

Especies		Esta	cione	S		Total	al	Acum	Frec
	E1	E2	E3		E5				
			mero			Numero)	% -	
Haemulon steindachneri	20	742	612	7	3	1.384	57,8	57,8	100,0
H. aurolineatum	1	223	271	14	-	510	21,3	79,1	100,0
Orthopristis ruber	59	4	64	1	-	128	5,4	84,5	50,0
H. boschmae	-	100	21	-	-	121	5,1	89,5	50,0
H. striatum	-	41	19	15	-	75	3,1	92,7	58,3
H. bonariense	-	35	16	-	11	62	2,6	95,3	66,7
H. Chrysargyreum	48	1	-	1	-	50	2,1	97,3	33,3
H. parra	-	20	-	-	4	24	1,0	98,3	16,7
Pomadasys curvinaeformis	1	-	17	-	-	18	0,8	99,1	16,7
H. plumieri	-	-	-	1	8	9	0,4	99,5	25,0
H. flavolineatum	-	4	1	-	-	5	0,2	99,7	16,7
H. melanurum	_	1	1	2	-	4	0,2	99,9	16,7
Conodon novilis	2	-	-	-	-	2	0,1	99,9	8,3
P. crocus	-	1	-	-	-	1	0,04	99,9	8,3
H. sciurus	-	-	-	-	1	1	0,04	100	8,3
Total	131	1.172	1.022	41	27	2.393	100	100	

[†] Acum = porcentaje acumulativo; Frec = frecuencia en los muestreos

Cuadro 2. Valores mensuales del número de especies, número de organismos y los parámetros comunitarios: diversidad (H´), equidad (J´) e índice de dominancia (ID) de la familia Haemulidae en la isla de Cubagua, Venezuela.

Mes	Especie	Org.	H′	J´	ID
	Numero				
Mar-99	9	128	2,00	0,63	72,66
Abr	5	160	1,37	0,59	90,00
May	5	121	1,38	0,59	89,26
Jun	3	212	1,23	0,78	88,21
Jul	4	313	1,34	0,67	88,82
Ago	8	277	1,69	0,56	85,20
Sep	6	415	1,34	0,52	87,71
Oct	6	198	1,81	0,70	76,26
Nov	7	197	1,05	0,52	82,74
Dic	6	138	1,99	0,77	65,94
Ene-00	7	109	2,10	0,75	68,81
Feb	3	125	1,03	0,65	96,00
Total	15	2393	1,99	0,51	79,11
Promedio	5,75	199,42	1,53	0,64	82,63
DE	1,86	93,35	0,38	0,09	9,48

clases de talla unimodal que es característica de las poblaciones sometidas a un proceso normal de explotación pesquera (Claro, 1991). La relación tallapeso fue positiva y significativa, con un crecimiento isométrico (P = $6*10^{-6}$ LT ^{3,177}; $r^2 = 0.973$; P<0.05) (Figura 4A). Rodríguez (1985) determinó la relación talla-peso en 222 ejemplares de la especie, obtenidos de la pesca de arrastre en la parte nororiental de la isla de Margarita y reportó un valor de b = 2,62, lo cual se traduce en un crecimiento alométrico minorante. Aunque el autor no refiere las tallas analizadas, todos los organismos estaban maduros, por lo que es posible que esta población sea una unidad de stock distinta a la estudiada. Le Creen (1951) señaló que estas diferencias en el valor de b entre poblaciones pueden deberse a variaciones en el habitáculo, épocas y sistema de muestreo empleado. La especie H. steindachneri ocurrió en las cinco estaciones y en todos los muestreos, por lo que puede considerarse dentro de la familia Haemulidae como típica y dominante en la zona costera de Cubagua. Esta especie también ha sido señalada como muy abundante en ecosistemas costeros del oriente del país, representando entre 13,87 y 18,91% del total de los peces capturados. Además de ser una especie constante (≥ 50%), Ramírez (1997a,b,c) y Gómez (1987b) señalan que H. steindachneri fue una especie muy frecuente (F = 83,33%) en muestreos nocturnos en una pradera de Thalassia en Charagato, con una abundancia relativa de 5,13% y un índice biológico relativo al número de 60%; sin embargo, en muestreos diurnos fue poco frecuente (41,67%) y abundante (0,28%). También se ha reportado como la especie de haemúlido más abundante (64,57%) en la Bahía de Ribeira, Brasil (Manzano y Andreata, 2000).

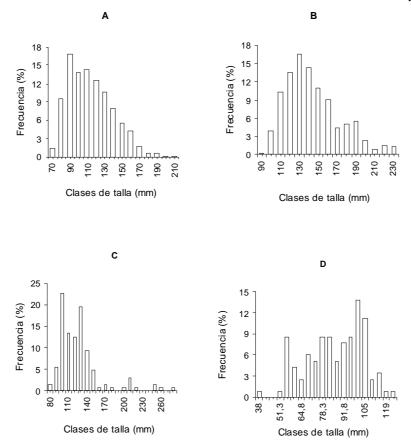


Figura 3. Distribución de frecuencia (%) de talla de: *H. steindachneri* (A), *H. aurolineatum* (B), *O. ruber* (C) y *H. boschmae* (D), recolectados en la Isla de Cubagua, Venezuela.

Haemulon aurolineatum (Cuvier, 1830). Se capturaron 509 organismos de tallas comprendidas entre 72 y 230 mm de LT con promedio de 140 mm, entre los que se destacan juveniles y adultos. La distribución de frecuencia de talla fue polimodal, con un pico dominante entre 100 y 170 mm de LT que incluyó aproximadamente el 70% de la población y otro secundario comprendido entre 170 y 220 mm con 20% de los individuos, capturandose muy pocos peces con tallas superiores a 220 mm y menores de 100 mm de LT. (Figura 3B). El peso total fue de 23.947 kg y osciló entre 3,98 y 144,74 g con promedio de 38,99 g. Fue la segunda especie en abundancia y se recolectó en cuatro de las cinco estaciones muestreada (Cuadro 1), aunque la mayor abundancia se obtuvo en Charagato y Punta Palenquete. Elcrecimiento fue isométrico,

representado por la ecuación $P = 6*10^{-6} LT^{3,137} (r^2 = 0,978; P<0,05)$ (Figura 4B). Parra (1997) analizó la relación longitud horquilla-peso en ejemplares juveniles y adultos en ejemplares de esta especie de la isla de Cubagua y encontró diferencias en el crecimiento ya que en los juveniles fue alométrico mayorante con un b = 3,43. Sin embargo, para los adultos el crecimiento fue alométrico minorante con una constante de regresión b = 2,89, que resultó significativamente diferente de 3. Estos resultados permiten inferir que los juveniles crecen más en longitud que en peso, mientras que los adultos aumentan de peso

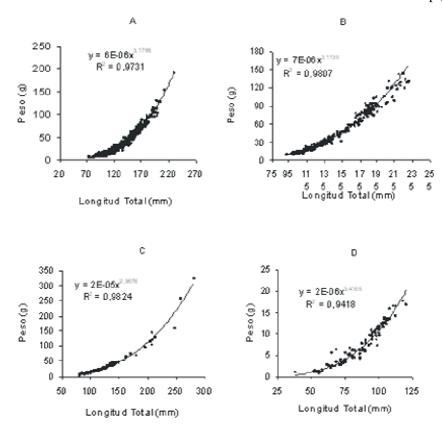


Figura 4. Relación talla:peso de *H. steindachneri* (A), *H. aurolineatum* (B), *O. ruber* (C) y *H. boschmae* (D), recolectados en la Isla de Cubagua, Venezuela

Orthopristis ruber (Cuvier, 1830) es una de las especies de Haemulidae de mayor consumo en el país, cuya producción pesquera representa el 1,4% del total, lo cual la ubica entre las 20 primeras especies que conforman los recursos pesqueros del país (Novoa et al., 1998). Se capturaron 128 organismos, en su mayoría juveniles, de tallas comprendidas entre 80 y 280 mm de LT con promedio de 122,95 con una distribución de clases característica debido a que el 90% de los peces recolectados presentaron longitudes comprendidas entre 90 y 150 mm de LT, que constituye el segmento dominante de la población, con escasos individuos con tallas superiores a 160 mm (Figura 3C). Si tomamos en consideración que el pez más grande recolectado midió 280 mm de LT, indicaría que constituye el grupo de edad que estaría más fuertemente sometido a explotación pesquera por un determinado arte de pesca (Ricker, 1979). El peso

varió entre 7 y 324,4 g (promedio de 34,68 \pm 43,95 g) y la mayoría de los ejemplares se obtuvieron en las estaciones 1 y 2. El peso total de la captura fue de 4.385 kg. La relación talla-peso de los ejemplares capturados fue $P = 1*10^{-5}$ LT 3,077 (P<0,001; $r^2 = 0,985$), con un crecimiento isométrico (Figura 4C). El valor del coeficiente de regresión es muy similar al reportado por Echevers (1975) en la misma especie, en capturas realizadas en otras áreas del nororiente de Venezuela, quien obtuvo la ecuación $P = 1,92x10^{-5}$ Lt 2,9562 , señalando además que no se encontraron diferencias significativas de la relación entre machos y hembras.

Haemulon boschmae (Metzelaar, 1919). Se capturaron 121 ejemplares de tallas comprendidas entre 38 y 120 mm de LT (promedio de 84.0 ± 18.29 mm). La distribución de clases de talla de esta especie fue polimodal y heterogénea,

concentrándose irregularmente entre 55 y 109 mm de LT, con pocos individuos con tallas superiores a 110 mm y menores de 55 mm (Figura 3D). El mayor ejemplar reportado para la especie midió 190 mm (Cervigón, 1993). El peso osciló entre 0,88 y 17,82 g (con promedio de 7,18 \pm 4,51 g). Esta especie se capturó solo en Charagato y Punta Palenque, siendo más abundante en Charagato. La relación talla-peso fue alométrica mayorante: P = $2*10^{-6}$ LT 3,376 ($r^2 = 0,951$; P<0,05) (Figura 4D).

Los coeficientes de regresión de las especies de Haemulidae señaladas anteriormente presentaron valores superiores a 3 con crecimiento que oscilaron entre isometría (*H. steindachneri*, *H. aurolineatum* y *O. ruber*) y alometría positiva (H. *boschmae*), lo cual indica que el crecimiento en peso es proporcional a la longitud del cuerpo. En los peces es común encontrar alometría positiva y negativa dentro de una misma especies en diferentes áreas geográficas, lo cual se ha asociado a la estructura de talla en particular de cada especie y área de pesca (Squire y Susuki, 1990) o también a los cambios interanuales de las condiciones nutricionales y reproductivas de los organismos (Ricker, 1975).

Parámetros comunitarios

La diversidad (H´) mensual de la familia en todas las estaciones fluctuó entre 1,03 y 2,10 bits/ind., con promedio de $1,71 \pm 0,64$ y una diversidad total acumulada de 1,38 bits/ind. Los valores más bajos ocurrieron en junio de 1999 y febrero 2000 cuando se capturaron 3 especies y los más altos en marzo 1999 y enero 2000. La equitatividad (J´) varió entre 0,52 y 0,77 con promedio de $0,65 \pm 0,08$; el índice de dominancia de especies fue alto en la mayoría de los muestreos, lo cual ocasionó los relativamente bajos valores de diversidad (Cuadro 2).

Especies constantes

De las 15 especies recolectadas en el área de estudio cuatro resultaron ser residentes permanentes, *H. steindachneri*, *H. aurolineatum*, *H. striatum* y *H. bonariense*, presentándose con una frecuencia en los muestreos superior a 58,33%. Las dos primeras aparecieron en todos los muestreos y las dos últimas, aunque no aparecieron en todas las estaciones muestreadas y su número fue

(75 relativamente bajo y 62 ejemplares, respectivamente), fueron capturadas en el 58,33 y 66,67% de los muestreos, respectivamente. Hay que señalar que de las especies capturadas ocho (53,33%) fueron especies ocasionales. Las especies H. bonariense y H. aurolineatum son de amplia distribución en el Caribe y han sido señaladas como típicas residentes en la Laguna de Términos, México, donde habitan en áreas protegidas de Rhizophora manglae y Thalassia testudinum, en rango de salinidades de 23 a 28‰ y temperaturas entre 24 y 28°C (Díaz-Ruiz et al., 1981).

Los resultados de esta investigación indican que en la región costera de la isla de Cubagua, la familia Haemulidae presenta una alta riqueza específica con 15 especies, 11 de las cuales pertenecen al género Haemulon, siendo las más abundantes *H. steindachneri* y *H. aurolineatum*. El análisis comunitario reveló que del total de especies, cuatro se consideraron residentes permanentes, presentándose en los muestreos con una frecuencia superior al 58,33 %, mientras que 8 especies se consideraron ocasionales en el área.

CONCLUSIONES

- 1. La riqueza de especies de la familia en el área de estudio es elevada, representando el 71,43% de las especies citadas para Venezuela y el 65,22% de las del Atlántico centro-occidental.
- 2. De las 15 especies de Haemulidae analizadas del litoral costero de la Isla de Cubagua, *H. steindachneri* fue la especies típica y dominante del sistema, por su abundancia relativa (57,81%) y frecuencia en los muestreos (F = 100%).
- 3. *H. steindachneri*, *H. aurolineatum* y *O. ruber* presentaron un crecimiento isométrico con valores de b estadísticamente igual a 3, mientras que en *H. boschmae* el crecimiento fue alométrico positiva (b > 3).

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente (CIUDO) por el financiamiento del Proyecto del cual forma parte el presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- Allen T. y M. Jiménez. 2001. Comunidad de peces en tres praderas de *Thalassia testudinum* del Golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela. Bol. Inst. Ocean., 40(1-2): 39-48
- Carpenter K.E. (Ed). 2002. The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. Vol. 3: Bony Fishes, Part 2 (Opistognathidae to Molidae), Sea Turtles and Marine; ammals. FAO species identification guide for fishery purposes and American Society of Ichthyologist and Herpetologists Publication N° 5. Rome, FAO. Pp. 1375-2127.
- Cervigón F. 1993. Los Peces Marinos de Venezuela. Vol. II. 2^{da} ed. Fundación Científica Los Roques, Caracas.
- Claro R. 1991. Changes in fish assemblages structure by the effect of intense fisheries activity. Trop. Ecol., 32(1): 36-46.
- Díaz-Ruiz S., A. Yánez-Arancibia y F. Amescua-Linares. 1981. Taxonomía, diversidad y abundancia de los pomadasidos de la Laguna de Términos, Campeche. Ana. Inst. Cien. Mar. Limnol., Contribución 282: 1-33
- Echevers S.L. 1975. La relación longitud-peso en 7 especies de interés comercial en el nororiente de Venezuela. Bol. Inst. Ocean., 14(2): 243-246.
- Gómez A. 1987a. Estructura de la comunidad de peces en playas arenosas de la Bahía de Charagato, isla de Cubagua, Venezuela. Bol. Inst. Ocean., 26(1 y 2): 53-66.
- Gómez A. 1987b. Estructura de la taxocenosis de peces en praderas de *Thalassia testudinum* de la bahía de Charagato, isla de Cubagua, Venezuela. Bol. Inst. Ocean., 26 (1 y 2): 125-146.
- Gómez A. 1988. Ecología pelágica de la bahía de Charagato isla de Margarita, Venezuela. Trabajo de Ascenso, Univ. de Oriente, Cumaná, Venezuela.

- Gómez A. 1996. Causas de la fertilidad marina en el nororiente de Venezuela. Interciencia, 21(3): 140-146.
- Le Cren E. 1951. The length-weight relation and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch, *Perca fluviatilis*. J. Anim. Ecol., 20(2): 201-219.
- Manickchand-Heileman S. y M. Julien-Flus. 1990. Species composition and seasonality of a coastal demersal fish stock in Trinidad, West India. Caribb. Mar. Stud., 1(1): 11-21
- Manzano F. y J. Andreata. 2000. Estudos da distribuicao espazial/sazonal das especies de Haemulidae (Perciformes) que ocorrem na baía da Riberira, Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil. Resumen IX Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Isla San Andrés, Colombia.
- Margalef R. 1980. Ecología. Editorial Omega. Barcelona, España.
- Marval J. y A. Gómez. 2000. Producción pesquera del estado Nueva Esparta, Venezuela. Resumen IX Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Isla San Andrés, Colombia.
- Novoa D., J. Mendoza, L. Marcano y J. Cárdenas. 1998. Atlas Pesquero Marítimo de Venezuela. MAC-SARPA-VECEP, Caracas.
- Parra B. 1997. Algunos aspectos biométricos de Haemulon aurolineatum Cuvier, 1830 (Pises: Haemulidae) de la isla de Cubagua, Venezuela. Trabajo de Ascenso, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Univ. Oriente, Cumaná.
- Ramírez-Villaroel P. 1997a. Estructura de la comunidad de peces en una playa arenosa con parches de *Thalassia terstudinum* del Islote Caribe, Venezuela. *En* Ramírez-Villarroel P. (Ed). Islotes Caribe y Los Lobos. Gobernación del estado Nueva Esparta, Venezuela. pp. 45-61
- Ramírez-Villarroel P. 1997b. Estructura de la comunidad de peces en una pradera de *Thalassia* de la playa Los Gallos, Islote Caribe, Venezuela. *En* Ramírez-Villarroel P. (Ed). Islotes Caribe y

- Los Lobos. Gobernación del estado Nueva Esparta, Venezuela. pp. 63-79.
- Ramírez-Villarroel P. 1997c. Caracterización de la estructura de la comunidad ictiofaunística de los Islotes Los Lobos, Venezuela. *En* Ramírez-Villarroel P. (Ed). Islotes Caribe y Los Lobos. Gobernación del estado Nueva Esparta, Venezuela. pp. 81-97.
- Ricker W. 1975. Computation and interpretation of biological statistics fish population. J. Fish. Res. Bd., 191-382.
- Rodríguez I. 1985. Reproducción del chere-chere, *Haemulon steindachneri* (Jordan y Gilbert, 1882) Perciformes: Pomadasyidae. Tesis Licen. Biología, Univ..Oriente. Escuela de Ciencias, Cumaná, Sucre.
- Ruiz L J., E. Méndez de E., A. Torres de J., A. Prieto, B. Marín y A. Fariña. 2003.
 Composición, abundancia y diversidad de peces arrecifales en dos localidades del Parque Nacional Mochima, Venezuela. Ciencias Marinas, 29(2): 185-195.
- Sedberry G.R. y J. Carter. 1993. The fish community of a shallow tropical lagoon in Belize barrier, Central America. Estuaries, 16(2): 198-215.
- Squire J.L. y Z. Susuki. 1990. Migration trends of striper marlin (*Tetrapturus audax*) in the Pacific Ocean. *En* Straud R.H. (Ed) Planning the Future of Billifishes. Proc. Second Inter. Billifish Symposium, Kailua-Kona, Hawai. Part 2, pp. 67-80.
- Villamizar E. 1993. Evaluación de la comunidad de peces en algunas praderas de fanerógamas del Parque Nacional Archipiélago de Los Roques. Tesis Doctoral. Univ. Central Ven., Fac. Ciencias. Caracas.
- Zar J. 1996. Bioestatistical Analysis. 3^{ra} ed. Prentice Hall, New Jersey.

Essential oils toxicity related to *Varroa destructor* and *Apis mellifera* under laboratory conditions

Sergio Ruffinengo¹, Matias Maggi², Claudia Faverin², Susana B. García de la Rosa², Predo Bailac³, Judith Principal^{4*} y Martin Eguaras^{5, 2}

ABSTRACT

Acaricidal effect of *Tagetes minuta*, *Heterotheca latifolia*, and *Eucalyptus sp.* essential oils against *Varroa destructor* and their toxicity for *Apis mellifera* L. were evaluated under laboratory conditions in two assays. In the first experiment, 10 mg of plant active principles were prepared in water solution with an emulsionant at 3, 4, and 5% concentrations. For each component and to each dose, 10 females *V. destructor* were pulverized in a Burgerjon tower and transferred to a Petri dish with 5 bee pupae to an incubation stove at 70% RH and 33-34°C for 3 days. Dead and alive mites were counted 12, 24, and 48 h after treatment for five replications and their controls. No significant differences were found among doses of the same component and its effectiveness varied between 63 to 84% related to the control groups. In the second assay, 100 adult bees were pulverized with 10 mg of a 5% solution of the components and placed in an incubator stove at 70% RH and 33-34°C. Four replications and a control treatment for each sample were taken simultaneously. Dead and alive bees for each replication were counted 72 h post-treatments. There were not significant differences in bee mortality among the control groups (P>0.05) and it was relatively low for all treatments except for eucalyptol in which the bee mortality percentage was higher than 58%. It was concluded that *T. minuta* and *H. latifolia* essential oils can play an important role in an integrated pest management program to control Varroosis in honey bee colonies.

Keywords: Varroa destructor, Apis mellifera, essential oils, Tagetes minuta, Heterotheca latifolia, eucalyptol.

Toxicidad de aceites esenciales relacionados con *Varroa destructor* y *Apis mellifera* en condiciones de laboratorio

RESUMEN

El efecto acaricida de los aceites esenciales de *Tagetes minuta*, *Heterotheca latifolia* y *Eucaliptus* sp., contra *Varroa destructor* y su toxicidad sobre *Apis mellifera* L. fue evaluado en condiciones de laboratorio en dos ensayos diferentes. Para el primer ensayo, 10 mg del principio activo de las plantas fue disuelto en agua con un emulsionante al 3, 4 y 5%. Para cada componente y cada dosis, 10 hembras de *V. destructor* fueron pulverizadas en una torre de Burgerjon y transferidas a una cápsula de Petri con 5 pupas de abejas. Las cápsulas se mantuvieron *e*n una estufa a 70% HR y 33-34°C durante tres días. Los ácaros muertos y vivos fueron contados a las 12, 24 y 48 h post-tratamiento para cinco réplicas y sus respectivos controles. No hubo diferencias significativas entre las dosis del mismo componente y su efectividad varió entre 63 y 84% en relación al control.

Recibido: 14/03/2006 Aceptado: 14/11/2006

¹ Unidad Integrada INTA- Facultad Ciencias Agrarias-Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires. Argentina.

² Laboratorio de Artrópodos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata, Buenos Aires. Argentina.

³ Facultad de Ciencias Económico-Sociales e Ingeniería. Universidad Nacional de San Luis. Villa Mercedes, San Luis. Argentina.

⁴ Estación de Apicultura, Decanato de Ciencias Veterinarias. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Barquisimeto, Lara. Venezuela. *Correo electrónico: <u>jprincip@ucla.edu.ve</u>

⁵ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Mar del Plata, Buenos Aires. Argentina

En el segundo ensayo, 100 abejas adultas fueron pulverizadas con 10 mg de una solución al 5% de los componentes y colocadas en la estufa a 70% HR y 33-34°C. Cuatro réplicas y un control de cada muestra fueron tomadas simultáneamente. Las abejas muertas y vivas de cada réplica fueron contadas 72 h post-tratamiento. No hubo diferencias significativas en la mortalidad de las abejas entre los grupos control (P>0,05) y ésta fue relativamente baja para todos los tratamientos excepto para el eucaliptol cuyo porcentaje fue mayor al 58%. Se concluye que los aceites esenciales de *T. minuta y H. latifolia* pueden formar parte de un programa de manejo integrado de la Varroosis.

Palabras clave: Varroa destructor, Apis mellifera, aceites esenciales, Tapetes minuta y Heterotheca latifolia, eucaliptol.

INTRODUCTION

Varroa destructor (Anderson & Trueman, 2000) is currently one of the most serious parasitic mite that affects Apis mellifera L. colonies. This mite completes all its life cycle inside the beehives, sucking the haemolymph of the pupae and adult bees. When this mite colonizes a hives, the beekeepers must conduct different acaricide treatments to control parasite population size and prevent the death of the colonies.

Currently, the control of the mite is based, mainly, on the use of synthetic acaricides, especially pyrethroids. Nevertheless, the repeated use and in many cases subletales doses of these substances throughout years has caused problems, such as its accumulation in the different products of the beehive and develop resistance of the mites' population to acaricides (Milani, 1995) due to the fact that most of these compounds have the potential to contaminate bee products. These problems have led to develop investigations on alternative control methods, such as organic acids, essential oils or any of their components. Essential oils are distilled from aromatic plants, they possess intense smell, exhibit low toxicity in mammals and bees and they have less harmful effect over environment and wide public acceptation among producers (Isman, 2000).

About 150 essential oils or any of their components have been tested to control the mite V. destructor, with different results. Their toxicity, repellent or attractive effect towards the mite and their influence on the mite's reproduction have been evaluated, when essential oils have been locally administered, or applied in pulverization or in a passive evaporation form (Imdorf $et\ al.$, 1999).

This work evaluates de activity of essential oils of Wild camomile (*Tagetes minuta*), alcanforillo (*Heterotheca latifolia*), and eucalyptol, main component of the essential oil of *Eucalyptus* sp. against the mite *V. destructor* under laboratory conditions. Toxicity in honey bees *Apis mellifera* is also determined.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extraction and characterization of essential oils

The extraction and characterization of the essential oils was made at Facultad de Ciencias Económico-Sociales e Ingeniería from Universidad Nacional de San Luis, Argentina. The experiments on toxicity of mites and bees were made at the Laboratory of Arthropods of the Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, from September 2001 to March 2002.

The essential oils were extracted from leaves and stems of wild chamomile (Tagetes minuta L.) and alcanforillo (Heterotheca latifolia). On the other hand, the eucalyptol was acquired from Sigma under 100% pure. The vegetable material was distilled for 4 h in a stainless equipment using the method of distillation with steam according to Aldicara (1976). The oil was separated from water by decantation, dried with sodium sulphate and then kept in refrigeration to avoid its deterioration. The oil composition of *T. minuta* and *H. latifolia* aerial parts was analyzed by GC and GC/MS, using a Shimadzu GC-17A chromatograph equipped with a DB-1 fused silica capillary column (60 m x 0.248 mm, film thickness $0.25 \, \mu m$). The temperature programmed from 60°C (5 min) to 220°C at 3°C/min

and the final temperature was held for 22 min, injector and detector temperatures: 230°C and 250°C, respectively, detector FID; carrier gas nitrogen at a flow of 0.9 mL/min. The GC/MS analysis was performed on a Perkin-Elmer, O-Mass 910 G; separation was accomplished on a 30 m x 0.32 mm fused silica capillary column (Supelco SPB-1), film thickness 1 µm. The injector and detector temperatures 250°C, oven temperature programmed from 60°C (5 min), 60-220°C (3°C/min) and 220°C (8 min), carrier gas helium at a flow of 1mL/min, operating at 70 eV. The identification of components was based on comparison of their mass spectra with those reported in literature (Adams, 2001) and by computer search of their 70 eV mass spectra with those stored in the library of the GC/MS data system, as well as by retention indices.

Toxicity in mites

The essences and components were prepared in a distilled water and emulsionant (Tween 20) solution and were pulverized on Varroa females in a Burgerjon tower (Burgerjon, 1956). Ten females of *V. destructor* were used in each assay. They were placed on Petri dishes and pulverized with 10 mg of each essence or component as it follows: Group A: 10 female mites pulverized with 3% solution of active ingredient. Group B: 10 female mites pulverized with 4% solution of active ingredient. Group C: 10 female mites pulverized with 5% solution of active ingredient. Control Group: 10 female mites pulverized with water and emulsionant.

Female mites were removed from brood cells, showing a normal movement after 15 min of their remotion. Afterwards, mites were transferred to a mesh covered dish containing 5 pupae in brown eyes stage for feeding and placed in incubation stove at 70% RH and 33-34°C for 3 days. Dead and alive mites were counted 12, 24, and 48 after treatment. Five replications for each treatment were made. Data were analyzed by ANOVA for each oil, only considering the oil dose effect and means were compared by Duncan's Test.

Toxicity in adult bees

About 100 adult bees, without age differentiation, were placed inside metallic mesh

cages (17 cm length x 10 cm width and 1.5 cm high) and were pulverized with 10 mg of solution 5% of the correspondent oil emulsionated in distilled water. Four replications of each sample were simultaneously taken. A control of distilled water plus emulsionant was used. Ten minutes after the treatments, the cages with bees were placed in stove to 70% RH and 33-34°C. Receptacles containing candy for bees feeding were placed inside each cage. Dead and alive bees in each cage, 72 hours after the treatments were counted. Data were analyzed by PROC CATMOD (SAS, 1989).

RESULTS AND DISCUSSION

The main chemical components of the evaluated essential oils are presented in Table 1. For *T. minuta* the main compounds were (E)–ocimene y (Z)-ocimenone and for *H. latifolia* those are borneol y camphor.

The values of mite mortality after pulverization, for different treatments at different doses, showed that the effectiveness did not differ significantly between concentrations of 3, 4, and 5%, though there were significant differences (P<0.05) when comparing treatments with their respective control (water + emulsionant) (Table 2). The treatments with essential oil of H. latifolia and eucalyptol were more effective than those of T. minuta. The range of efficacy for those treatments was c.a 63 to 84%.

The values of mite mortality after pulverization, for different treatments at different doses, showed that the effectiveness did not differ significantly between concentrations of 3, 4, and 5%, though there were significant differences (P<0.05) when comparing treatments with their respective control (water + emulsionant) (Table 2). The treatments with essential oil of H. latifolia and eucalyptol were more effective than those of T. minuta. The range of efficacy for those treatments was c.a 63 to 84%.

Honeybee mortality for different treatments (Table 3) was low and did not significantly differ from the values registered for the control groups (P>0.05) varying between 2.05 and 12.17 %, except for eucalyptol in which the percentage of bee mortality reached values up to 70%

Table 1. Composition of the four principal essential oils of *Tagetes minuta* L. (Wild camomille) and *Heterotheca latifolia* (alcanforillo)

Essential oil	ssential oil Compounds	
		%
	(E)-ocimene	62.8
Tagetes minuta L	(Z)-ocimenone	10.2
Tagetes minuta L	(E)-ocimenone	6.6
	Limonene	5.8
	Borneol	31.5
Heterotheca latifolia	Camphor	27.2
Петеготеса тапјона	Limonene	7.2
	Camphene	6.4

[†] Relative percentage obtained from GC peak area

Table 2. Average and SD of female dead mites of *Varroa* destructor (5 replications, n=10 individuals each) for four treatments at different doses administered by spraying, at 48 hours.

Spraying, at 4	Dead Mites ± SD	Effectiveness
Treatment, %	Dead Writes ± SD	
_		%
Tagetes minuta		
3	$6.4 \pm 0.17 \text{ b}\dagger$	64
4	$7.2 \pm 0.36 \text{ b}$	72
5	$7.2 \pm 0.29 \text{ b}$	72
Control	4.0 ± 0.13 a	40
Heterotheca latifolia		
3	$7.6 \pm 0.40 \text{ b}$	76
4	$8.2 \pm 0.38 \text{ b}$	82
5	$8.4 \pm 0.51 \text{ b}$	84
Control	$3.8 \pm 0.38 a$	38
Eucaliptol		
3	$7.8 \pm 0.22 \text{ b}$	78
4	$6.3 \pm 0.14 \text{ b}$	63
5	7.1 ± 0.19 b	71
Control	3.9 ± 0.22 a	39

[†] Different letters means significant differences (P< 0.05).

Table 3. Bees' mortality for four different treatments after

72 h post-application. Dose was 10 mg of 5%

72 n post-application. Dose was 10 mg of 5%.								
Treatment	Dead Bees	Initial n	Mortality					
			%					
Tagetes minuta								
Try 1	9	113	7.31 a†					
Try 2	8	103	7.76 a					
Try 3	14	115	12.17 a					
Try 4	6	121	4.95 a					
Control	7	123	5.69 a					
Heterotheca latifolia								
Try 1	4	151	2.64 a					
Try 2	6	126	3.96 a					
Try 3	10	138	4.34 a					
Try 4	3	146	2.05 a					
Control	12	139	8.63 a					
Eucalyptol								
Try 1	64	94	68.0 b					
Try 2	70	98	71.0 b					
Try 3	60	103	58.0 b					
Try 4	57	95	60.0 b					
Control	5	97	5.15 a					
1 D:cc 1		11.00	6 .1					

[†] Different letters means significant differences for the same essential oil (P<0.05).

Up to the present time, it is unclear what the mode of action is of the essential oils or their components. Previous investigations referred (Ennan et al., 1998) that these compounds act on octopaminergic nervous system present in insects. The octopamin receptors are gone in the vertebrates. Therefore, there would be a perfect selective target for a pest control. Many essential oils and their components have biological activity related to insects, mites, bacteria, fungi, and nematods.

The results presented in this investigation showed evidences that the essential oil of *H. latifolia*, T minuta, and eucalyptol cause adult mite mortality when these are administered by pulverization. However, the eucalyptol also produces toxicity to adult workers in A. mellifera with more than 58% of mortality of the bees. Imdorf et al. (1995) studied the toxic effects of volatile compounds on mites and bees. They observed that with a concentration of 240 µg/L of eucalyptol produced a 25% of bee mortality. Furthermore, the use of eucalyptol as a treatment for controlling Varroa is uncertain, due to the fact that,

there is a little difference in toxicity between bees and mites, even if it is administered by pulverization or evaporation. On the other hand, the oils from H. latifolia and T. minuta did not show significant differences related to toxicity on bees compared to control group. This phenomenon is very important because of the susceptibility of bees from some essential oils which has been well documented by (Lindberg et al., 2000). In relation to other essential oils obtained from this work, the percentage of mortality is low, compared to other studies. Gal et al. (1992) reported bee mortality values that ranged between 82 and 91% with the application of origanum oil (Origanum vulgare L.), whereas Kraus et al. (1994) reported near 98% of bee mortality with the application of cinnamon oil (Ocotea spixiana). Although, in both cases the bee mortality was reached with the oil administration in a 10% solution, exactly the double of those used in this work. It is possible. that a high oil concentration used in this study could be contributed to improve the final efficacy in relation to Varroa control, even though it was not observed using concentrations from 3 to 5% (Table 2).

There are little information about the main chemical compounds and their mode of action of the essential oils of H. latifolia y T. minuta. According to previous studies the camphor affects the mite reproduction, although it also produces serious effects on the bee brood, while the limonene when it is used in high concentrations as pure compound exhibits low toxicity in mites and in bees (Imdorf et al., 1999). The borneol, which can be found in low concentrations in essential oil of Salvia officinalis, when it is administered simultaneously with the essential oil of Thymus vulgaris has been demonstrated an efficacy over 90% against Varroa (Colin et al., 1994). Similarly, the essential oil of *T. minuta* has not show repellent effects or attraction effects on adult female Varroa (Eguaras et al., 2005).

The percentage of efficacy and control of the mite presented in this work seem to be low in comparison to those obtained from synthetic acaricides commonly used to control Varroa. Although, the development of miticides made from natural substances do not pretend to avoid the use of conventional products to control the mite, but at least reduce the use these chemicals to control mite populations. Therefore, the results presented in this investigation suggest that the essential oils of H. latifolia and T. minuta could play an important role to use these plants derivates to establish an integrated pest management program to reduce mite populations in A. mellifera colonies. Although, this knowledge should be taken into account to control mite based on natural products, further studies need to be done in order to identify some other factors that may be involved in a successful control of Varroosis. Currently. there are very few commercial formulations based on essential oils or their components to be use to control Varroa mite.

CONCLUSIONS

These results suggest that *T. minuta* and *H. latifolia* essential oils could play an important role as an integrated program management in controlling the Varroosis in honey bee colonies whereas the eucalyptol exhibited a high mortality to the adult honeybees.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by ANPCyT, Project PICT2002 08-704 by CONICET thru PEI 6229.

LITERATURE CITED

- Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by chromatography and mass spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, Illinois, USA.
- Aldicara J.R. 1976. Essential oil. *In* Macketta J.J. y W.A. Cunningham (Eds.) Encyclopedic of Chemical Processing and Design. Marcel Dekker, New York. pp. 101-121.
- Anderson D. y J. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* is more than one species. Exp. Appl. Acarology, 24: 165-189.
- Burgerjon A. 1956. Pulverisation et poudrage au laboratoire par des prèparations pathogènes insecticides. Ann. Epiphyt., 4: 675-684.
- Colin M.E., F. Ciavarella, G. Otero Colina y L. Belzunces. 1994. A method for characterizing the biological activity of essential oils against *Varroa jacobsoni*. *En* Matheson A. (Ed) New Perspectives on *Varroa*. IBRA. Cardiff. UK. pp. 98-109.
- Eguaras M., S. Ruffinengo, P. Bailac, G. Clemente, S. Fuselli, L. Gende, R. Fritz, A. Gonzalez y M. Ponzi. 2005. An *in vitro* evaluation of *Tagetes minuta* essential oil for the control of the honeybee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the parasitic mite *Varroa destructor*. J. Essen. Oil Res., 17: 336-340.
- Ennan E., M. Beiger y A. Kende. 1998. Insecticidal action of terpenes y phenols to cockroaches: effects of octopamine receptors. International Symposium on Plant Protection. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Gent, Belgium.
- Gal H., Y. Slabezki y Y. Lensky. 1992. A preliminary report on the effect of origanum and thymol applications in honey bee colonies in a subtropical climate on population of *Varroa jacobsoni*. Bee Science, 2: 175-179.
- Imdorf A., V. Kilchenmann, S. Bogdanov, B. Bachofen y C. Beretta. 1995. Toxic effect of thymol, camphor, menthol, and eucaliptol on

- Varroa jacobsoni Oud. and Apis mellifera L. A laboratory test. Apidologie, 26: 27-31.
- Imdorf A., S. Bogdanov, R. Ibañez Ochoa y N. Calderone. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* in honey bee colonies. Apidologie, 30: 209-229.
- Isman M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.
- Kraus B., N. Koeniger y S. Fuchs. 1994. Screening of substances for their effect on *Varroa jacobsoni*: Attractiveness, repellency, toxicity and masking effects of ethereal oils. J. Apicult. Res., 33: 34-43
- Lindberg C., A. Melathopoulus y M. Winston M. 2000. Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa jacobsoni*, a honey bee parasite. J. Econ. Entomol., 93: 189-198.
- Milani N. 1995 The resistence of *Varroa jacobsoni* to pyrethroids: A laboratory assay. Apidologie, 26: 415-429.
- SAS. 1989. SAS/STAT User's Guide. Version 6. 4th Ed, SAS Institute Inc. Cary, NC.

