



Gobierno  
Bolivariano  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la Agricultura y Tierras

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Zootecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

tropical

ecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

# Zootecnia tropical

Zootecnia  
tropical  
Depósito Legal: pp. 198302AR214

ISSN: 0798 - 7269

AÑO 27 VOL. 27 No. 1 2009

# ZOOTECNIA TROPICAL

**Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas  
Maracay, Venezuela**

## INDIZACIÓN

C.A.B. International (U.K.)  
Biosis Zoological Records (USA)  
Agroforestry Abstracts (USA)  
IICA-CIDIA (Costa Rica)  
Royal Tropic Institute (Tropag & Rural, Holanda)  
AGRIS (FAO, Roma)  
LATINDEX (México)  
IAMS LIC (USA)  
Índice de Revistas Latinoamericanas  
en Ciencias (México)  
MEDIATHEK (Alemania)  
Periodica (México)  
REVENCYT (Venezuela)  
Base de Datos REVIS (CATIE, Costa Rica)  
Base de Datos RISPAL (CATIE, Costa Rica)  
Base Agrícola Venezolana (INIA, Venezuela)  
Bioline (Canadá)  
SciELO (Venezuela)  
Scopus (EUA)  
HINARI (FAO Italia)  
Org. de Estados Iberoamericanos (Colombia)

## SE ACEPTA EL INTERCAMBIO CON OTRAS REVISTAS

Exchange requested  
Wir bitten um austausch  
On demande l'échange  
Gradiremmo cambio  
Deseamos permuta

Toda correspondencia debe dirigirla a:  
REVISTA ZOOTECNIA TROPICAL.  
INIA Ceniap.  
Apartado Postal 4653.  
Maracay 2101, estado Aragua, Venezuela.

## Direcciones electrónicas

[zootrop@inia.gov.ve](mailto:zootrop@inia.gov.ve)  
[jgil@inia.gov.ve](mailto:jgil@inia.gov.ve)  
[nobispo@inia.gov.ve](mailto:nobispo@inia.gov.ve)

ZOOTECNIA TROPICAL es una revista científica que publica artículos inéditos y originales de investigación en las áreas de producción, salud, genética y reproducción animal de especies de interés zootécnico, tecnología de alimentos de origen animal, pastos y forrajes, y acuicultura marítima y continental, relacionados con el trópico. Su periodicidad es trimestral y se publica en los meses de marzo, junio, septiembre y diciembre. Las instrucciones a los autores aparecen en el primer Número de cada Volumen.

El Comité Editorial de la Revista Zootecnia Tropical agradece el apoyo financiero otorgado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) para la publicación de este Número.

Esta revista esta incluida en la colección Scielo Venezuela ([www.scielo.org.ve](http://www.scielo.org.ve))

Valor de la subscripción: Venezuela Bs. 65,00 un año. Exterior: US \$ 75.00 one year. Ejemplar: Bs. 15.00

Incluye gastos de manejo y envío por vía terrestre para Venezuela y correo marítimo para el exterior

## SUMARIO Vol. 27 No. 1

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- Alvarez R., Bertsch A. y Coello N. Digestibilidad verdadera de harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* en gallos adultos..... 1
- Galíndez R., De Basilio V., Martínez G., Vargas D., Uztariz E. y Mejía P. Evaluación de la fertilidad y eclosión en la codorniz japonesa ..... 7
- Barrientos M.M., De L. Juárez M.M., Trujillo O.M.E. y Montiel P.F. Alteraciones en la integridad del acrosoma y de la teca perinuclear en semen criopreservado de verraco ..... 19
- Depablos L., Godoy S., Chicco C.F. y Ordoñez J. Nutrición mineral en sistemas ganaderos de las sabanas centrales de Venezuela ..... 27
- Drescher K, Saddy J. y Uzcátegui W. Evaluación de la cantidad de leche vendible y total bajo diferentes modalidades de amamantamiento restringido en vacas doble propósito ..... 39
- Martínez G.J.C., Lucero M.F.A., Castillo R.S.P. y Ortega R.E. Estimación de algunos parámetros genéticos de crecimiento en la raza Guzerat en México ..... 49
- Aranguren P.A.J., López Ortega A.A., Mendoza C.A. y Delgado N. Efecto de la mastitis clínica y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas totales y albúmina en hembras bovinas..... 57
- Korbut N., Ojeda A. y Muñoz D. Evaluación del perfil bromatológico y de algunos parámetros físicos del follaje de plantas leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo en un bosque seco tropical semideciduo ..... 65
- Cabrera P., Fernandez A., Bastidas P., Perozo E., Molina M., Bethencourt A., Vivas I., Reyes Y. y Díaz T. Efecto del peso de la donadora sobre la tasa de colecta de embriones murinos (*Mus musculus*)..... 73
- Buitrago E., Buitrago J., Freitas L. y Lodeiros C. Identificación de factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), bajo condiciones de cultivo suspendido en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela..... 79
- Llanes I.J.E., Toledo P.J. y Lazo de la Vega V.J.M. Evaluación de la levadura de vinazas (torula) en la alimentación de alevines de *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) ..... 91
- Montemor K.A. e Malerbo S.D.T. Biodiversidade de polinizadores e biologia floral em cultura de berinjela (*Solanum melongena*)..... 97

## TABLE OF CONTENTS Vol. 27 No. 1

## SCIENTIFIC ARTICLES

Alvarez R., Bertsch A., and Coello N. True digestibility of feather flour fermented by <i>Kocuria rosea</i> in adult roosters.....	1
Galíndez R., De Basilio V., Martínez G., Vargas D., Uztariz E., and Mejía P. Evaluation of the fertility and hatchability in Japanese quails.....	7
Barrientos M.M., De L. Juárez M.M., Trujillo O.M.E., and Montiel P.F. Alterations in the integrity of the acrosome and perinuclear theca in cryopreserved boar spermatozoa.....	17
Depablos L., Godoy S., Chicco C.F., and Ordoñez J. Mineral nutrition in cattle production systems in central savannas of Venezuela .....	25
Drescher K, Saddy J., and Uzcátegui W. Evaluation of different restricted suckling modality on saleable and total milk production in dual purpose cows.....	39
Martínez G.J.C., Lucero M.F.A., Castillo R.S.P., and Ortega R.E. Estimate of some genetic parameters of growth in Guzerat breed in Mexico.....	49
Aranguren P.A.J., López Ortega A.A., Mendoza C.A., and Delgado N. Effect of clinic and subclinic mastitis on the plasmatic concentration of metabolites, total protein, and albumen in bovine females .....	57
Korbut N., Ojeda A., and Muñoz D. Evaluation of bromatological profile and some physical parameters of trees and shrubs foliage species consumed by cattle in silvopastoral conditions at a tropical semideciduous dry forest .....	65
Cabrera P., Fernandez A., Bastidas P., Perozo E., Molina M., Bethencourt A., Vivas I., Reyes Y., and Díaz T. Effect of donor weight on recovery rate of murine embryos ( <i>Mus musculus</i> ).....	73
Buitrago E., Buitrago J., Freitas L., and Lodeiros C. Identification of environmental factors affecting growth and survival of the mangrove oyster, <i>Crassostrea rhizophorae</i> (Guilding, 1828), in suspended culture at La Restinga lagoon, Margarita Island, Venezuela.....	79
Llanes I.J.E., Toledo P.J., and Lazo de la Vega V.J.M. Evaluation of (torula) vinazas yeast in the feeding for fingerling of <i>Clarias gariepinus</i> (Burchell, 1822).....	91
Montemor K.A. and Malerbo S.D.T. Pollinators biodiversity and floral biology on eggplant crop ( <i>Solanum melongena</i> ).....	97

## Digestibilidad verdadera de harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* en gallos adultos

Ramón Álvarez<sup>1\*</sup>, Annalisse Bertsch<sup>2</sup> y Nereida Coello<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.

\*Correo electrónico: alvarezr@agr.ucv.ve

<sup>2</sup>Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.

---

### RESUMEN

Se compararon las digestibilidades verdaderas de la materia seca, proteína cruda, cenizas y extracto etéreo de las harinas de plumas fermentadas por la bacteria *Kocuria rosea* (HPF) y la comercial (HPC) en gallos adultos, mediante una prueba de balance. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 10 aves por tratamiento y 10 adicionales para las evaluaciones del endógeno. Los resultados indican que la materia seca de la HPF fue significativamente superior y más digestible ( $P < 0,01$ ) respecto a la HPC. El producto fermentado principalmente contiene proteína cruda (67%) cuya digestibilidad es superior al 85% y equivalente a la de la harina comercial. Aunque contiene 45% menos de grasa, ésta se digiere más ( $P < 0,01$ ) que la presente en la HPC. Caso contrario ocurre con los minerales, pero aunque la digestibilidad es menor ( $P < 0,01$ ) en la HPF, los niveles de estos casi cuadruplican a los contenidos en la HPC. Los resultados obtenidos confirman que la harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea*, además de ser principalmente una fuente alternativa de proteína para las aves, puede también ser nutricionalmente mejor aprovechada por estos animales que la comercial.

*Palabras clave:* *Kocuria rosea*, plumas, fermentación, gallos adultos.

---

### True digestibility of feather flour fermented by *Kocuria rosea* in adult roosters

### ABSTRACT

Dry matter (DM), crude protein, ash, and ethereous extract true digestibility of feathers flour fermented by *Kocuria rosea* (FFM) and commercial (CFM) were compared in adult roosters by means of a balance test. It was used a completely randomized design, with 10 birds by treatment and 10 additional for the evaluations of endogenous. As for the results, DM levels of the FFM are significantly higher and more digestible with regard to the CFM. The product fermented principally contains protein (67%) whose digestibility is superior to 85% and equivalently to that of the commercial flour. Though it contains 45% less fat, it was digested more ( $P < 0.01$ ) than the present in the CFM. Opposite case happens with the minerals, but though the digestibility is lower ( $P < 0.01$ ) in the FFM, the levels of these almost quadruple to the contents in the FFC. Results confirm that the fermented feathers flour by *Kocuria*, beside being principally an alternative source of protein for the birds, can be also nutritionally better taken advantage by these animals that the commercial one.

*Keywords:* *Kocuria rosea*, feathers, fermentation, adult roosters.

## INTRODUCCIÓN

Las plumas son un subproducto de la industria avícola con alto potencial para ser utilizado como materia prima para elaboración de alimentos balanceados debido a que están constituidas en un 90% por proteína (Moran *et al.*, 1966). Sin embargo, por ser queratina la proteína que las constituye, en su estado nativo presentan una digestibilidad muy baja y su utilización se ve limitada. La incorporación de la harina de plumas comercial (HPC) al sistema avícola como recurso alimenticio se realiza por los tratamientos físicos con calor y presenta deficiencias en cuanto a aminoácidos esenciales como la lisina, metionina e histidina (Grazziotin *et al.*, 2006).

Una alternativa para la utilización de este tipo de residuos consiste en la aplicación de procedimientos biotecnológicos que permiten la obtención de harina de plumas fermentadas por la bacteria *Kocuria rosea*. Este microorganismo ha sido reportado por su capacidad de excretar enzimas queratinolíticas utilizando las plumas como fuente de carbono y energía (Coello *et al.*, 2000). Estudios realizados para evaluar la calidad nutricional de esta harina de plumas fermentadas (HPF) como alimento para las aves han revelado el enriquecimiento y alta digestibilidad verdadera (mayor a 77%) de aminoácidos esenciales como lisina, metionina e histidina así como un aporte de pigmentos carotenoides (astaxantina y cantaxantina) por la bacteria respecto a la harina comercial (Bertsch *et al.*, 2003; Bertsch y Coello, 2005).

En este sentido, el presente trabajo tiene por objetivo comparar estos dos tipos de harinas (HPC y HPF), haciendo énfasis en las digestibilidades verdaderas de la materia seca, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo y densidad de las harinas evaluadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo consistió en una prueba de balance que se realizó en la Unidad Avícola Experimental del INIA, ubicada en la carretera intercomunal, vía Turmero, Aragua, Venezuela, ubicada a 450 msnm, con precipitaciones y temperaturas medias anuales que varían entre 800-900 mm y 25,5-26,5°C, respectivamente.

Esta prueba se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Sibbald (1976) con las modificaciones realizadas por Almeida y Baptista (1984), utilizando

40 gallos de la raza Rhode Island Red adaptados a los eventos de manejo que implica la prueba y colocados previo acostumbramiento en jaulas metálicas individuales con dimensiones de 43 x 47 x 26 cm de alto, profundidad y ancho, respectivamente. Estas jaulas estaban dotadas de un bebedero de copita y de una bandeja recolectora de heces, cuyas dimensiones eran ligeramente superiores a las de la jaula (35 x 55 cm) para asegurar una recolección efectiva de las heces.

Con el propósito de balancear los tratamientos por peso vivo de los gallos, estos fueron pesados y ubicados en 4 categorías de peso previamente establecidas. Posteriormente, utilizando un diseño experimental completamente aleatorizado se asignaron al azar y en iguales cantidades (10 gallos) a 4 grupos (3 tratamientos experimentales más el utilizado para las mediciones del endógeno), donde cada gallo representó una unidad experimental.

A pesar de que los tratamientos a evaluar fueron las harinas de pluma comercial y fermentada, debido a la naturaleza de éstas, el ensayo fue diseñado para obtener los valores de los índices digestivos de manera indirecta. Para tal fin, se empleó un grupo adicional de gallos que fueron alimentados con una dieta constituida por maíz y una mezcla de vitaminas y minerales. Por lo tanto, las dietas o tratamientos quedaron conformados como se muestra en el Cuadro 1.

La harina de pluma fermentada fue un producto obtenido mediante el uso de fermentaciones sumergidas utilizando la cepa no patógena *Kocuria rosea* (LPB-3), perteneciente al cepario del Laboratorio de Procesos Biotecnológicos del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela. El proceso de fermentación se realizó empleando un medio salino basal suplementado con plumas en 30 g/L por 48 h. El precultivo (5%) se realizó a 40°C y a 90 rpm durante 48 h en Erlenmeyers. Por su parte, el cultivo se llevó a cabo en un fermentador de 5 L de capacidad (volumen de trabajo, 3 L), controlado a 40°C, 156 rpm y un volumen de aire inyectado de 1,8 vvm. Una vez finalizado el caldo de cultivo fue filtrado para eliminar restos de plumas no degradados y el líquido remanente fue deshidratado en un secador de tambor (Bertsch *et al.*, 2003). La harina de plumas comercial fue donada por una empresa procesadora de subproductos avícolas.

Cuadro 1. Descripción de las dietas usadas en la prueba de balance.

Dieta	Componentes de las dietas			
	Maíz	HPF <sup>†</sup>	HPC	Vit-Min
	----- % -----			
1	99	0	0	1
2	49	50	0	1
3	49	0	50	1

<sup>†</sup>HPC: harina de pluma comercial, HPF: harina de pluma fermentada por *Kocuria rosea*. Vit-Min: vitaminas y minerales

Antes de iniciar el experimento, los gallos fueron sometidos a un ayuno de 48 h para garantizar el vaciado total del tracto digestivo. Posteriormente, mediante la técnica de alimentación forzada, cada gallo recibió 40 g de la dieta correspondientes a su tratamiento, mediante la ayuda de un embudo de acero inoxidable que se introdujo en la boca a través del esófago hasta alcanzar la entrada del buche. El grupo de gallos del endógeno permaneció sin alimentación para obtener los valores correspondientes a este grupo. Luego se colocó una bolsa de plástico a cada ave para la recolección de las heces, previamente pesada y adaptadas para ser fijadas a la cloaca de los gallos con ayuda de un arnés. Estas bolsas se mantuvieron en las aves durante 72 h. Al finalizar este periodo de recolección, las excretas fueron pesadas y secadas en estufa con circulación de aire a 60°C por 4 d. Seguidamente fueron molidas y conservadas para los análisis químicos respectivos.

Ambas harinas fueron analizadas en su contenido materia seca (MS), cenizas (Cen), extracto etéreo (EE) y proteína cruda (PC), de acuerdo a la metodología señalada por AOAC (1990), los cuales fueron utilizados para determinaciones que se describan abajo. La densidad es un indicativo que permite, de manera sencilla, evaluar el efecto del procesamiento sobre la harina y fue determinada pesando una cantidad de muestra de volumen conocido (Moritz y Latshaw, 2001).

Los contenidos de humedad y nitrógeno de las heces se determinaron empleando las metodologías indicadas anteriormente. En el caso de la digestibilidad de la proteína, las excretas fueron tratadas previamente para eliminar el ácido úrico (Terpstra y Hart, 1973). Una vez determinada la digestibilidad de las dietas empleadas en el ensayo, se procedió a calcular la

digestibilidad de cada una de las harinas mediante la siguiente expresión (base seca):

$$\text{Digestibilidad} = \frac{(\text{fracción digerida del trat., g}) - (\text{fracción digerida en maíz, g} + \text{vit-min}) \times 100}{\text{g de harina de plumas}}$$

$$\text{Trat.} = (\text{dietas de HPF ó HPC}) + \text{maíz} + \text{vit-min (Cuadro 1)}$$

Una vez obtenidos los valores de los índices digestivos de las mezclas, se determinaron por diferencia los valores correspondientes a las muestras puras de harinas de plumas fermentada y comercial.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza usando el procedimiento estadístico GLM (SAS, 1991). El análisis estadístico de los valores obtenidos para las fracciones analizadas se efectuó mediante la comparación de las medias aplicando el test de Student para un nivel de significancia de 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química de la HPF difirió significativamente ( $P < 0,05$ ) respecto a la comercial en las fracciones químicas evaluadas (Cuadro 2). La HPC usada en el presente estudio presentó valores superiores de humedad y grasa, posiblemente debido a la contaminación de la materia prima con otros desechos de la industria avícola tales como patas, cabezas, vísceras que afectan el contenido de proteína y su composición aminoacídica (Hollmeyer, 1994). La comparación de la densidad de las harinas reveló que la HPC ( $347 \text{ kg/m}^3$ ) presentó una densidad 10% superior a la de la HPF ( $312 \text{ kg/m}^3$ ), lo que sugiere que el procesamiento biotecnológico es menos severo debido a la ausencia de aplicación de altas temperaturas y presiones en el proceso, lo que pudiera implicar menos costos energéticos que el tradicional (Moritz y Latshaw, 2001).

Las digestibilidades verdaderas de las fracciones evaluadas, con excepción de la proteína, difirieron significativamente entre tratamientos ( $P < 0,01$ ; Cuadro 3). El producto fermentado contiene principalmente proteína cruda (67%) cuya digestibilidad se aproxima al 85% y es equivalente en términos estadísticos a la obtenida con la harina comercial. En cuanto al extracto etéreo, aunque la HPF contiene 45% menos grasa, por las razones expuestas anteriormente, su digestibilidad fue significativamente superior ( $P < 0,01$ ) a la presente en la harina comercial. Lo contrario ocurre para el caso de los minerales, donde la digestibilidad fue significativamente menor ( $P < 0,01$ ) en la HPF. No obstante, es importante señalar que los niveles de estos en la harina fermentada casi cuadruplican a los de la HPC. Los niveles superiores de los minerales en la HPF posiblemente están relacionados con el uso de sales minerales para la formulación del medio de cultivo.

Adicionalmente, si se considera que la HPF provenía de un caldo de fermentación que contenía el sustrato degradado y las células microbianas, el enriquecimiento proteico observado en esta harina provino del aporte de la biomasa microbiana que pasa a complementar el contenido químico del material

resultante (Bertsch y Coello, 2005; Bertsch *et al.*, 2003), lo que estaría contribuyendo a incrementar el valor nutricional de la harina fermentada respecto a la comercial.

## CONCLUSIÓN

El producto obtenido mediante el proceso biotecnológico presentó una digestibilidad proteica equivalente a la harina comercial y mostró un mejoramiento de la digestibilidad de la MS y EE. En términos generales, esta harina posiblemente sea nutricionalmente mejor aprovechada por las aves que la comercial. La harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* puede ser considerada como un ingrediente no convencional para la alimentación de las aves.

## AGRADECIMIENTO

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología, Proyecto S1-2001-000728 y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la UCV, Proyecto PI-01-37-5268-2007 por los fondos aportados. Al INIA por facilitar las instalaciones donde se realizó la experiencia, además de la asesoría brindada durante el desarrollo de la experiencia con los gallos.

Cuadro 2. Composición de las harinas de pluma fermentadas por *Kocuria rosea* (HPF) y comercial (HPC).

Fracción química, %	Tratamiento		tc†	tt
	HPC	HPF		
Materia seca	86,2 ± 0,05	93,8 ± 0,07	177	2,45
Proteína cruda	70,0 ± 1,13	67,0 ± 0,26	5,2	
Extracto etéreo	8,4 ± 0,21	5,0 ± 0,19	27	
Cenizas	4,2 ± 0,06	16,0 ± 0,12	171	

† tc = valor de t de Student calculado, tt = valor de t de Student tabulado

Cuadro 3. Digestibilidad verdadera de las distintas fracciones evaluadas en las harinas de plumas fermentadas (HPF) y comercial (HPC).

Digestibilidad, %	Tratamientos		Pr>F
	HPC	HPF	
Materia seca	66,3 ± 0,08	85,0 ± 0,07	<0,001
Proteína cruda	84,4 ± 0,07	87,8 ± 0,10	0,443
Cenizas	71,0 ± 0,20	48,9 ± 0,06	<0,005
Extracto etéreo	72,0 ± 0,07	92,9 ± 0,04	<0,001

## LITERATURA CITADA

- Almeida J. y E. Baptista E. 1984. A new approach to the quantitative collection of excreta from birds in a true metabolizable energy bioassay. *Poultry Sci.*, 63: 2501-2503.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed. Washington, EUA..
- Bertsch A., R. Alvarez y N. Coello. 2003. Evaluación de la calidad nutricional de la harina de plumas fermentadas por *Kocuria rosea* como fuente alternativa de proteínas en la alimentación de aves. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 13(2): 139-145.
- Bertsch A. y N. Coello. 2005. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. *Biores. Tech.*, 96(15): 1703-1708.
- Coello N., L. Vidal y A. Bretaña. 2000. Aislamiento de una cepa de *Kocuria rosea* degradadora de plumas de aves de corral. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 10(2): 107-113.
- Grazziotin A, F.A. Pimentel, E.V. De Jong y A. Brandelli. 2006. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 126: 135-144.
- Hollmeyer R. 1994. Subproductos avícolas. *Industria Avícola*, Oct.: 14-18.
- Moran E., S.J. Summer y S. Slinger. 1966. Keratin a source of protein for the growing chick. I. Amino acid imbalance as the cause for inferior performance of feather meal. *Poultry Sci.*, 45: 1257-1266.
- Moritz J. y J. Latshaw. 2001. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal. *Poultry Sci.*, 80: 79-86.
- SAS. 1991. SAS for linear models. a guide to the ANOVA and GLM procedures. SAS Institute. Cary, EUA.
- Sibbald I. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. *Poultry Sci.*, 55: 303-308.
- Terpstra K. y N. Hart. 1973. The estimation of urinary nitrogen and fecal nitrogen in poultry excreta. *Z. Tierphysiol. Tiernähr. U. Futtermittelkde*, 32: 306-320.



## Evaluación de la fertilidad y eclosión en la codorniz japonesa

Rafael Galíndez\*, Vasco De Basilio, Gonzalo Martínez,  
Daniel Vargas, Edwin Uztariz y Patricia Mejía

Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Instituto de Producción Animal. Apartado Postal 4579. Maracay, Aragua. Venezuela. \*Correo electrónico: galindez70@yahoo.com

---

### RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto de algunos factores no genéticos sobre la fertilidad y eclosión de huevos de codornices (*Coturnix coturnix japonica*) sometidas a diferentes modalidades de apareamiento, se realizaron tres análisis de varianza asumiendo una distribución binomial de los datos. Se utilizaron 2.613 registros para fertilidad (FER), 2.178 para eclosión de huevos totales (EHT) y 1.403 para eclosión de huevos fértiles (EHF) provenientes de codornices experimentales. Se incluyeron los efectos mes de postura, generación y tipo de apareamiento para FER y para EHT y EHF se adicionaron el peso del huevo, color y brillo de la cáscara. Se ofreció agua y alimento *ad libitum*. La relación macho: hembra fue 1:3. El sistema de reproducción comprendió dos modalidades: rotativo y continuo. Se encontraron promedios de 78,7 25,8 y 42,3% para FER, EHT y EHF, respectivamente. El mes de mayor ( $P<0,01$ ) fertilidad fue marzo (91,1%), mientras que el menor mes fue noviembre (51,7%). La mayor eclosión ( $P<0,01$ ) ocurrió en agosto (42,6 y 65,7%) y la menor se observó en abril (12,5 y 17,9%) para EHT y EHF, respectivamente. Hubo mayor fertilidad ( $P<0,01$  86,2%) en los huevos provenientes de apareamientos continuos. Los huevos que presentaron mayor porcentaje de eclosión ( $P<0,01$ ) fueron aquellos de cáscara brillante (43,9%), color oscuro (48,0%) y pesos intermedios (10,1 a 11,0 g; 44,0%). Se concluye que los huevos de color oscuro, cáscara brillante y peso intermedio, puestos en meses lluviosos y almacenados por menos de 8 días presentan ventajas en la incubación. Asimismo, en sistemas donde no es necesario el apareamiento rotativo se recomienda usar el apareamiento continuo.

*Palabras clave:* eclosión, incubación, *Coturnix coturnix japonica*, sistema de apareamiento, color de cáscara, brillo de cáscara.

---

### Evaluation of the fertility and hatchability in Japanese quails

#### ABSTRACT

With the aim to study the effect of some non genetic factors on fertility and hatchability of quails (*Coturnix coturnix japonica*) under two different reproduction systems (modalities of matching), three analyses of variance were realized assuming a binomial distribution of the data. There were used 2613 records for fertility (FE), 2178 for total hatchability (TH), and 1413 for fertile hatchability (FH) from a group of experimental quails. The effects of month of lay, generation, and type of matching were included for FE and for TH and FH were added egg weight, eggshell color and sheen. Water and food were offered *ad libitum*. The relation male: female was 1:3. Two modalities of reproduction were studied: rotary (rotating the male) and continuous (permanent presence of the male). Fertility, TH and FH averages were 78.7, 25.8, and 42.3%, respectively. The month of higher ( $P<0.01$ ) fertility was March (91.1%), whereas November had the lowest (51.7%). The higher TH and FH ( $P<0.01$ ) was in August (42.6 and 65.7%) and the lower TH and FH were observed in April (12.5 and 17.9%). There was higher fertility ( $P<0.01$ , 86.2%) in the eggs from continuous reproduction system. Eggs with higher TH ( $P<0.01$ ) were those of brilliant eggshell (43.9%), dark color eggshell (48.0%) and intermediate weight (10.1 to 11.0 g; 44.0%). It can be concluded that the eggs of dark color, brilliant eggshell, and intermediate weight laid in the rainy months

had better properties for the process of incubation. Likewise, in farms where the rotary matching is not necessary, it is advisable to use the continuous reproduction system.

*Keywords:* hatchability, incubation, *Coturnix coturnix japonica*, reproduction system, eggshell color, eggshell sheen.

## INTRODUCCIÓN

Pocos estudios se han realizado en Venezuela para determinar las potencialidades de las codornices y los factores que se deben considerar en el manejo integral de las granjas. En este sentido, se hace necesario recalcar la importancia que la fertilidad juega dentro de estos sistemas, particularmente en aquellas granjas de reproductoras, cuyo fin pasa por la producción de animales que irán posteriormente a la venta ó a producir huevos para el consumo humano. En estos sistemas es imprescindible obtener la mayor fertilidad posible, la cual a la postre redundará en un mayor porcentaje de eclosión (Kuurman *et al.*, 2002). La expresión de la fertilidad, mortalidad y eclosión en las especies de aves domésticas tiene que ver con la carga genética de los animales y algunos factores ambientales que actúan independientes o en combinación para producir la respuesta reproductiva de estos (Kuurman *et al.*, 2003). La forma y época de apareamiento, tiempo de almacenamiento de los huevos, peso del huevo, color y brillo de la cáscara son parámetros simples de tomar en cuenta para la mejora de la reproducción, pero en los sistemas de producción de codornices en Venezuela son poco estudiados y conocidos. El presente trabajo tiene como objetivo determinar la influencia del mes de postura, generación, tipo de apareamiento, peso del huevo, color y brillo de la cáscara sobre la fertilidad y eclosión de huevos de codornices.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 2.613 registros de fertilidad, 2.178 para eclosión total y 1.403 para eclosión de huevos fértiles provenientes de experiencias realizadas en la Sección Laboratorio de Aves de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV), la cual está ubicada en el Municipio Mario Briceño Iragorry del estado Aragua, a una altitud de 452 msnm. El área en estudio posee una temperatura promedio anual de 25,1°C y una humedad relativa de 78,3%. Los huevos provenían de cuatro granjas de los estados Aragua y Yaracuy, los cuales se incubaron y se

produjeron dos generaciones. Los animales resultantes de estas incubaciones se criaron y reprodujeron en la UCV, incubándose los huevos resultantes de los apareamientos de estos animales.

Las variables evaluadas fueron huevos fértiles (%) y eclosión (%). Luego de ocurrir la eclosión se abrieron los huevos no eclosionados, de manera de apreciar la fertilidad de los mismos. Se consideraron huevos fértiles (además de aquellos que culminaron en la eclosión del polluelo) a los que presentaron embriones muertos (muerte en fase inicial o desarrollo temprano) y muertes en cascarón (muerte en fase final). De esta manera, la fertilidad se calculó como se describe a continuación:

$$\text{Fertilidad (\%)} = \left( \frac{\text{Núm. de huevos fértiles}}{\text{total de huevos}} \right) * 100$$

La eclosión se calculó de dos maneras:

$$\text{Eclosión total (\%)} = \left( \frac{\text{Núm. de eclosionados}}{\text{total de huevos}} \right) * 100$$

$$\text{Eclosión fértiles (\%)} = \left( \frac{\text{Núm. de eclosionados}}{\text{huevos fértiles}} \right) * 100$$

Luego de la cría, los animales adultos (aproximadamente cuatro semanas de edad) se ubicaron en jaulas de alambre galvanizado con las siguientes dimensiones: 50 x 50 x 20 cm de largo, ancho y alto, respectivamente, para los animales en apareamiento continuo y 50 x 12,5 x 20 cm largo, ancho y alto, respectivamente, para los animales en apareamiento rotativo. Dichas jaulas fueron ubicadas en galpones con estructura de madera, cerrados con tela metálica en los laterales, techo de zinc y piso de cemento. A las aves en postura se ofreció un alimento comercial que contenía 15% de proteína y agua ad libitum. La relación macho:hembra en reproducción

fue 1:3. El sistema de reproducción comprendió dos modalidades: rotativo, es decir, se colocaba al macho un día completo con cada hembra asignada, otorgándosele un día de descanso (cuarto día) entre cada ciclo reproductivo y continuo, en este caso el macho permanecía todo el tiempo en la misma jaula con las tres hembras. Durante el período de evaluación se registro la postura diaria (fechas) y el consumo de alimento (semanal). Diariamente los huevos fueron recogidos en la mañana y almacenados en un cuarto provisto con un equipo acondicionador de aire. La temperatura promedio en el cuarto de almacenamiento fue  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los huevos fueron incubados en un equipo marca Robinsón con capacidad para 3.900 huevos de gallina, a la cual se le realizó una adaptación en las bandejas para poder separar los huevos y obtener registros individuales de eclosión. En este sentido, las bandejas se subdividieron en pequeños recuadros con dimensiones de 5 x 6 cm. Al momento de la incubación se anotó el peso de cada huevo, el brillo y color de la cáscara, la fecha de incubación y el tiempo de almacenamiento. La temperatura promedio de incubación fue  $36,5 - 37,5^\circ\text{C}$  y la humedad relativa entre 65 y 75%.

Se realizaron incubaciones en los meses de marzo, abril, mayo, junio, agosto, noviembre y diciembre. Durante el período de postura, se aplicó un programa de iluminación artificial que consistió en ofrecer 5 h de luz adicionales, el cual se aplicó entre las 2 y las 7 am. Las evaluaciones se realizaron durante tres generaciones, a saber padres, primera y segunda generación.

Se realizaron análisis de varianza asumiendo una distribución binomial en vista de que las variables estudiadas fueron registradas como 0 y 1 (Littell *et al.*, 2002). Para detectar las diferencias entre medias se utilizó la prueba de t de Student. El modelo utilizado se describe a continuación:

$$Y_{ijkl} = \mu + Mp_i + Gen_j + Apa_k + e_{ijkl}$$

donde:

$Y_{ijkl}$  : fertilidad de los huevos puestos en el mes  $i$ , provenientes de hembras de la generación  $j$ , sometidas a un tipo de apareamiento  $k$ ,

$\mu$  = media teórica de la población,

$Mp_i$  = mes de postura ( $i = 3, 4, 5, 6, 8, 11$  y  $12$ ),

$Gen_j$  = generación ( $j = 1, 2, 3$ ),

$Apa_k$  = tipo de apareamiento ( $k = 1, 2$ ) y

$e_{ijkl}$  = residual con media (np) y varianza (npq), binomialmente distribuido.

Los modelos para eclosión de los huevos fértiles y totales son similares al modelo descrito para fertilidad, adicionándose el efecto del peso del huevo. Los huevos se agruparon por peso en tres categorías: entre 5,0 y 10,0 g, entre 10,1 y 11,0 g y 11.1 g ó más. También se incluyeron los efectos de brillo y color de la cáscara. El brillo de la cáscara se clasificó en dos categorías, brillante y mate. Para el color de la cáscara se consideró la tonalidad de fondo y la presencia de manchas, clasificándose los mismos en tres categorías: claro (ausencia o muy poca pigmentación), medio (fondo claro con pocas manchas presentes) y oscuro (fondo más oscuro con abundantes manchas presentes, Figura 1). De igual manera, se incluyó el efecto del tiempo de almacenamiento; en este sentido, los huevos se agruparon de acuerdo a los siguientes criterios: entre cero y dos días de almacenamiento, entre tres y cinco días, entre seis y ocho días y entre nueve y quince días de almacenamiento. Asimismo los efectos de generación y tipo de apareamiento se excluyeron de los análisis para eclosión.

Los promedios y sus errores estándar asintóticos para ambos caracteres se calcularon utilizando las fórmulas siguientes (Littell *et al.*, 2002):

$$\text{Promedio} = \frac{\exp^{(\text{estimado})}}{1 + \exp^{(\text{estimado})}}$$

Error estándar asintótico = promedio x (1 - promedio) x (error estándar del estimado).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Fertilidad

El promedio ajustado correspondió a 78,72% con un error estándar de 1,32%. Los promedios encontrados en el presente estudio fueron superiores en 17% a los señalados en la literatura por Martínez (1990). Sin embargo, estos promedios están entre 2 y 12 puntos por debajo de los promedios reportados por Lucotte (1990), Espidea (1995), Morantes (1995), Quintana (1999), Lembcke *et al.* (2001), Mejia (2005) y Ravel (2006). Es evidente que pautas de manejo y las diferencias en el material genético entre una y otra

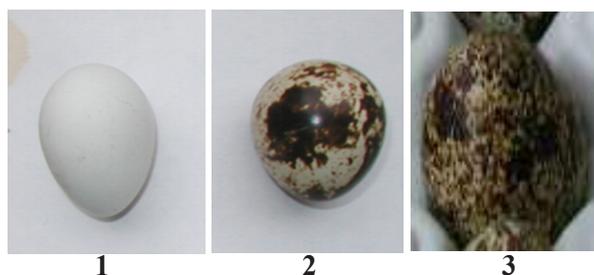


Figura 1. Brillo y coloración de la cáscara de huevos de codorniz. Leyenda: 1: Cáscara mate de color claro; 2: Cáscara brillante de color medio; 3: Cáscara brillante de color oscuro.

investigación pudieran estar introduciendo variación en los resultados. Esta aseveración fue hecha con anterioridad por Martínez (1990), quien señaló que la baja calidad genética de las poblaciones de codornices presentes en la zona central de Venezuela pueda ser la causa de los bajos niveles de fertilidad observados. La baja calidad genética de los animales probablemente sea consecuencia de la ausencia de granjas especializadas en reproducción en el país, sumado al hecho de que cada granja productora de huevos incubaba algunos de estos para obtener reposición y para la venta, sin seguir estrictos programas de reproducción y selección. Los análisis reflejaron efecto significativo ( $P < 0,01$ ) del mes de postura, generación y tipo de apareamiento. Los meses de mayor fertilidad corresponden a marzo, mayo y junio, en los cuales el porcentaje de fecundidad fue superior al 90% (Cuadro 1).

Abril, agosto y diciembre fueron meses intermedios respecto al carácter estudiado, con valores que oscilaron entre 79 y 84%, mientras que el peor mes fue noviembre, donde el porcentaje de huevos fértiles se ubicó en 51%.

Se evidencia una disminución de la fertilidad en el mes de mayor temperatura ambiental y menor humedad relativa (Abril, Cuadro 1), lo cual coincide con el reporte de Ozbey y Ozelik (2004). Probablemente la causa de la menor fertilidad tiene que ver con una reducción del consumo de alimento por las causas ambientales anteriormente mencionadas, que redundan negativamente sobre la reproducción. Asimismo, se nota una disminución drástica de la fecundidad en el mes de noviembre, probablemente motivada por aumentos excesivos de la humedad relativa durante estos meses, situación que se expresa en una menor actividad sexual de los machos y, por ende, desencadena en reducción de la fertilidad de los huevos incubados. Esta relación entre condiciones

ambientales (temperatura y humedad relativa) fue señalada por Lucotte (1990) y Vargas (2005) como un punto crucial a considerar en los sistemas de producción con codornices.

El mayor porcentaje de fertilidad ( $P < 0,01$ ) se obtuvo en la generación inicial (generación 0, Cuadro 1) con un valor de 97%, seguido por la generación dos con un valor de 72% y el menor porcentaje de fertilidad corresponde a la generación uno, con un valor de 63%. Es necesario mencionar que en esta población la selección sólo se ha basado en aspectos morfológicos: ausencia de defectos anatómicos, enfermedades detriminales hereditarias, entre otros. A la par se continúa la fase evaluativa que comprende la determinación de los parámetros genéticos para los caracteres de interés económico, que a la postre, servirán como indicativo para diseñar los planes de mejoramiento genético (selección y cruzamiento). Vale la pena decir que es muy probable que la generación enmascare algunos problemas de manejo que pudieran estar reduciendo la fertilidad tanto en machos como en hembras, siendo este el caso de la primera generación. Empero, esa reducción es recuperada con el aumento de la fecundidad observado en la segunda generación. Ravel (2006) observó un comportamiento similar. En este caso, existe una disminución clara de la fertilidad a medida que pasan las generaciones, atribuyéndose este efecto, según el autor, a un aumento de la edad de los reproductores enmascarado dentro de la generación.

Se obtuvo la mayor fertilidad en los animales sometidos a apareamientos continuos (Cuadro 1). Para este caso particular, en promedio, los huevos provenientes de hembras que están continuamente con el macho fueron 6% ( $P < 0,01$ ) más fértiles que sus homólogos provenientes de hembras sometidas al sistema de apareamiento rotacional. Este resultado

Cuadro 1. Promedios y sus errores estándar asintóticos de fertilidad para mes de postura, generación y tipo de apareamiento.

Factor	N†	Fertilidad %	ee
<u>Mes de Postura</u>			
Marzo	410	91,13a‡	1,17
Abril	439	79,10b	2,09
Mayo	442	90,09a	1,26
Junio	183	90,75a	1,64
Agosto	341	84,31b	2,18
Noviembre	565	51,67c	3,65
Diciembre	233	82,65b	2,41
<u>Generación</u>			
0	395	96,91a	0,65
1	1532	63,20c	2,19
2	686	71,56b	1,98
<u>Tipo de Apareamiento</u>			
Rotativo	2185	80,85b	1,23
Continuo	428	86,22a	1,75

† Número de registros.

‡ Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre promedios ( $P < 0,01$ ).

es similar al reporte de Mejía (2005) quién observó diferencias de hasta 7% de fertilidad a favor de los huevos provenientes de apareamientos continuos. Es probable que el apareamiento continuo del macho con las distintas hembras asegure la mayor fertilidad de los huevos provenientes de este sistema. Caso contrario en el sistema rotatorio, en el cual muchos de los apareamientos quizás no sean efectivos debido al estrés causado a los animales al retirar el macho de la jaula y colocarlo en una jaula con otra hembra. En todo caso, la utilización de uno u otro sistema de apareamiento dependerá de los objetivos de la unidad productiva. Para los fines de esta investigación, aún cuando el sistema de apareamiento rotacional resultó en menor fertilidad, se justifica este manejo reproductivo, pues el objetivo final es el mejoramiento genético de la población, objetivo que necesariamente requiere de la identificación individual y precisa de los machos y hembras en reproducción y, por supuesto, de sus hijos (as).

### Eclosión

Se obtuvieron promedios de eclosión total y de huevos fértiles de 25,8 y 42,3%, con errores estándar de 2,0 y 2,2%, respectivamente. El promedio de eclosión para huevos fértiles fue inferior a los reportes de Ortega (1994) y Espidea (1995), pero superior al señalado por Mejía (2005), Uztariz (2005) y Ravel (2006). Es necesario mencionar que dichas diferencias pueden tener causas diversas, las cuales se refieren no sólo a la temperatura, humedad y movimiento de los huevos, sino que se debe adicionar el tiempo de almacenamiento de los huevos, las condiciones de almacenamiento y el peso del huevo. Estas condiciones pueden variar entre una investigación y otra, siendo fuentes silentes y no identificadas de variación (Hassam *et al.*, 2005).

El Cuadro 2 muestra los valores de eclosión de los huevos totales y fértiles, de acuerdo al mes de postura. En el mismo se observa la superioridad en los valores de eclosión en ambos casos para el mes de agosto,

Cuadro 2. Promedios de eclosión de huevos totales y fértiles para mes de postura, brillo, color de la cáscara y peso del huevo.

Factor	N <sup>†</sup>	Eclosión		
		Total %	N %	
<u>Mes de postura</u>				
Marzo	422	23,87bc <sup>‡</sup>	268	31,05c
Abril	432	12,49d	275	17,89d
Mayo	442	32,32b	270	43,01b
Junio	183	31,62b	110	42,61b
Agosto	357	42,61a	236	65,70a
Noviembre	342	19,78c	244	47,00b
<u>Brillo de la cáscara</u>				
Brillante	-	-	896	43,89a
Mate	-	-	507	36,71b
<u>Color de la cáscara</u>				
Claro	-	-	135	31,34b
Medio	-	-	1015	42,02a
Oscuro	-	-	253	48,02a
<u>Peso del huevo, g</u>				
5,0 – 10,0	771	20,61b	563	34,73b
10,1 – 11,0	836	27,88a	601	44,02a
≥ 11,1	571	29,74a	239	42,24a

† Número de registros.

‡ Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas entre promedios ( $P < 0,01$ ).

el cual correspondió a 42,6 y 65,7%, respectivamente ( $P < 0,01$ ). Asimismo, en ambos casos el mes que presentó la menor eclosión fue abril ( $P < 0,01$ ), con valores de 12,5 y 17,9% para la eclosión total y de los huevos fértiles, respectivamente. Resultados disímiles son reportados por Baratta (1993).

Al igual que para el caso de fertilidad, tanto abril como noviembre presentaron los menores valores de eclosión total (Cuadros 1 y 2), observándose una correspondencia de los meses en ambas características. Tal y como se señaló con anterioridad, la dificultad para controlar las condiciones internas durante la incubación puede estar influenciando los resultados obtenidos en meses críticos.

De esta manera se expresa la reducción en el mes de abril, cuando las temperaturas son elevadas

durante el día y ocurren reducciones drásticas en ésta variable ambiental en horas nocturnas. Situación similar fue observada en el mes de noviembre, cuando la humedad relativa, tanto ambiental como dentro de la incubadora fue elevada, ocasionando un funcionamiento inadecuado de la misma, lo que condujo a una disminución de la eclosión. Por otra parte, es menester mencionar que tanto en abril como en noviembre se obtuvieron los menores valores de fertilidad, lo que pudiera estar influenciando el resultado de eclosión total, puesto que es probable que se estén incubando muchos huevos, los cuales no son fértiles.

Los huevos de cáscara brillante eclosionaron 7% más ( $P < 0,05$ ) que los huevos de cáscara mate (Cuadro 2). Resultados similares han sido reportados por Quintana (1999). Es posible que los huevos

brillantes mantengan un menor intercambio gaseoso y de humedad con el medio ambiente que los huevos mate, debido a la presencia de la película protectora que los recubre. En consecuencia, en estos huevos se conserva una mejor integridad del albumen, que ha sido señalado como un mejor equilibrio ácido – base de este, situación que resulta en la sobrevivencia del embrión, y por ende, en la eclosión (Reis *et al.*, 1997; Lapao *et al.*, 1999).

Dentro de la categoría del color de la cáscara del huevo, los resultados reflejan ventaja en eclosión ( $P < 0,01$ ) de los huevos cuya cáscara tiene mayor cantidad de manchas y éstas son de mayor tamaño (huevos oscuros, Cuadro 2). Estos huevos mostraron 48% de eclosión, mientras que en segundo lugar se ubicaron los que poseen manchas intermedias sobre fondo claro (medio) con 42% de eclosión y los que menos eclosionaron (31%) fueron aquellos cuya cáscara poseía escasas manchas (claros). Investigaciones realizadas con anterioridad (Lucotte, 1990; Quintana, 1999) señalan la superioridad en eclosión de los huevos con mayor número de manchas, atribuyéndose este efecto a que los huevos con mayor número de manchas permanecen por más tiempo en el tracto reproductivo de la hembra, aumentando la protección de este (mayor grosor y cantidad de cutina sobre los poros) contra los agentes patógenos que pudieran interferir con el desarrollo embrionario.

Para el caso particular del peso, los huevos que más eclosionaron ( $P < 0,01$ ) fueron aquellos cuyo peso osciló entre 10,1 y 11,0 g (44%) y en segundo lugar los huevos que pesaron más de 11,1 g, siendo los huevos más livianos (5,0 - 10 g) los que menos eclosionaron (Cuadro 2). Estos resultados coinciden con el reporte de Lucotte (1990) quién evidenció mayores porcentajes de eclosión en los huevos de peso intermedio (alrededor de 10 g). Una explicación probable se basa en el hecho de que los huevos de peso intermedio poseen una alta capacidad de intercambio de agua y gases con el medio ambiente, debido a la presencia de un mayor número de poros en la cáscara (González *et al.*, 1999). Este intercambio con el medio ambiente ha sido relacionado directamente con una mayor calidad del albumen, lo cual asegura la sobrevivencia del embrión (Reis *et al.*, 1997; Lapao *et al.*, 1999). Asimismo, se ha señalado que los huevos grandes tienen menos poros, lo que dificulta el intercambio de gases y agua con el medio ambiente que rodea al huevo; con la consecuente reducción de

la pérdida de peso del huevo y reducción en la calidad del albumen que conduce a la muerte del embrión (Hassan *et al.*, 2005).

La Figura 2 muestra los valores de eclosión de huevos totales y fértiles de acuerdo al tiempo de almacenamiento de los mismos antes de la eclosión. Claramente se observa un descenso de los porcentajes de eclosión en ambos casos a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento. La mejor respuesta ( $P < 0,01$ ) se obtuvo con un tiempo de almacenamiento de hasta dos días (37,0 y 55,2% para eclosión de huevos totales y fértiles, respectivamente), para luego producirse un descenso gradual en los porcentajes de eclosión hasta el tercer período (6 – 8 días), luego del cual ocurre una disminución drástica de la eclosión (hasta 20%) en el último período que incluye huevos almacenados entre 9 y 15 días.

Los resultados coinciden con los reportes de González *et al.* (1999), Fasenko *et al.* (2001a,b), Kuurman *et al.* (2002), Hassan *et al.* (2005) y Uztariz (2005). Quizás la causa del comportamiento observado tenga que ver con el deterioro de las condiciones internas del huevo, principalmente pérdida de humedad y aumento del pH al aumentar los días de almacenamiento, lo cual conduce a la licuefacción del albumen, perdiendo este su capacidad antimicrobial. También se ha señalado que el albumen posee una función importante para mantener la posición correcta del huevo, interactuando con las membranas internas del huevo, estableciéndose la teoría de que el tiempo de almacenamiento del huevo reduce las posibilidades de una eclosión efectiva, al aumentar las posibilidades de muerte del embrión por las causas antes descritas (Brake *et al.*, 1997).

## CONCLUSIONES

No se observó una tendencia marcada de fertilidad respecto a los meses estudiados; sin embargo, se evidencia una época superior para incubación, debido a que los huevos puestos entre mayo y agosto para ser incubados presentaron el mayor porcentaje de fertilidad y eclosión. Asimismo, cuando el sistema no requiera la identificación individual de los reproductores y sus hijos es aconsejable implementar el apareamiento continuo, puesto que la fertilidad es superior. Por otra parte, los huevos a ser incubados deben ser de tamaño intermedio (10,0 – 11,0 g), de cáscara brillante, de coloración oscura y no deben ser

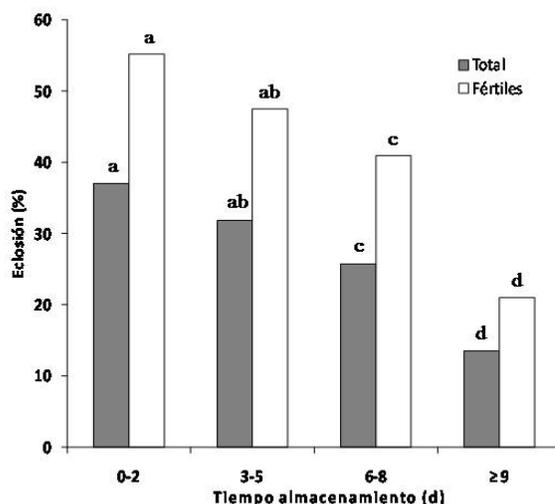


Figura 2. Eclósión de huevos de codorniz almacenados hasta 15 días.

almacenados para su posterior incubación por más de ocho días, para de esta manera asegurar un mayor porcentaje de eclósión.

#### LITERATURA CITADA

- Baratta C. 1993. Estudio del comportamiento reproductivo de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*) variedad Tesson en el estado Aragua. Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Brake J., T. Walsh, C. Benton, J. Petite, R. Meijerhof y G. Peñalva. 1997. Egg handling and storage. *Poultry Sci.*, 76: 144 - 151.
- Espidea L. 1995. Efectos de la inclusión de la palma Africana (*Elais guineensis*) a tres niveles en la dieta sobre el comportamiento productivo y reproductivo de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*). Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Fasenko G., M. Christensen, M. Wineland y J. Petite. 2001a. Examining the effects of prestorage incubation of turkey breeder eggs on embryonic development and hatchability of eggs stored for four or fourteen days. *Poultry Sci.*, 80: 132–138.
- Fasenko G., M. Robinson, A. Whelan, K. Kremeniuk y J. Walker. 2001b. Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs. 1. Effects on hatchability. *Poultry Sci.*, 80: 1406–1411.
- González A., D. Satterlee, F. Moharer y G. Cadd. 1999. Factors affecting ostrich egg hatchability. *Poultry Sci.*, 78: 1257 – 1262.
- Hassan S., A. Siam, M. Mady y A. Cartwright. 2005. Egg storage period and weight effects on hatchability of ostrich (*Struthio camelus*) eggs. *Poultry Sci.*, 84: 1908–1912.
- Kuurman W., B. Bailey, W. Koops y M. Grossman. 2002. Influence of storage days on the distribution for time of embryonic mortality during incubation. *Poultry Sci.*, 81: 1 – 8.
- Kuurman W., B. Bailey, W. Koops y M. Grossman. 2003. A model for failure of a chicken embryo to survive incubation. *Poultry Sci.*, 82: 214- 222.
- Lapao C., L. Gama y M. Chaveiro. 1999. Effects of broiler breeder age and length of egg storage characteristics and hatchability. *Poultry Sci.*, 78: 640 – 645.
- Lembcke C., E. Figueroa, P. Sulca y N. Falcón. 2001. Efecto de la edad de las reproductoras sobre el peso del huevo, incubabilidad y peso al nacer

- de la codorniz, variedad japonesa (*Coturnix japonica*). Rev. Inv. Vet. Perú 12(1). [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/veterinaria/v12\\_n1/efec\\_edad\\_reproduc.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/veterinaria/v12_n1/efec_edad_reproduc.htm). [Enero 2007].
- Littell R., W. Stroup y R. Freund. 2002. SAS for Linear Models. 4<sup>a</sup> ed. SAS Institute Inc. Cary, EUA..
- Lucotte G. 1990. La Codorniz, Cría y Explotación. 2<sup>da</sup> ed. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid, España.
- Martínez C. 1990. Evaluación del potencial productivo de la codorniz (*Coturnix coturnix*) existente en granjas comerciales del estado Aragua. Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Mejía P. 2005. Comparación de dos métodos de apareamiento utilizados en la cría de codorniz japónica (*Coturnix coturnix japonica*). Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Morantes M. 1995. Efecto del uso del aceite crudo de palma Africana (*Elais guineensis*) sobre el comportamiento productivo, contenido de colesterol sanguíneo y lípidos corporales totales de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*). Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Ortega A. 1994. Efecto de la incorporación de *Cannavalia ensiformis* tostada sobre el comportamiento productivo y reproductivo de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*). Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Ozbey O. y M. Ozcelik. 2004. The effect of high environmental temperature on growth performance of Japanese quails with different body weights. Int. J. Poultry Sci., 3(7): 468 – 470.
- Quintana J. 1999. Avitécnia. Manejo de las Aves Domésticas más Comunes. Editorial Trillas. Ciudad de México, México.
- Ravel P. 2006. Diagnóstico de las características productivas y reproductivas de la codorniz (*Coturnix coturnix japonica*) en la zona central de Venezuela. Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Reis L., L. Gama y M. Chaveiro. 1997. Effects of short storage conditions and broiler breeder age on hatchability, hatching time, and chick weights. Poultry Sci., 76: 1459 – 1466.
- Uztariz E. 2005. Evaluación física de huevos fértiles de codorniz (*Coturnix coturnix japonica*) en Venezuela. Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Vargas D. 2005. Factores ambientales que afectan la edad al primer huevo y conversión de alimentos en codornices (*Coturnix coturnix japonica*). Tesis Ing. Agr. Fac. Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.



## **Alteraciones en la integridad del acrosoma y de la teca perinuclear en semen criopreservado de verraco**

Manuel Barrientos Morales<sup>1,2</sup>, María De L. Juárez Mosqueda<sup>2</sup>,  
María E. Trujillo Ortega<sup>3</sup> y Felipe Montiel Palacios<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Circunvalación S/N Esq. Yañez, C.P. 91710, Veracruz, Veracruz. México. \*Correo electrónico: fmontiel@uv.mx

<sup>2</sup> Departamento de Morfología y <sup>3</sup> Departamento de Producción Animal - Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Cd. Universitaria, C.P. 04510, México D.F. México.

---

### **RESUMEN**

El objetivo del estudio fue investigar el efecto de la criopreservación sobre la integridad del acrosoma y de la subestructura de la teca perinuclear (PTS) del espermatozoide de verraco. Se utilizó semen proveniente de seis verracos. El semen se colectó, se diluyó y se determinó la motilidad y concentración espermática, incluyendo en el estudio sólo los eyaculados con motilidad  $\geq 70\%$ . El semen diluido se dividió en dos muestras: una para evaluarse en fresco y otra para evaluarse después de la congelación-descongelación. Ambos tipos de muestras se utilizaron para evaluar la viabilidad espermática y la integridad del acrosoma mediante microscopía de luz usando la técnica de triple tinción y para evaluar la integridad de la PTS mediante microscopía electrónica. El semen congelado-descongelado tuvo mayor proporción ( $P < 0,05$ ) de espermatozoides vivos con reacción acrosomal, comparado con el semen fresco. El proceso de congelamiento-descongelamiento redujo ( $P < 0,05$ ) la proporción de espermatozoides con PTS intacta. El valor de espermatozoides con reacción acrosomal se correlacionó con la proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente, tanto en semen fresco ( $r = 0,93$ ;  $P < 0,05$ ) como en semen congelado-descongelado ( $r = 0,71$ ;  $P < 0,05$ ). En conclusión, el semen criopreservado de verraco presentó alteraciones en la integridad del acrosoma y de la PTS que pudieron ser debidas al fenómeno de criocapacitación.

*Palabras clave:* criopreservación, espermatozoide de verraco, reacción acrosomal, teca perinuclear.

---

### **Alterations in the integrity of the acrosome and perinuclear theca in cryopreserved boar spermatozoa**

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to investigate the effect of cryopreservation on the integrity of the acrosome and the perinuclear theca substructure (PTS) of boar spermatozoa. Semen from six boars was used. The semen was collected, diluted, and sperm motility and concentration determined. Only ejaculates showing  $\geq 70\%$  motility were used in this study. Diluted semen was divided in two samples: one to be evaluated fresh, and other to be evaluated after freezing-thawing. Fresh and frozen-thawed semen samples were used to assess sperm viability and acrosome integrity by light microscopy using the triple staining technique and to evaluate the PTS integrity by electron microscopy. The frozen-thawed semen had a greater proportion ( $P < 0.05$ ) of acrosome reacted live spermatozoa, compared to the fresh semen. The freezing-thawing process reduced ( $P < 0.05$ ) the proportion of intact PTS spermatozoa. The value of acrosome reacted spermatozoa was correlated with the proportion of spermatozoa with altered or absent PTS, both in fresh ( $r = 0.93$ ;  $P < 0.05$ ) and in frozen-thawed ( $r = 0.71$ ;  $P < 0.05$ ) semen. In conclusion, cryopreserved boar semen showed some alterations in the integrity of the acrosome and the PTS that might be due to cryocapacitation.

*Keywords:* acrosome reaction, boar spermatozoa, cryopreservation, perinuclear theca

## INTRODUCCIÓN

La criopreservación daña la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa del espermatozoide (De Leeuw *et al.*, 1990; McGann *et al.*, 1998). Después del descongelamiento, una pequeña población de los espermatozoides que sobreviven a este procedimiento muestra signos de criocapacitación que se refiere a cambios en los patrones de movilidad, redistribución del  $\text{Ca}_2^+$ , etc., que asemejan el proceso de capacitación (Watson, 1995; Bailey *et al.*, 2000). La criocapacitación resulta en la ocurrencia de una versión similar pero desorganizada de la reacción acrosomal (Watson, 2000). En el espermatozoide porcino criopreservado, el proceso de enfriamiento y posterior re-calentamiento induce cambios similares a la capacitación (Kaneto *et al.*, 2002), que son parcialmente responsables de la baja fertilidad general del semen congelado de verraco (Watson, 2000; Green y Watson, 2001).

Por otro lado, el citoesqueleto participa en el soporte de la membrana plasmática y de la membrana acrosomal y algunos de sus elementos son termosensibles (Omega *et al.*, 2006). El principal elemento del citoesqueleto de la cabeza del espermatozoide es la teca perinuclear (PT) (Longo *et al.*, 1987). La PT es una cápsula rígida que cubre el núcleo del espermatozoide de mamíferos y tiene como función la unión de membranas espermáticas (Korley *et al.*, 1997) y la preservación de su integridad (Watson, 2000). La PT está subdividida en dos regiones: las capas subacrosomal y postacrosomal (Omega *et al.*, 2006). La capa postacrosomal se cree que participa en la activación del ovocito durante la fertilización (Sutovsky *et al.*, 1997) y es el sitio para la actina en los espermatozoides de algunos mamíferos (Yagi y Paranko, 1995; Mujica *et al.*, 2003). En la región apical de la capa postacrosomal del espermatozoide del toro, carnero y conejillo de Indias se ha detectado una subestructura, llamada subestructura de la teca perinuclear (PTS) (Olson *et al.*, 1983; Juárez Mosqueda y Mujica, 1999).

En el espermatozoide del conejillo de Indias, la F-actina está involucrada en la estabilización de la PTS (Juárez Mosqueda y Mujica, 1999). En el espermatozoide del verraco, la actina participa en la regulación del volumen (Petrunkina *et al.*, 2004). La localización de la actina en la región acrosomal de algunas especies de mamíferos (Camatini *et al.*, 1986; Flaherty *et al.*, 1988; Yagi y Paranko, 1995)

respalda su posible participación en la capacitación espermática y en la reacción acrosomal (RA); así, la polimerización y despolimerización de la actina pueden estar involucradas en la función espermática (Breitbart *et al.*, 2005). En el espermatozoide del cerdo, conejillo de Indias, toro, ratón y carnero, la polimerización de la actina ocurre durante la capacitación (Castellani Ceresa *et al.*, 1993; Brener *et al.*, 2003; Cabello Agüeros *et al.*, 2003) y el desdoblamiento de la F-actina debe ocurrir para que se lleve a cabo la RA (Brener *et al.*, 2003). En el espermatozoide del verraco, la inhibición de la polimerización de la actina bloquea su capacidad para fertilizar *in vitro* (Castellani Ceresa *et al.*, 1993). En otros tipos de células, la despolimerización prematura de la F-actina es causada por el enfriamiento (Hall *et al.*, 1993; Saunders y Parks, 1999).

El espermatozoide del verraco se ve dañado severamente durante el congelamiento (Maldjian *et al.*, 2005) y no más del 50% sobrevive a la criopreservación (Eriksson y Rodríguez Martínez, 2000; Carvajal *et al.*, 2004). El daño a la PT durante el proceso de congelamiento-descongelamiento ha sido reportado en el espermatozoide del toro (Omega *et al.*, 2006), pero sólo pocos estudios han documentado el daño que ocasiona la criopreservación en la PT en el verraco. El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de la criopreservación sobre la integridad del acrosoma y de la PTS del espermatozoide de verraco.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Colección de semen y evaluación

Se utilizaron seis verracos maduros de raza Duroc de probada fertilidad, mantenidos bajo las mismas condiciones de manejo y alimentación. Usando el método de la mano enguantada, de cada verraco se recolectaron dos eyaculados con intervalo de una semana, obteniendo en total 12 eyaculados para el estudio. De cada eyaculado se colectó la fracción rica en espermatozoides y cada eyaculado fue procesado de manera separada. El semen se diluyó (1:1 [v:v]) con diluyente MR-A® (Kubus®, Madrid, España) y se determinaron la motilidad y concentración espermáticas mediante técnicas de laboratorio de rutina. Todos los eyaculados usados en el estudio tuvieron  $\geq 70\%$  de motilidad. Para llevar a cabo la evaluación de la integridad del acrosoma y de la PTS el

semen diluido se dividió en dos muestras: una para ser evaluada en fresco y la otra para ser evaluada después del proceso de congelamiento-descongelamiento.

### **Protocolo de congelamiento y descongelamiento del semen**

Para el congelamiento del semen, las muestras fueron procesadas de acuerdo al protocolo de Bwanga (1990). Brevemente, el semen diluido fue enfriado (Coolmake®, Minitube®, Cd. de México, México) a 15°C por 2 h y después centrifugado (1.200 rpm/3 min). Para remover el diluyente, los pellets con espermatozoides se lavaron tres veces en solución salina (0,9% NaCl [p/v], osmolaridad de 308 mOsm/L) y fueron centrifugados (1.200 rpm/3 min). Después, los pellets con espermatozoides fueron re-diluidos con un segundo diluyente (DII, 80 mL de lactosa al 11% + 20 mL de yema de huevo, pre-enfriados a 15°C) para producir una concentración espermática de  $1,5 \times 10^9$ /mL. Los espermatozoides fueron enfriados a 5°C por 90 min y mezclados con un tercer diluyente (DIII, 89,5 mL de DII + 1,5 mL de Equex STM [Nova Chemicals Sales Inc., Scituate, MA, USA] + 9 mL de glicerol, pre-enfriados a 5°C) para producir una concentración final para ser congelada de  $1 \times 10^9$  espermatozoides/mL y 3% de glicerol. El semen fue empacado en pajillas francesas de 0,5 mL (Minitube®, Cd. de México, México), que fueron congeladas mediante exposición a vapores de nitrógeno líquido (NL; -130 a -150°C) por 20 min y después sumergidas en NL a -196°C para su almacenamiento. El descongelamiento de las pajillas se hizo en baño María a 37°C por 20 seg. Inmediatamente después del descongelamiento, los espermatozoides fueron usados para evaluar la integridad del acrosoma y de la PTS.

### **Evaluación de la viabilidad de los espermatozoides y de la integridad del acrosoma**

Se usó semen fresco y semen congelado-descongelado para evaluar la proporción de espermatozoides vivos, muertos y con reacción acrosomal en cada muestra, según la técnica de tinción triple descrita por Talbot y Chacón (1981). Brevemente, una alícuota de 100 µL de semen se mezcló con 100 µL de azul tripán al 2%, se incubó a 37°C por 15 min, se centrifugó (1.200 rpm/3 min) y el pellet con espermatozoides se resuspendió en 2 mL de agua destilada y se centrifugó dos veces. Después, el pellet con espermatozoides se fijó en 1

mL de glutaraldehído al 3% a 4°C por 30 min, se lavó en agua destilada, se centrifugó (1.200 rpm/3 min) y se resuspendió en solución salina fosfato-buferada Dulbecco (PBS, compuesta de 136,89 mM de NaCl, 2,68 mM de KCl, 8,1 mM de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  y 1,46 mM de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) al volumen inicial. Entonces, una gota de 10 a 20 µL de suspensión de espermatozoides se esparció en un portaobjetos de cristal. El portaobjetos se sumergió en solución de café Bismark al 8% en agua destilada a 37°C por 15 min, se lavó con agua, se secó al aire, se tiñó con solución de rosa de Bengala al 0,8% por 1 min a temperatura ambiente, se lavó con agua y se examinó con un microscopio de luz (X 1000). Se examinaron un total de 100 espermatozoides por portaobjetos para evaluar la viabilidad espermática y la integridad del acrosoma. Se observaron los siguientes patrones de tinción: 1) rosa en la región acrosomal y café en la región post-acrosomal en espermatozoides vivos con acrosoma intacto (EVAI), 2) sin tinción en la región acrosomal y café en la región post-acrosomal en espermatozoides vivos con reacción acrosomal (EVRA), 3) rosa en la región acrosomal y azul en la región post-acrosomal en espermatozoides muertos con acrosoma intacto (EMAI) y 4) sin tinción en la región acrosomal y azul en la región post-acrosomal en espermatozoides muertos con reacción acrosomal (EMRA).

### **Evaluación de la integridad de la PTS**

Se utilizó semen fresco y semen congelado-descongelado para la evaluación de la morfología de la PT mediante microscopía electrónica (Ursitti y Wade, 1993). Los espermatozoides se lavaron en solución salina y se ajustaron a una concentración de  $35 \times 10^6$  células/mL. Para exponer la superficie de la PT, la membrana plasmática, la membrana nuclear y el acrosoma se solubilizaron agregando el detergente no iónico Brij 36-T (Canamex, Nuevo León, México) a una concentración final de 1,2% y los espermatozoides se incubaron por 5 min a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugaron (2.500 rpm/3 min), se lavaron en agua destilada y se fijaron en fijador Karnovsky por 20 min a temperatura ambiente. Después, las muestras fueron centrifugadas (2.500 rpm/3 min), lavadas dos veces en PBS y dos veces en agua destilada y resuspendidas en agua destilada al volumen inicial. Una gota de cada suspensión de espermatozoides se colocó en una rejilla cubierta con colodión y carbón, dejándola 5 a 10 min para permitir

a los espermatozoides adherirse a la rejilla. Las muestras se tiñeron con solución acuosa de 0,02% de fosfotungstato (Merck, Darmstadt, Germany) por 3 min, y fueron enjuagadas poniendo una gota de agua destilada en la rejilla. Las rejillas se colocaron sobre papel filtro en cajas de Petri y se cubrieron para secar. Las muestras fueron examinadas en un microscopio de transmisión electrónica Zeis EM-9 (Oberkochen, Germany) a 50 kv.

Para evaluar la integridad de la PTS, 100 espermatozoides se evaluaron y clasificaron y la característica considerada para evaluar la condición de la PT fue la apariencia morfológica de la subestructura sobre la capa post-acrosomal. Las muestras fueron clasificadas como: 1) intactas o normales, cuando la PTS apareció como una fila continua de papilas, y 2) alterada o ausente, cuando la PTS tuvo algún daño, o las células no presentaron esta estructura, respectivamente (Omega *et al.*, 2006).

#### Análisis estadístico

Las diferencias entre semen fresco y congelado-descongelado para la proporción de EVAI, EVRA, EMAI, EMRA, espermatozoides con PTS intacta y espermatozoides con PTS alterada o ausente se analizaron mediante análisis de varianza, considerando un nivel de significancia estadística de  $P < 0,05$ . Se utilizó la correlación de Pearson para analizar la correlación entre la integridad del acrosoma y la integridad de la PTS. Se utilizó el paquete estadístico SAS versión 6.08 para Windows (SAS, 1988).

#### RESULTADOS

El semen congelado-descongelado tuvo menor proporción ( $P < 0,05$ ) de EVAI y mayor proporción ( $P < 0,05$ ) de EVRA, comparado con el semen fresco (Cuadro 1). No hubo diferencia ( $P > 0,05$ ) en el porcentaje de EMAI o EMRA en el semen fresco y congelado-descongelado (Cuadro 1). La proporción general de espermatozoides con acrosoma intacto (vivos y muertos) fue mayor ( $P < 0,05$ ) en el semen fresco (Cuadro 1).

El proceso de congelamiento-descongelamiento redujo ( $P < 0,05$ ) la cantidad de espermatozoides con PTS intacta, comparados con los espermatozoides evaluados en fresco (Cuadro 1).

Se encontró relación entre la integridad del acrosoma y la integridad de la PTS. La proporción de espermatozoides con reacción acrosomal se correlacionó con la proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente, tanto en el semen fresco ( $r = 0,93$ ), como en el congelado-descongelado ( $r = 0,85$ ). En el semen fresco, la proporción de espermatozoides con PTS intacta se correlacionó con la proporción de EVAI ( $r = 0,88$ ) y con la proporción de espermatozoides con acrosoma intacto ( $r = 0,91$ ), mientras que la proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente tuvo muy alta correlación con la proporción de EVRA ( $r = 0,95$ ) y se correlacionó con los espermatozoides con reacción acrosomal ( $r = 0,91$ ). En el semen congelado-descongelado, la proporción de espermatozoides con PTS intacta se correlacionó con la proporción de EVAI ( $r = 0,86$ ) y tendió a correlacionarse con la proporción de espermatozoides con acrosoma intacto ( $r = 0,69$ ), mientras que la proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente tendió a correlacionarse con las proporciones de espermatozoides con reacción acrosomal ( $r = 0,69$ ) y EVRA ( $r = 0,61$ ).

#### DISCUSIÓN

El espermatozoide del verraco es particularmente susceptible al choque por frío durante la criopreservación, resultando en extensivo daño a la membrana y consecuentemente, disminución en la fertilidad del semen congelado (Chatterjee y Gagnon, 2001; Maldjian *et al.*, 2005). Dado que el acrosoma contiene las enzimas necesarias para el espermatozoide para penetrar y fertilizar el ovocito (Eddy y O'Brien, 1994), a menor daño acrosomal durante la criopreservación, mayor tasa de fertilidad resultante (Zeng y Terada, 2001). En el presente estudio, el mayor porcentaje de EVAI en el semen fresco, comparado con el semen congelado-descongelado, mostró que la criopreservación afectó la integridad del acrosoma; esto podría explicar en parte las bajas tasas de fertilidad que se obtienen al utilizar semen criopreservado de verraco.

La capacitación espermática y la RA son dos pasos clave en el proceso de fertilización (Gadea *et al.*, 2005). La capacitación del espermatozoide puede ser inducida *in vitro* en presencia de diferentes medios (Yanagimachi, 1994). La RA ocurre cuando el espermatozoide ha sufrido la capacitación (Spungin *et al.*, 1995). Sin embargo, en el espermatozoide

Cuadro 1. Parámetros de muestras (n=12) de semen fresco y congelado-descongelado de verraco.

Parámetro	Semen fresco	Semen congelado-descongelado
	----- % -----	
<u>Viabilidad espermática</u>		
Vivos/acrosoma intacto	88,3 ± 3,2a†	34,9 ± 3,8b
Vivos/reacción acrosomal	6,7 ± 1,7a	46,4 ± 6,0b
Muertos/acrosoma intacto	2,5 ± 1,7a	6,1 ± 1,5a
Muertos/reacción acrosomal	2,5 ± 1,1a	12,6 ± 2,6a
<u>Integridad del acrosoma</u>		
Acrosoma intacto	90,8 ± 2,4a	41,0 ± 2,6b
Reacción acrosomal	9,2 ± 0,7a	59,0 ± 2,6b
<u>Integridad de la subestructura de la teca perinuclear</u>		
Intacta	93,3 ± 3,1a	30,0 ± 4,6b
Alterada o ausente	6,7 ± 3,1a	70,0 ± 4,6b

† Diferentes letras entre columnas indican diferencia estadística significativa (P<0,05). Valores son promedios ± desviación estandar.

del verraco el enfriamiento lento a 5°C antes del congelamiento indujo cambios en la membrana, similares a los que se presentan durante la capacitación (Maxwell y Johnson, 1997; Green y Watson, 2001). Se ha sugerido que los espermatozoides sufren un proceso continuo de desestabilización de la membrana durante el congelamiento y el descongelamiento, llevando finalmente a muerte celular, lo que podría explicar la alta proporción de espermatozoides con RA presente en el semen descongelado de verraco (Cremades *et al.*, 2005). Esto fue comparable al resultado de nuestro estudio, ya que el porcentaje de espermatozoides con RA fue mayor en el semen congelado-descongelado que en el semen fresco.

La despolimerización prematura de la F-actina como resultado del enfriamiento (Hall *et al.*, 1993; Saunders y Parks, 1999) podría contribuir a una fusión desorganizada de las membranas espermáticas después del congelamiento (Watson, 2000). Omega *et al.* (2006) reportaron que la criopreservación dañó la PT del espermatozoide del toro, similar a nuestros hallazgos en el espermatozoide del verraco. Esto apoya la propuesta de diversos investigadores de que la disminución en la viabilidad del semen criopreservado puede atribuirse no sólo a daño primario en la membrana plasmática (McGann *et al.*, 1988; Jager *et al.*, 1990; Holt, 2000), sino también al

daño a elementos internos, tales como el citoesqueleto (Watson, 2000), como fue observado por Omega *et al.* (2006) en el espermatozoide del toro. Sin embargo, no hay reportes de estudio similares realizados en cerdos. En el presente estudio, la criocapacitación pudo haber alterado la integridad de la PTS, ya que la proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente fue mayor en los espermatozoides congelados-descongelados, comparados con los espermatozoides frescos.

Omega *et al.* (2006) demostraron que la PTS del espermatozoide del toro podía usarse como un marcador morfológico para evaluar la integridad de la PT. Esta misma hipótesis se planteó en el presente estudio con espermatozoides de verraco. Similar al reporte en toros (Omega *et al.*, 2006), en cada muestra de semen de nuestro estudio se pudieron detectar alteraciones en la PTS, sin importar si se trataba de espermatozoides frescos o congelados-descongelados y se encontró una mayor proporción de espermatozoides con PTS alterada o ausente en los espermatozoides congelados-descongelados. En el espermatozoide del conejillo de Indias, el trastorno en la F-actina lleva a pérdida de la PTS (Juárez Mosqueda y Mújica, 1999). En el espermatozoide del toro, el congelamiento-descongelamiento puede resultar en cambios en el citoesqueleto de microfilamentos

que compone la zona base de la PTS, resultando en pérdida parcial o completa de la PTS (Omega *et al.*, 2006). En el espermatozoide criopreservado de toro, la integridad del acrosoma, más que la motilidad espermática, tuvo un efecto significativo en las tasas de fertilización *in vitro* (Tartaglione y Ritta, 2004). Algunos autores han reportado la participación de la PT en el mantenimiento y formación de los dominios de la membrana plasmática funcional de la cabeza del espermatozoide, la estabilidad del núcleo y la activación del ovocito (Longo y Cook, 1991). El daño a la integridad de la PT podría afectar otras funciones fisiológicas del espermatozoide y tiene también un papel importante en la baja viabilidad del semen congelado-descongelado (Omega *et al.*, 2006).

Existen pocos reportes de estudios realizados sobre alteraciones en la PT del espermatozoide del cerdo debidas a la criopreservación. Nuestro estudio demostró que la criopreservación dañó la integridad del acrosoma y de la PTS del espermatozoide del verraco, lo que podría ser una de las causas de la baja fertilidad obtenida al utilizar semen congelado de verraco.

### CONCLUSIONES

La criopreservación del espermatozoide del verraco afectó la integridad del acrosoma y de la PTS, probablemente debido a la criocapacitación. Sin embargo, se deben realizar estudios para saber si los espermatozoides congelados-descongelados que sufren RA debido a la criocapacitación son capaces de fertilizar al óvulo. Las alteraciones en la integridad del acrosoma y de la PTS podrían ser responsables de las bajas tasas de fertilidad obtenidas al utilizar semen congelado-descongelado de verraco.

### AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto de investigación fue financiado por el programa CGAP-UNAM (PAPIIT IN-206506).

### LITERATURA CITADA

- Bailey J.L., J.F. Bilodeau y N. Cormier. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *J. Androl.*, 21(1): 1-7.
- Breitbart H., G. Cohen y S. Rubinstein. 2005. Role of actin cytoskeleton in mammalian sperm capacitation and the acrosome reaction. *Reproduction*, 129(3): 263-268.
- Brener E., S. Rubinstein, G. Cohen, K. Shternall, J. Rivlin y H. Breitbart. 2003. Remodeling of the actin cytoskeleton during mammalian sperm capacitation and acrosome reaction. *Biol. Reprod.*, 68(3): 837-845.
- Bwanga C.O. 1990. Cryopreservation of boar semen. Studies on freezing, packaging and fertilizing capacity. Tesis. Swedish University of Agriculture Sciences, Fac. Veterinary Medicine. Uppasala, Suecia.
- Cabello Agüeros J.F., E.O. Hernández González y A. Mujica. 2003. The role of F-actin cytoskeleton-associated gelsolin in the guinea pig capacitation and acrosome reaction. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 56(2): 94-108.
- Camatini M., G. Anelli y A. Casale. 1986. Identification of actin in boar spermatids and spermatozoa by immunoelectron microscopy. *Eur. J. Cell Biol.*, 42(2): 311-318.
- Carvajal G., C. Cuello, M. Ruiz, J. M. Vazquez, E. A. Martinez y J. Roca. 2004. Effects of centrifugation before freezing on boar sperm cryosurvival. *J. Androl.*, 25(3): 389-396.
- Castellani Ceresa L., M. Mattioli, G. Radaelli, B. Barboni y M.F. Brivio. 1993. Actin polymerization in boar spermatozoa: fertilization is reduced with use of cytochalasin D. *Mol. Reprod. Dev.*, 36(2): 203-211.
- Chatterjee S. y C. Gagnon. 2001. Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. *Mol. Reprod. Dev.*, 59(4): 451-458.
- Cremades T., J. Roca, H. Rodríguez Martínez, T. Abaigar, J.M. Vázquez y E.A. Martínez. 2005. Kinematic changes during the cryopreservation of boar spermatozoa. *J. Androl.*, 26(5): 610-618.
- De Leeuw F.E., H.C. Chen, B. Colenbrander y A.J. Verkleij. 1990. Cold-induced ultrastructural changes in bull and boar sperm plasma membranes. *Cryobiology*, 27(2): 171-183.
- Eddy E.M. y D.A. O'Brien. 1994. The spermatozoa. *En* Knobil E. y J.D. Neill (Eds.) *The Physiology*

- of Reproduction. Raven Press, New York, EUA. pp. 29-77.
- Eriksson B.M. y H. Rodríguez Martínez. 2000. Effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in FlatPacks and Maxi-straws. *Anim. Reprod. Sci.*, 63(3-4): 205-220.
- Flaherty S.P., V.P. Winfrey y G.E. Olson. 1988. Localization of actin in human, bull, rabbit, and hamster sperm by immunoelectron microscopy. *Anat. Rec.*, 221(2): 599-610.
- Gadea J., F. García Vazquez, C. Matás, J.C. Gardón, S. Cánovas y D. Gumbao. 2005. Cooling and freezing of boar spermatozoa: supplementation of the freezing media with reduced glutathione preserves sperm function. *J. Androl.*, 26(3): 396-404.
- Green C.E. y P.F. Watson. 2001. Comparison of the capacitation-like state of cooled boar spermatozoa with true capacitation. *Reproduction*, 122(6): 889-898.
- Hall S.M., J. Evans y S.G. Haworth. 1993. Influence of cold preservation on the cytoskeleton of cultured pulmonary arterial endothelial cells. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 9(1): 106-114.
- Holt W.V. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: The importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 53(1): 47-58.
- Jager S., J. Wijchman y J. Kremer. 1990. Studies on the descondensation of human, mouse and bull sperm nuclei by heparin and other polyanions. *J. Exp. Zool.*, 256(3): 315-322.
- Juárez Mosqueda M.L. y A. Mújica. 1999. A perinuclear theca substructure is formed during epididymal guinea pig sperm maturation and disappears in acrosome reacted cells. *J. Struct. Biol.*, 128(3): 225-236.
- Kaneto M., H. Harayama, M. Miyake y S. Kato. 2002. Capacitation-like alterations in cooled boar spermatozoa: assessment by the chlortetracycline staining assay and immunodetection of tyrosine-phosphorylated sperm proteins. *Anim. Reprod. Sci.*, 73(3-4): 197-209.
- Korley R., F. Poursmaeili y R. Oko. 1997. Analysis of the protein composition of the mouse sperm perinuclear theca and characterization of its major protein constituent. *Biol. Reprod.*, 57(6): 1426-1432.
- Longo F.J. y S. Cook. 1991. Formation of the perinuclear theca in spermatozoa of diverse mammalian species: relationship of the manchette and multiple band polypeptides. *Mol. Reprod. Dev.*, 28(4): 380-393.
- Longo F.J., G. Krohne y W.W. Franke. 1987. Basic proteins of the perinuclear theca of mammalian spermatozoa and spermatids: a novel class of cytoskeletal elements. *J. Cell. Biol.*, 105(3): 1105-1120.
- Maldjian A., F. Pizzi, T. Gliozzi, S. Cerolini, P. Penny y R. Noble. 2005. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology*, 63(2): 411-421.
- Maxwell W.M. y L.A. Johnson. 1997. Chlortetracycline analysis of boar spermatozoa after incubation, flow cytometric sorting, cooling, or cryopreservation. *Mol. Reprod. Dev.*, 46(3): 408-418.
- McGann L.E., H. Yang y M. Walterson. 1988. Manifestations of cell damage after freezing and thawing. *Cryobiology*, 25(3): 178-185.
- Mujica A., F. Navarro García, E.O. Hernández González y M.L. Juárez Mosqueda. 2003. Perinuclear theca during spermatozoa maturation leading to fertilization. *Microsc. Res. Tech.*, 61(1): 76-87.
- Olson G.E., T.D. Noland, V.P. Winfrey y D.L. Garbers. 1983. Substructure of the postacrosomal sheath of bovine spermatozoa. *J. Ultrastruct. Res.*, 85(2): 204-218.
- Omega M.C., M.L. Juárez Mosqueda, J. Hernández y J. Valencia. 2006. Cryopreservation of bull spermatozoa alters the perinuclear theca. *Theriogenology*, 66(8): 1969-1975.
- Petrunkina A.M., M. Hebel, D. Waberski, K.F. Weitze y E. Töpfer-Petersen. 2004. Requirement for an intact cytoskeleton for volume regulation in boar spermatozoa. *Reproduction*, 127(1): 105-115.

- SAS. 1988. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, EUA.
- Saunders K.M. y J.E. Parks. 1999. Effects of cryopreservation procedures on the cytology and fertilization rate of *in vitro*-matured bovine oocytes. *Biol. Reprod.*, 61(1): 178-187.
- Spungin B., I. Margalit y H. Breitbart. 1995. Sperm exocytosis reconstructed in a cell free system: evidence for the involvement of phospholipase C and actin filaments in membrane fusion. *J. Cell Sci.*, 108(6): 2525-2535.
- Sutovsky P., R. Oko, L. Hewitson y G. Schatten. 1997. The removal of the sperm perinuclear theca and its association with the bovine oocyte surface during fertilization. *Dev. Biol.*, 188(1): 75-84.
- Talbot P. y R.S. Chacón. 1981. A triple-stain technique for evaluating normal acrosome reactions of human sperm. *J. Exp. Zool.*, 215(2): 201-208.
- Tartaglione C.M. y M.N. Ritta. 2004. Prognostic value of spermatological parameters as predictors of *in vitro* fertility of frozen-thawed bull semen. *Theriogenology*, 62(7): 1245-1252.
- Ursitti J.A. y J.B. Wade. 1993. Ultrastructure and immunocytochemistry of the isolated human erythrocyte membrane skeleton. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 25 (1): 30-42.
- Watson P.F. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.*, 7(4): 871-891.
- Watson P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61: 481-492.
- Yagi A. y J. Paranko. 1995. Actin, alpha-actin, and spectrin with specific associations with the postacrosomal and acrosomal domains of bovine spermatozoa. *Anat. Rec.*, 241(1): 77-87.
- Yanagimachi R. 1994. Mammalian fertilization. *En* Knobil E. y J.D. Neill (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. Raven Press. New York, EUA. pp. 189-317.
- Zeng W.X. y T. Terada. 2001. Effects of methyl-beta-cyclodextrin on cryosurvival of boar spermatozoa. *J. Androl.*, 22(1): 111-118.

## Nutrición mineral en sistemas ganaderos de las sabanas centrales de Venezuela

Luis Depablos<sup>1</sup>, Susmira Godoy<sup>2\*</sup>, Claudio F. Chicco<sup>2</sup> y Jorge Ordoñez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Aragua. Venezuela. \*Correo electrónico: sgodoy@inia.gob.ve

<sup>3</sup>Universidad Nacional Experimental de los Llanos Ezequiel Zamora. Barinas, Barinas. Venezuela.

---

### RESUMEN

Para evaluar el estado de la nutrición mineral en sistemas ganaderos de los llanos centrales de Venezuela en sabanas bien (SBD) y mal (SMD) drenadas e intermedias (SI), se seleccionaron unidades de producción del municipio El Pao de San Juan Bautista del estado Cojedes, Venezuela, en una zona de vida de bosque seco tropical. Se tomaron muestras de suelo, forraje, suero sanguíneo, hueso e hígado de bovinos para análisis mineral. En el suelo el contenido de materia orgánica (2,5%) fue moderado y el pH ligeramente ácido (6,0). Los cationes Ca, K y Mg estuvieron por encima del nivel crítico para la producción de forrajes. El contenido de P (ppm) fue adecuado para SMD (12,5), ligeramente inferior para SI (9,0) y deficiente para SBD (6,8). En el forraje, el P fue adecuado (0,26 y 0,21% para SMD y SI, respectivamente) y bajo (0,12%) para SBD. El Ca fue mayor en SMD (0,56%), seguido por SI (0,39%) y SBD (0,26%). El contenido de Mg, K, Na y Cu en forraje fue superior a los niveles críticos para la producción con bovinos, mientras que el Fe y Mn fueron altos. En suero sanguíneo, el P fue bajo, con mayores niveles en animales jóvenes (4,16; 3,44; 3,34 mg/dL para mauta, novilla y vaca, respectivamente). En tejido hepático, el Cu (98 ppm), Zn (129 ppm) y Mn (9,7 ppm) se encontraron en niveles adecuados, mientras que el Fe (287 ppm) fue alto, guardando relación con el contenido en sangre y forraje. En el hueso, la concentración de Ca (21,7%; 243 mg/cm<sup>3</sup>) y P (9,9%; 106 mg/cm<sup>3</sup>) fueron deficientes. Se concluye que hay deficiencias de P en el sistema suelo-planta-animal, eventuales de Ca en algunos componentes del sistema (suero sanguíneo, hueso y forrajes) y elevadas concentraciones de Fe, Mn y Zn que pueden ocasionar relaciones antagónicas.

*Palabras clave:* nutrición mineral, bovinos, sabanas

---

### Mineral nutrition in cattle production systems in central savannas of Venezuela

#### ABSTRACT

To evaluate mineral nutrition in cattle production systems in the central plains of Venezuela, in well drained (WDS) and poorly drained (PDS) savannas as well as intermediate savannas (IS), nine cattle production units were selected in the municipal district of Pao de San Juan Bautista of Cojedes state, Venezuela, corresponding to a dry tropical forest. Soil, forage, animal blood serum, bone and liver samples were taken for chemical analysis. Ca, K, and Mg cations were higher than the critical levels required for forage production. Phosphorus content (ppm) was adequate in PDS (12.5), slightly lower in IS (9.0), and deficient in WDS (6.8). In forage, P was found to be adequate with values of 0.26 and 0.21% for PDS and IS, respectively, being deficient in WDS (0.12%). Calcium was higher in PDS (0.56%), followed by IS (0.39%) and PDS (0.26%) Magnesium, K, Na, and Cu content in forage was higher than the suggested critical levels for cattle, while Fe and Mn were very height. In blood serum, P was low with higher values in younger animals (4.16, 3.44, 3.34 mg/dL for calves, heifers, and cows, respectively). Hepatic Cu (98 ppm), Zn (129 ppm), and Mn (9.7 ppm) were adequate, while Fe (287 ppm)

was high, in line with forage and blood concentrations. In bone tissue, Ca (21.7%, 243 mg/cm<sup>3</sup>) and P (9.9%, 106 mg/cm<sup>3</sup>) concentrations were deficient. It is concluded that P deficiency is present in the soil-plant-animal system, eventually Ca in some components of the system (blood serum, bone and forage) and high concentrations of Fe, Mn and Zn are present and may be involved in some antagonistic relationships.

*Keywords:* mineral nutrition, cattle, savannas

## INTRODUCCIÓN

La inadecuada nutrición mineral constituye una de las principales limitantes para la ganadería en las regiones tropicales. En las sabanas venezolanas se han señalado una serie de signos clínicos en los bovinos a pastoreo como pica, pelo hirsuto, baja fertilidad y muerte súbita que sugieren problemas de deficiencia, toxicidad o desbalances minerales. Chicco y Godoy (1996) señalan que la mayoría del forraje de los llanos venezolanos tiene una concentración de fósforo inferior a 0,20% en base a materia seca, valor considerado crítico para la producción vacuna, así como también algunos excesos de hierro y manganeso. Al norte del estado Cojedes en Venezuela, se han reportado (Morillo *et al.* 1989; McDowell *et al.*, 1989) bajos niveles de algunos nutrientes (proteína y fósforo) en el forraje, así como concentraciones elevadas de hierro que pudieran condicionar la utilización de otros macro y microelementos, como el fósforo, cobre y zinc.

Estas condiciones señalan la necesidad de prestar particular atención a los estados carenciales o de subnutrición, de tipo continuo o estacional, para que no se afecte el desempeño de los bovinos a pastoreo y por lo tanto, los aportes económicos para el productor. Consecuentemente, en el presente trabajo se evaluó el contenido de algunos minerales en el sistema suelo-planta-animal en unidades de producción de vacunos a pastoreo del municipio El Pao del estado Cojedes, en sabanas representativas de la región central de Venezuela.

## MATERIALES Y METODOS

### Ubicación, sistema de producción y manejo animal

La región bajo estudio se localizo en las sabanas del municipio El Pao de San Juan Bautista del estado Cojedes, Venezuela. Los datos agroclimatológicos promedios anuales que presenta la zona son temperatura entre 27 y 30°C, precipitación de 1.424 mm distribuida en forma biestacional, con un pico

lluvioso entre mayo-agosto y déficit entre diciembre-abril y una evapotranspiración potencial de 1.590 mm. La zona de vida pertenece a bosque seco tropical y los suelos corresponden a los órdenes Inceptisoles, Ultisoles, Alfisoles y Vertisoles (Comerma, 1968).

El sistema de producción estudiado fue ganadería de carne, incluyendo algunas fincas donde se ordeñan mestizos acebuados. Se tomaron muestras en siete fincas que por lo general presentaban distintos tipos de paisaje, consiguiéndose en cinco de ellas sabanas bien drenadas y en cuatro sabanas intermedias y mal drenadas.

Las muestras tomadas se corresponden con las siguientes características: animales de carne (Cebú y sus mestizos), principalmente pasturas introducidas (*Brachiaria* sp. y *Cynodon* sp.), además de las gramíneas nativas propias de cada ecosistema estudiado (*Trachypogon* sp. o *Paspalum fasciculatum*), fertilización de pasturas con 50 kg ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de urea, animales manejados bajo pastoreo rotacional continuo y suplementación estratégica en época de verano con de bloques multinutricionales, sales minerales o mezclas de harinas y subproductos.

### Toma y manejo de muestras

Las muestras de suelo, planta y sangre fueron tomadas entre febrero y marzo (época seca) y entre julio y agosto (época lluviosa) en siete fincas del municipio Pao. Las muestras de hígado y hueso se tomaron de un matadero ubicado en la misma zona, de animales procedentes de algunas de las unidades de producción donde se colectaron las muestras de suelo, forraje y sangre.

Para la toma de muestras de suelo y forraje en cada unidad de producción se tomaron de 2 a 8 transectas y, en cada una de ellas, entre 4 y 8 muestras dependiendo de la superficie, variación en la pendiente, cobertura vegetal y condiciones de aguachinamiento. Las muestras de suelo se tomaron a una profundidad aproximada de 20 cm. En las diferentes áreas se

colectaron 48 muestras compuestas de suelo (22 en sabanas bien drenadas, 16 en sabanas intermedias y 10 en sabanas mal drenadas; 26 en sequía y 22 en lluvias) y se mezclaron homogéneamente para formar una muestra compuesta de cada transecta para análisis (Coraspe y Tejera, 1996).

Se tomaron 217 muestras de forrajes (120 en el periodo seco y 97 en el lluvioso; 184 de forrajes cultivados y 33 en pastos naturales; 109 de sananas bien drenadas, 78 de sabanas intermedias y 30 de sabanas mal drenadas). Las muestras de forraje fueron tomadas sobre transectas con un marco metálico de 0,25 m<sup>2</sup> y el corte del material vegetal se realizó a 10 cm sobre el nivel del suelo. Una vez en el laboratorio fueron molidas para análisis (Matteucci y Colma, 1982).

En cada unidad de producción se tomaron al azar muestras de sangre por punción venosa yugular. Se obtuvo suero sanguíneo por centrifugación de la sangre a 2500 rpm durante 15 min. Se tomaron 165 muestras de suero sanguíneo distribuidas de la siguiente manera: 46 mautas(es), 47 novillas y 72 vacas de un total de 27.800 animales pertenecientes a las siete fincas. En el periodo seco fueron tomadas 103 muestras y en lluvias, 62.

Las muestras de tejidos fueron obtenidas de animales en matadero, coincidiendo con los muestreos de suelo y forraje en las unidades de producción. Las muestras de hígado, aproximadamente 200 g de tejido fresco tomados inmediatamente al sacrificio del animal, fueron almacenadas bajo congelación (-5°C). Previo secado a 100°C estas fueron sometidas a digestión y diluciones para determinación de minerales (Tiffany *et al.*, 2002). Las muestras de hueso correspondieron a la 12<sup>va</sup> costilla y las apófisis transversas de las vértebras lumbares. En el hueso se determinó Ca y P.

La determinación de minerales (Ca, Mg, Na, K, Zn, Cu, Fe y Mn) en suelo, planta y tejidos y fluidos animales se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (AOAC, 1984). Para plantas y tejidos animales el fósforo fue determinado por colorimetría (Fiske y Subarrow, 1925). Para las muestras de suelo se utilizó el método de Olsen (AOAC, 1984).

### Diseño de investigación y análisis estadístico

La evaluación del estado mineral en el sistema suelo-planta-animal representa un muestreo piloto,

ya que no se posee una medida de variabilidad entre fincas reportada previamente en la zona. El muestreo se realizó en no menos de cuatro fincas por cada zona agroecológica del municipio en estudio, para obtener la información del estado mineral del sistema suelo-planta-animal y las medidas de variación.

Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva e inferencial. Se determinaron promedios y desviaciones estándar y, para la inferencia estadística, se usó el análisis de varianza para determinar el efecto del tipo de sabana, época de muestreo y tipo de animal. Además, se realizaron correlaciones de Pearson para determinar el grado de asociación entre las concentraciones minerales en suelo, forraje y suero sanguíneo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de Ca y K en el suelo fueron afectadas por la época de muestreo ( $P < 0,05$ ), presentando valores de 785 y 1.510 ppm para Ca y 75,8 y 56,7 ppm para K en las épocas de lluvia y sequía, respectivamente (Cuadro 1). Los valores promedios de Ca y K en suelo fueron superiores a los señalados críticos para un adecuado desarrollo de la pastura (500 y 37 ppm, respectivamente; Morillo *et al.*, 1989). Sin embargo, 40 y 19% de las muestras de suelo resultaron deficientes en Ca y K, respectivamente.

Morillo *et al.* (1989) y Tejos (1998), al norte del estado Cojedes, reportaron valores de Ca similares a los de las sabanas bien drenadas y más bajos respecto a las intermedias y mal drenadas. El nivel de K fue similar al obtenido por Tejos (1998). Los valores de Mg también resultaron superiores al nivel crítico (15 ppm) considerado por Morillo *et al.* (1989).

El tipo de sabana afectó ( $P < 0,05$ ) el contenido de P y el pH en el suelo. El mayor valor de P correspondió a las sabanas mal drenadas (12,5 ppm), seguido por las intermedias (9,0 ppm) y bien drenadas (6,8 ppm). El pH fue de 5,49; 6,24 y 5,96 para sabanas bien drenadas, intermedias y mal drenadas, respectivamente (Cuadro 1).

En las sabanas bien drenadas e intermedias la concentración de P en suelo estuvo muy cerca o por debajo del valor crítico (Cuadro 1). Estos valores resultaron superiores a los reportados por Morillo *et al.* (1989) al norte de Cojedes (sabanas bien drenadas) y Tejos (1998). En la zona de Caño Benito, sitio cercano

Cuadro 1. Minerales y propiedades físico-químicas del suelo (media y desviación estándar) según tipo de sabana o época de muestreo.

Época	Ca	P	K	Mg	MO	CE	pH	----- ppm -----		----- ds/m -----	
								ppm	%	ds/m	%
Época	Lluvia	785 ± 854 <sup>†</sup>	9,9 ± 7,9	75,8 ± 37,8a	161,0 ± 111,1	2,6 ± 0,9	0,054 ± 0,050	5,94 ± 0,83			
	Sequía	1.510 ± 1.888b	7,7 ± 6,1	56,7 ± 22,6b	179,4 ± 124,6	-	-	5,72 ± 0,87			
Sabana bien drenada	General	810 ± 1.560	6,8 ± 6,2B	64,9 ± 32,0	157,7 ± 137,2	2,8 ± 1,0	0,051 ± 0,058	5,49 ± 0,814B			
	Lluvia	627 ± 914	7,4 ± 4,9	76,2 ± 40,2	162,2 ± 139,8	2,8 ± 1,0	0,051 ± 0,058	5,49 ± 0,814			
Sabana intermedia	Sequía	936 ± 1.913	4,7 ± 4,1	57,0 ± 23,6	154,6 ± 140,9	-	-	-			
	General	1.347 ± 1.023	9,0 ± 4,6AB	66,3 ± 32,0	199,2 ± 106,2	2,5 ± 0,4	0,059 ± 0,043	6,21 ± 0,66A			
Sabana mal drenada	Lluvia	1.033 ± 877	7,8 ± 3,6	74,8 ± 39,8	180,3 ± 92,7	2,5 ± 0,4	0,059 ± 0,043	6,21 ± 0,66			
	Sequía	1.520 ± 1.167	9,3 ± 6,0	53,3 ± 19,4	207,0 ± 120,8	-	-	-			
Valores críticos <sup>‡</sup>	General	1.700 ± 1.976	12,5 ± 10,1A	66,4 ± 34,6	156,8 ± 85,2	2,3 ± 1,3	0,052 ± 0,055	5,96 ± 0,98AB			
	Lluvia	673 ± 786	17,6 ± 12,5	76,8 ± 38,9	128,0 ± 92,6	2,3 ± 1,3	0,052 ± 0,055	5,96 ± 0,98			
Valores críticos <sup>‡</sup>	Sequía	2.728 ± 2.351	11,8 ± 8,0	56,0 ± 30,0	185,6 ± 75,5	-	-	-			
	General	500	10	37	15	2	---	-			

<sup>†</sup>Letras minúsculas distintos en la misma columna denotan diferencias estadísticas por efecto de la época (P<0,05). Letras mayúsculas distintas en la misma columna denota diferencias estadísticas por efecto del tipo de sabana (P < 0,05).

<sup>‡</sup>Morillo *et al.* (1989).

del presente estudio, Arriaga *et al.* (2001) señalaron valores de P de 6,2 ppm a pH de 5,5 y materia orgánica 2,7%, similares a los de esta investigación. De las muestras de suelo analizadas, 66% presentaron una concentración de P inferior a 10 ppm.

El tipo de sabana influyó ( $P<0,05$ ) las concentraciones de Ca, P, Mg, K, Cu y Mn en el forraje (Cuadro 2), al igual que la época para Ca, P, Mg, K, Mn y Zn. La concentración de Ca en el forraje fue mayor en el periodo seco (0,43%) que en el lluvioso (0,25%), posiblemente debido a que este mineral no sufre procesos de dilución o translocación tan acentuados por crecimiento y maduración de la pastura, quien se constituye en un elemento utilizado en los procesos de lignificación ante el estrés hídrico. Los forrajes de las sabanas mal drenadas presentaron una mayor concentración de Ca seguida de las intermedias y bien drenadas con valores de 0,56; 0,39 y 0,26%, respectivamente, y es relacionado con el contenido del elemento en el suelo. La concentración promedio de Ca en el forraje estuvo por encima del valor crítico (0,3%) con excepción de las sabanas bien drenadas en el periodo lluvioso. Sin embargo, un 56% de las muestras de forraje mostraron una concentración inferior al nivel limitante. Los valores de Ca fueron inferiores a los publicados por Tejos (1998), mientras que coincidieron con los reportados por Arriaga *et al.* (2001) y Morillo *et al.* (1989).

El P, elemento susceptible a disminuir por dilución y translocación en etapa de maduración o floración del forraje, fue menor en la época de sequía que en la de lluvias. Las sabanas bien drenadas presentaron menor concentración que las mal drenadas y estas, inferiores a las intermedias con valores de 0,12; 0,21 y 0,26%, respectivamente, guardando relación con el contenido del elemento en suelo (Cuadro 1).

Muy pocos valores promedio de P en la pastura alcanzaron el límite inferior (0,25%) para una adecuada producción de vacunos, con una alta proporción de las muestras deficientes (72%). Sólo las concentraciones en la época de lluvias para sabanas intermedias y mal drenadas y en sequía para intermedias estuvieron muy cerca a este valor. Las sabanas bien drenadas presentaron baja concentración del elemento durante todo el año. Los valores de fósforo en los forrajes (*Cynodon nlemfuensis*, *Brachiaria humidicola*, *B. mutica* y *B. radicans*) fueron inferiores a los señalados por Tejos (1998) y Arriaga *et al.* (2001) en el estado

Cojedes. Es importante acotar que los valores de Arriaga *et al.* (2001) fueron determinados a inicios de la temporada lluviosa. Por su parte, Morillo *et al.* (1989) encontraron valores de P en las pasturas más bajos que los del presente estudio. Los trabajos de Morillo *et al.* (1989) y McDowell *et al.* (1989) fueron realizados al norte del estado Cojedes sobre las especies *Trachypogon plumosus*, *Paspalum* sp. y *Axonopus* sp., las cuales son especies diferentes a las del presente estudio.

El Mg en forraje presentó ( $P<0,05$ ) menor concentración en el período de lluvias. En sabanas mal drenadas la concentración del elemento fue mayor ( $P<0,05$ ) que en las intermedias y bien drenadas (0,34 vs. 0,23 y 0,25%, respectivamente). Los valores promedio superan al crítico (0,2%), siendo similares a los de Morillo *et al.* (1989) y superiores a los de Tejos (1998). Sin embargo, un 35% de las muestras no alcanzaron la concentración límite.

La concentración de K en el forraje fue afectada por la época del año (sequía 0,93% vs. lluvias 1,52%). Las sabanas bien drenadas presentaron una menor concentración ( $P<0,05$ ) que las intermedias, siendo estas inferiores a las mal drenadas con valores de 0,96; 1,35 y 1,62%, respectivamente. El nivel de K en sabanas bien drenadas en sequía se encontró muy cerca de la concentración crítica para las dietas de vacunos. Sin embargo, las concentraciones promedio resultaron superiores al nivel crítico (0,6%; McDowell *et al.*, 1989) con 18% de las muestras deficientes. Los valores de K en los forrajes fueron más bajos a los señalados por Arriaga *et al.* (2001) y más elevados que los de Morillo *et al.* (1989).

No existió efecto de la época o tipo de sabana sobre la concentración de Na en los forrajes. Sin embargo, éstos valores superaron el nivel crítico para la producción de vacunos (20% de las muestras fueron deficientes). El sodio en la pastura presentó valores superiores a los señalados por Morillo *et al.* (1989) quienes indicaron niveles más bajos de este elemento.

Los valores de Fe en el forraje fueron superiores al valor considerado limitante e inferiores a los reportados por Tejos (1998) y Morillo *et al.* (1989).

El contenido de Cu se vio afectado por el tipo de sabana ( $P<0,05$ ). Los valores promedios superaron el nivel crítico (8 ppm) con 16% de muestras deficientes.

Cuadro 2. Minerales (promedio y desviación estándar) en forraje según tipo de sabana (SBD: sabana bien drenada, SI sabana intermedia, SMD: sabana mal drenada) o época de muestreo.

Fuente de variación	Ca	P	%				ppm			
			Mg	K	Na	Fe	Cu	Mn	Zn	
Época	Sequia	0,43 ± 0,35	0,17 ± 0,12	0,28 ± 0,11	0,93 ± 0,61	0,24 ± 0,17	201 ± 174	13,8 ± 5,5	206 ± 130	46,5 ± 36,4
	Lluvia	0,25 ± 0,14	0,19 ± 0,08	0,23 ± 0,13	1,52 ± 0,50	0,24 ± 0,22	272 ± 309	13,9 ± 8,0	212 ± 87	95,1 ± 98,0
Sabana	SBD	0,26 ± 0,28	0,12 ± 0,06	0,25 ± 0,11	0,96 ± 0,53	0,25 ± 0,16	213 ± 217	14,3 ± 7,6	198 ± 115	67,5 ± 94,9
	SI	0,39 ± 0,16	0,26 ± 0,10	0,23 ± 0,11	1,35 ± 0,59	0,24 ± 0,17	254 ± 307	12,5 ± 5,5	124 ± 98	66,8 ± 46,8
	SMD	0,56 ± 0,41	0,21 ± 0,08	0,34 ± 0,15	1,62 ± 0,76	0,20 ± 0,32	246 ± 138	16,0 ± 5,0	174 ± 152	75,6 ± 49,4
Sequia	SBD	0,33 ± 0,35	0,10 ± 0,04	0,28 ± 0,11	0,63 ± 0,27	0,23 ± 0,17	208 ± 199	12,5 ± 5,0	248 ± 111	38,6 ± 28,7
	SI	0,45 ± 0,15	0,29 ± 0,11	0,25 ± 0,11	1,14 ± 0,54	0,29 ± 0,17	166 ± 137	14,5 ± 5,8	120 ± 96	57,0 ± 46,5
	SMD	0,78 ± 0,52	0,16 ± 0,07	0,33 ± 0,10	1,69 ± 0,95	0,15 ± 0,09	271 ± 137	18,1 ± 4,1	269 ± 170	50,9 ± 24,9
Lluvia	SBD	0,16 ± 0,09	0,15 ± 0,06	0,21 ± 0,10	1,44 ± 0,44	0,28 ± 0,13	220 ± 244	16,9 ± 9,7	127 ± 80	108,0 ± 134,0
	SI	0,32 ± 0,14	0,23 ± 0,08	0,20 ± 0,11	1,60 ± 0,54	0,19 ± 0,14	356 ± 406	10,1 ± 4,2	127 ± 103	78,1 ± 45,1
	SMD	0,37 ± 0,12	0,25 ± 0,07	0,35 ± 0,19	1,56 ± 0,57	0,24 ± 0,43	223 ± 139	14,1 ± 5,1	92 ± 66	97,3 ± 55,8
Deficiencia†	0,3	0,25	0,2	0,6	0,08	50	8	40	30	
Toxicidad†	-	-	-	-	-	1.000	100	1.000	500	

† Según Morillo *et al.* (1989) y McDowell *et al.* (1989).

Tejos (1998) y Morillo *et al.* (1989) reportaron valores de Cu en pasturas de Cojedes inferiores a las de este estudio. Aun cuando las concentraciones de Cu en el forraje no mostraron valores que sugieran deficiencia, los mismos se encontraron cerca del valor límite. Sin embargo, el Fe, elemento que compite por los sitios de absorción a nivel intestinal con el Cu, se encontró en cantidades medianamente elevadas en la pastura, lo que podría crear condiciones que predisponen a una deficiencia secundaria de Cu en los animales.

Los valores de Mn en el periodo seco (206 ppm) resultaron mayores ( $P < 0,05$ ) que en el lluvioso (121 ppm) y, en las sabanas bien y mal drenadas, más elevados que en las intermedias (198 y 174 vs. 124 ppm). Chicco y Godoy (1987) han sugerido la eliminación de Mn de las premezclas minerales al encontrarse en adecuada concentración en la pastura. Las concentraciones de Mn en los forrajes resultaron similares a las reportados por Morillo *et al.* (1989) y mayores a las de Tejos (1998). Solo 8% de las muestras de forraje resultaron deficientes.

El Zn fue afectado por la época ( $P < 0,05$ ) con mayores valores en el periodo lluvioso (95,1 vs 46,5 ppm para lluvia y sequia, respectivamente). Las concentraciones promedio superaron el valor crítico (30 ppm; Morillo *et al.*, 1989). El 27% de las muestras resultaron deficientes. La concentración media de este elemento en los forrajes de las sabanas bien drenadas durante la época seca se acerca al valor crítico. Tejos (1998) reportó valores superiores a los del presente estudio y el estudio de Morillo *et al.* (1989) señaló deficiencias de Zn en el forraje.

En general se ha observado que en las regiones subtropicales, la época afecta la concentración de algunos elementos minerales, particularmente P, Mg y K con valores menores en durante el verano (Kiatoko *et al.*, 1982).

La edad del animal, como era de esperarse, independientemente de sus características genéticas, afectó ( $P < 0,05$ ) las concentraciones de P y Mg (Cuadro 3). Así, la concentración de P fue mayor en animales jóvenes (4,16; 3,44 y 3,34 mg/dL para mauta, novilla y vaca, respectivamente) y el Mg sérico en animales adultos (1,99; 2,12 y 2,02 mg/dL para mauta, novilla y vaca, respectivamente).

Con la excepción de los elementos Mg y Na, los cuales permanecieron inalterados, la época del año

afectó ( $P < 0,05$ ) el contenido de los minerales en suero sanguíneo. Exceptuando a Ca, P y Zn, cuyos valores fueron mayores en sequía, por lo general, las concentraciones de los elementos fueron mayores en el periodo lluvioso. Esto pudo ser debido a factores como el uso de suplementos dietéticos en algunas unidades de producción durante la época seca, mecanismos homeostáticos intrínsecos del animal que pueden enmascarar la respuesta a las condiciones desfavorables, ingesta insuficiente energético-proteica en el periodo seco por lo que los animales presentan requerimientos bajos de P. Kiatoko *et al.* (1982) reportan valores más altos de fósforo sérico durante el periodo lluvioso (6,1 vs. 5,2 mg/dL) y señalan que debido a la baja concentración de fósforo en el forraje (0,13%) era lógico esperar una mayor proporción de animales con hipofosfatemia.

Los valores séricos de Ca, Mg, Zn y Cu (Cuadro 3) resultaron superiores a las concentraciones críticas reportadas por McDowell *et al.* (1997), aunque el Cu durante el periodo seco mostró un valor cercano al valor crítico (0,65 ppm) con 42,7% de las muestras deficientes. Sin embargo, en el periodo lluvioso, aun cuando el promedio estuvo por encima del nivel considerado límite, 16,1% de los sueros mostraron deficiencias. Por el contrario, los valores promedios de P y más del 50% de los animales muestreados, en ambas épocas, independientemente del estado fisiológico, época de año y unidad de producción, resultaron inferiores al nivel crítico ( $< 4,5$  mg/dL). Esto sugiere deficiencias del elemento asociado al contenido de P del suelo y pastizal. El 10,7 y 17,7% de las muestras fueron deficientes en Ca ( $< 8$  mg/dL) en sequía y lluvia, respectivamente.

El valor sérico reportado (4,28 mg/dL) por Williams *et al.* (1991) en hembras de carne en crecimiento alimentadas con dietas pobres en fósforo (0,12%) fue superior a lo encontrado en novillas (3,44 mg/dL) y similar al de mautas (4,16 mg/dL).

Los niveles de Cu y Mn en hígado (Cuadro 4) estuvieron por encima de los valores críticos reportados por McDowell *et al.* (1997). El Cu hepático es un indicador de las reservas corporales del elemento y guarda relación con los valores en sangre y forraje. Sin embargo, según Chicco y Godoy (1996), las concentraciones de Cu son deficientes en época lluviosa. Lo anterior podría deberse a que, en condiciones de alta pluviometría, los pastos contienen

Cuadro 3. Concentraciones minerales séricas de animales bovinos de unidades de producción en estudio.

Fuente de variación	Ca	P	Mg	K	Na	Fe	Cu	Zn	
	----- mg/dL -----								
Tipo de animal	Mauta(e)	10,07 ± 1,42	4,16 ± 1,15a†	1,99 ± 0,34a	22 ± 1,8	331 ± 18	0,20 ± 0,08	0,72 ± 0,21	1,34 ± 0,61
	Novilla	9,37 ± 1,11	3,44 ± 1,23a	2,12 ± 0,40b	21 ± 4,1	324 ± 34	0,22 ± 0,08	0,86 ± 0,31	1,35 ± 0,70
	Vaca	9,30 ± 1,29	3,34 ± 0,93b	2,02 ± 0,42b	21 ± 3,0	325 ± 21	0,20 ± 0,07	0,80 ± 0,28	1,28 ± 0,55
Época	Lluvia	8,66 ± 0,63B	3,12 ± 1,00B	2,03 ± 0,36	22 ± 3,4A	328 ± 17	0,26 ± 0,07A	1,01 ± 0,25A	0,92 ± 0,16B
	Sequía	10,16 ± 1,34A	3,90 ± 1,12A	2,05 ± 0,42	21 ± 2,8B	325 ± 29	0,17 ± 0,06B	0,66 ± 0,20B	1,57 ± 0,65A
Promedio general		9,54 ± 1,31	3,60 ± 1,13	2,04 ± 0,40	21 ± 3,10	326 ± 25	0,21 ± 0,08	0,79 ± 0,28	1,32 ± 0,61
Valores críticos‡		8	4,5	1	-	-	-	0,65	0,6

†Letras distintas en la misma columna denotan diferencias estadísticas ( $P < 0,05$ ) para tipo de animal (letras minúsculas) y época (letras mayúsculas).

‡Según McDowell *et al.* (1997).

mayores tenores de proteína cruda que en presencia de molibdeno reacciona para formar tiomolibdato de cobre, un compuesto que es pobremente utilizado por el animal (Underwood, 1981; McDowell *et al.*, 1984; Tiffany *et al.*, 2002).

Los valores hepáticos de Fe (Cuadro 4) fueron superiores al valor crítico, principalmente en las sabanas bien drenadas al norte del estado, posiblemente debido al pH ácido del suelo que aumenta la solubilidad del hierro y del aluminio, siendo más disponibles para la planta y, por lo tanto, para el animal.

La concentración hepática de Zn se encontró dentro del rango normal (Chicco y Godoy, 1996). El Fe y Zn fueron superiores (287,5 y 128,5 ppm, respectivamente) a los señalados por McDowell *et al.* (1982) en animales mestizos Cebú que pastoreaban *Digitaria spp.*, *Paspalum stellatum*, *P. dilatatum* y *Leersia hexandra* en la región de Beni, Bolivia, con valores para Fe y Zn de 218 y 104 ppm, respectivamente. La concentración de Cu, citada por estos autores (50 ppm) fue similar a la del periodo lluvioso (57,4 ppm) e inferior a la época seca (121,2 ppm).

Los valores de Ca y P en el hueso (Cuadro 5) fueron ligeramente inferiores al valor crítico, tanto en la expresión porcentual como en mg/cm<sup>3</sup>. Los valores de Ca sérico no guardaron relación con los de hueso, como ha sido señalado por algunos autores (Underwood, 1981, McDowell *et al.*, 1984; Wittwer, 1994), quienes han considerado que la medición de la calcemia es poco sensible a estados nutricionales carenciales. En el caso del P, tanto en suero sanguíneo

como en hueso, las concentraciones fueron inferiores a los valores críticos lo que podría sugerir deficiencias del elemento en la dieta, debido a los niveles subóptimos en suelo y forraje y a una poco adecuada suplementación mineral.

Los valores de Ca y P en el tejido óseo fueron más bajos que los señalados por Prestes *et al.* (2003), tanto en vacas mestizas de carne suplementadas con una mezcla mineral completa como no suplementadas.

### Relaciones minerales en el sistema suelo-planta-animal

#### Relación suelo-planta

La concentración mineral en el forraje de la mayoría de los elementos estudiados guardó relación con su contenido en el suelo, a diferencia de los resultados obtenidos por Kiatoko *et al.* (1982). La relación para el Ca fue positiva ( $y = 0,0001x + 0,2307$ ;  $R^2 = 0,357$ ;  $P = 0,012$ ), lo que indica que aumentos del elemento en el suelo se corresponden con incrementos de su concentración en forraje. De igual manera, el Ca en suelo tiene relación positiva ( $y = 736,14x - 3447,7$ ;  $R^2 = 0,707$ ;  $P = 0,000$ ) con el pH del suelo, concordando con lo reportado por Aldrich y Leng (1974) y la UNEX (2007).

La concentración de P en suelo presentó relación con el pH del suelo ( $y = 3,141x - 9,7329$ ;  $R^2 = 0,377$ ;  $P = 0,008$ ) y con su nivel en forraje ( $y = 0,0093x + 0,0981$ ;  $R^2 = 0,677$ ;  $P = 0,000$ ), y, a su vez, éste último, con el pH del suelo ( $y = 0,0616x - 0,1816$ ;  $R^2 = 0,593$ ;

Cuadro 4. Concentraciones hepáticas de elementos minerales en vacunos de unidades de producción estudiadas.

Fuente de variación	Fe	Cu	Co	Mn	Zn
	----- ppm -----				
Época Lluvia	271,4 ± 67,0	57,4 ± 39,2	-	11,9 ± 4,7	128,5 ± 30,9
Seqüía	296,7 ± 185,2	121,2 ± 108,7	8,1 ± 2,1	8,5 ± 1,8	-
Promedio	287,5 ± 151,3	98,0 ± 93,9	8,1 ± 2,1	9,7 ± 3,5	128,5 ± 30,9
Valor crítico	150 – 200 <sup>†</sup> < 180 <sup>§</sup>	25 – 75 <sup>‡</sup> 75 – 100 <sup>†</sup> < 0,75 <sup>§</sup>	0,07 <sup>§</sup>	6 <sup>‡</sup> 6 – 70 <sup>†</sup>	60 – 180 <sup>†</sup> < 84 <sup>§</sup>

<sup>‡</sup>McDowell *et al.* (1997). <sup>†</sup>Chicco y Godoy (1996). <sup>§</sup>McDowell *et al.* (1982)

Cuadro 5. Concentraciones de Ca y P en tejido óseo de bovinos.

Fuente de variación		Ca		P	
		%†	mg/cm <sup>3</sup> hueso	%†	mg/cm <sup>3</sup> hueso
Época	Lluvia	19,2 ± 6,2	243,1 ± 69,8	9,4 ± 0,9	106,1 ± 30,3
	Sequía	23,2 ± 1,0	-	10,1 ± 0,5	-
Promedio		21,7 ± 4,1	243,1 ± 69,8	9,9 ± 0,7	106,1 ± 30,3
Valor crítico‡		24,5	250	11,5	120

† En base seca desgrasado

‡ McDowell *et al.* (1997)

P = 0,000). Soder y Stout (2003), en una prueba de fertilización de tres tipos de suelo, no encontraron asociación entre el contenido de P en forraje y suelo.

El nivel de K en el suelo se relacionó positivamente con su concentración en forraje ( $y = 0,008x + 0,6932$ ;  $R^2 = 0,448$ ;  $P = 0,001$ ). Soder y Stout (2003) encontraron asociación entre el contenido de este elemento en el suelo y la planta tanto por efecto de la fertilización como de su concentración inicial. Adicionalmente, los autores atribuyeron una correlación negativa entre suelo y forraje para Ca y Mg debido al aumento de potasio en suelo producto de la fertilización con excretas.

El pH del suelo mostró una relación positiva con el Mg del suelo ( $y = 41,959x - 74,623$ ;  $R^2 = 0,302$ ;  $P = 0,037$ ), mientras que su relación con la concentración del elemento en forraje fue negativa ( $y = 0,0444x + 0,5185$ ;  $R^2 = -0,373$ ;  $P = 0,009$ ).

Mayland y Wilkinson (1989) destacaron la inhibición que tiene el K sobre la translocación del Mg de la raíz hacia la parte aérea de la planta. Además señalan que en suelos ácidos, la utilización del Mg por las plantas es reducido por el K, Ca, Al, Mn y  $NH_4$ , por lo que, los requerimientos de Mg para una adecuada producción vegetal en suelos ácidos es mayor. Por otro lado, los mismos autores señalan que el aluminio intercambiable en suelo interfiere con la utilización de Ca y Mg más que del K, por lo que, se incrementa la relación  $K/(Ca + Mg)$ . Sin embargo, en este estudio no se encontró asociación negativa entre el contenido de K o Ca en suelo y Mg en forraje.

Sólo correlaciones positivas entre Ca y Mg, ambos en forraje ( $R^2 = 0,419$  y  $P = 0,003$ ) y entre K y Mg en suelo ( $R^2 = 0,581$  y  $P = 0,000$ ). Los valores de K en suelos de las diferentes sabanas (53 – 76 ppm) estuvieron por encima del valor crítico (37 ppm). La concentración de Mg en suelo presentó valores entre 128 y 207 ppm, siendo su valor crítico 15 ppm.

Las correlaciones en sequía fueron entre Ca y pH en suelo ( $R^2 = 0,789$ ;  $P = 0,000$ ), K en forraje y suelo ( $R^2 = 0,443$ ;  $P = 0,023$ ), Mg en forraje y pH del suelo ( $R^2 = 0,441$ ;  $P = 0,024$ ), P en forraje y suelo ( $R^2 = 0,799$ ;  $P = 0,000$ ) y a su vez estos con el pH del suelo ( $R^2 = 0,652$ ;  $P = 0,000$  y  $R^2 = 0,607$ ;  $P = 0,001$ , respectivamente).

En el periodo lluvioso se obtuvieron correlaciones entre Ca y pH en suelo ( $R^2 = 0,856$ ;  $P = 0,000$ ), P en forraje con el pH y P contenido en el suelo ( $R^2 = 0,484$ ;  $P = 0,023$  y  $R^2 = 0,589$ ;  $P = 0,004$ , respectivamente).

### Relación planta-animal

No se encontró asociación entre el contenido de elementos minerales en el forraje y su concentración en suero sanguíneo de los animales muestreados, excepto para el K ( $y = 0,921x + 20,458$ ;  $R^2 = 0,530$ ;  $P = 0,011$ ). Sin embargo, Lebdoesoekojo *et al.* (1980) reportaron en animales Cebú de los Llanos Orientales de Colombia pastoreando *Trachypogon* sp. y *Andropogon* sp., con y sin suplementación mineral completa, asociación ( $P < 0,05$ ) entre el contenido de P en forraje y el suero sanguíneo de vacas a finales de gestación y comienzos de lactación, con valores

de  $R^2$  de 0,67 y 0,66, respectivamente. Para el Ca los autores reportaron asociación entre su contenido en forraje y suero sanguíneo en los rebaños estudiados, con valores de  $R^2$  superiores a 0,9. Sin embargo, en el caso de Cu, Zn y Mg las correlaciones no fueron significativas. Cabe destacar que la metodología de muestreo de forrajes (hand-plucking) utilizada por Lebdoesoekojo *et al.* (1980) fue muy diferente a la utilizada en este estudio (marcos metálicos). En Venezuela, Chicco y French (1959) encontraron una correlación significativa para fósforo entre forraje y suero sanguíneo ( $R^2 = 0,65$ ;  $P < 0,02$ ) contrastando con lo datos de este estudio.

La falta de relación entre el contenido de la mayor parte de los elementos minerales en forraje y su concentración sérica puede ser debida a diversos factores entre los que destacan: i) fuertes mecanismos homeostáticos presentes en los animales que pueden mantener las concentraciones de los elementos a nivel sanguíneo, aun en estados dietéticos carenciales, ii) poca representatividad de las muestras de forraje tomadas respecto a lo que consume el animal y iii) uso de suplementos nutricionales (mezclas minerales, bloques multinutricionales y subproductos) en la dieta de los animales que pueden enmascarar estas asociaciones.

Similar situación a la determinada en este estudio se presentó al noreste de Zimbabwe, donde Fordyce *et al.* (1996) encontraron correlaciones significativas de microelementos tanto en suelo como en forraje. Sin embargo, no se presentaron correlaciones con el suero sanguíneo del ganado. Los autores sugieren que las altas concentraciones de Fe en el suelo y forraje inhiben la disponibilidad de P para las plantas, así como la absorción de Cu y Zn en el ganado, escenarios que también podrían presentarse en esta investigación.

### CONCLUSIONES

Los estudios minerales en fincas del municipio Pao del estado Cojedes mostraron deficiencias de P en el sistema suelo-planta-animal. Eventuales deficiencias de Ca fueron determinadas en algunos componentes (suero sanguíneo, hueso y forrajes en lluvias). Aun cuando en el forraje, algunos elementos, como el Cu, estuvieron en concentraciones ligeramente superiores al nivel crítico, otros como Fe, Mn y Zn fueron altos y pudieran estar ocasionando relaciones antagónicas. Por esta razón, la suplementación

mineral debe ser una práctica en vacunos a pastoreo en la zona de estudio sobre todo en las sabanas bien drenadas e intermedias. Sin embargo, para problemas particulares, determinaciones minerales adicionales en suelo-planta-animal podrían ser necesarias.

### LITERATURA CITADA

- Aldrich S. y E. Leng. 1974. Producción Moderna de Maíz. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- Álvarez J. 2001. Bioquímica Nutricional y Metabólica del Bovino en el Trópico. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. 14<sup>a</sup> ed. Washington, EUA
- Arriaga L., C. Chicco y G. Arriaga. 2001. Comportamiento productivo de vacas Brahman de primer servicio y primera lactancia con suplementación estratégica. *En* Romero R., J. Arango y J. Salomón (Eds.) XVII Cursillo sobre Bovinos de Carne. Fac. Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. pp. 35-61.
- Chicco C. y M. French. 1959. Observaciones sobre deficiencias de calcio y fósforo en los animales de las regiones ganaderas del Centro y Este de Venezuela. *Agronomía Trop.*, 9: 41 – 62.
- Chicco C. y S. Godoy. 1987. Suplementación mineral de bovinos de carne a pastoreo. *En* Plasse D., N. Peña de Borsotti y J. Arango (Eds.) III Cursillo sobre Bovinos de Carne. Fac. Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. pp. 47-103.
- Chicco C. y S. Godoy. 1996. Estrategias para la suplementación mineral de los bovinos de carne a pastoreo. *En* Plasse D., N. Peña de Borsotti, y J. Arango (Eds.) XII Cursillo sobre Bovinos de Carne. Fac. Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. pp. 27-43.
- Comerma J. 1968. Caracterización mineralógica de algunos suelos del occidente de Venezuela. *Agronomía Trop.*, 20(4): 227-247.
- Coraspe H. y S. Tejera. 1996. Procedimiento para la toma de muestras de suelos. FONAIAP Divulga,

54. Disponible en línea en <http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/FonaiapDivulga/fd54/suelos.htm> (Consulta: 2005, Junio)
- Fiske C. y Y. Subbarrow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375-400
- Fordyce F., D. Masara y J. Appleton. 1996. Stream sediment, soil and forage chemistry as indicators of cattle mineral status in northeast Zimbabwe. *Geological Soc. Special Pub.*, 113: 23-37.
- Kiatoko M., L. McDowell, J. Bertrand, H. Chapman, F. Pate, F. Martin y J. Conrad. 1982. Evaluating the nutritional status of beef cattle herds from four soil order regions of Florida. I. macrolelements, protein, carotene, vitamins a and e, hemoglobin and hematocrit. *J. Anim. Sci.*, 55: 28-37
- Lebdosoekojo S., C. Ammerman, N. Raun, J. Gomez y R. Littell. 1980. Mineral nutrition of beef cattle grazing native pastures on the eastern plains of Colombia. *J. Anim. Sci.*, 5: 1249 - 1260.
- Matteucci S. y A. Colma. 1982. Metodología para el Estudio de la Vegetación. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, EUA.
- Mayland H. y S. Wilkinson. 1989. Soil factors affecting magnesium availability in plant-animal systems: A review. *J. Anim. Sci.*, 67: 3437-3444.
- McDowell L., B. Bauer, E. Galdo y M. Koger. 1982. Mineral supplementation of beef cattle in the Bolivian tropics. *J. Anim. Sci.*, 55: 964 - 970.
- McDowell L., J. Conrad, G. Ellis y J. Loosli. 1984. Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales. Centro de Agricultura Tropical, Universidad de Florida y La Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. Gainesville, EUA.
- McDowell L., D. Morillo, C. Chicco, J. Perdomo, J. Conrad y F. Martin. 1989. Nutritional status of beef cattle in specific regions of Venezuela. II. Micromineral. *Nutritional Report Int.*, 40: 17-31.
- McDowell L., J. Velásquez-Pereira y G. Valle. 1997. Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales. 3<sup>ra</sup> ed. Universidad de Florida. Gainesville, EUA.
- Morillo D., L. McDowell, C. Chicco, J. Perdomo, J. Conrad y F. Martin. 1989. Nutritional status of beef cattle in specific regions of Venezuela. I. Macromineral and forage organic constituents. *Nutritional Report Int.*, 39: 1247-1262.
- Prestes D., A. Filappi, L. Finamor, A. Barcellos y M. Cecim. 2003. Níveis plasmáticos e ósseos de cálcio e fósforo em vacas de corte suplementadas e não suplementadas com minerais. *Arch. Vet. Sci.*, 8(1): 49-53.
- Soder K. y L. Stout. 2003. Effect of soil type and fertilization level on mineral concentration of pasture: Potential relationships to ruminant performance and health. *J. Anim. Sci.*, 81: 1603-1610.
- Tejos R. 1996. Muestreo, análisis e interpretación de suelo y plantas con fines forrajeros. Seminario "Alternativas para una mejor utilización de pastos cultivados" Asociación de Ganaderos de Carabobo. Valencia, Venezuela. pp. 1-9
- Tejos R. 1998. Fertilización estratégica de pasturas introducidas. *En Plasse D., N. Peña de Borsotti y R. Romero (Eds.) XIV Cursillo sobre Bovinos de Carne. Fac. Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Maracay. pp. 143-165.*
- Tiffany M., L. McDowell, G. O'Connor, F. Martin, N. Wilkinson, S. Percival y P. Rabiensky. 2002. Effects of residual and reapplied biosolids on performance and mineral status of grazing beef steers. *J. Anim. Sci.*, 80: 260-269.
- UNEX 2007. Lección 5. Propiedades del suelo. Propiedades físico químicas. Reacción del suelo. Universidad de Extremadura, España. Disponible en línea en: <http://www.unex.es/edafo/ECAP/ECAL5PFQReaccion.htm> (Consulta: 2007, Enero).
- Underwood J. 1981. Los Minerales en la Nutrición del Ganado. 2<sup>da</sup> ed. Editorial Acirbia, Zaragoza, España.
- Williams S., L. McDowell, A. Warnick, N. Wilkinson y L. Lawrence. 1991. Phosphorus concentrations in blood, milk, feces, bone and selected fluids and tissues of growing heifers as affected by

- dietary phosphorus. *Livest. Res. Rural Dev.*, 3(2). Disponible en línea en <http://www.lrrd.org/lrrd3/2/florida4.htm> (Consulta: 2007, Octubre)
- Wittwer F. 1994. Diagnóstico de desbalances metabólicos nutricionales en animales en producción. *En* Pérez T. y N. Martínez (Eds.) I Curso Nacional de Divulgación en Técnicas de RIA y Evaluación de Metabolitos Sanguíneos y Cinéticas Digestivas Relacionadas en la Nutrición y Reproducción en Bovinos. Organización Internacional de Energía Atómica. Proyecto ARCAL III “Inmunoanálisis en Producción y Salud de los Animales” Fac. Agronomía y Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Ministerio de Energía y Minas. Maracay, Venezuela.



## **Evaluación de la cantidad de leche vendible y total bajo diferentes modalidades de amamantamiento restringido en vacas doble propósito**

Karin Drescher, Jacqueline Saddy\* y Williams Uzcátegui

Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apartado 4579. Maracay 2101, Aragua. Venezuela. \*Correo electrónico: saddyj@agr.ucv.ve

---

### **RESUMEN**

Con la finalidad de cuantificar la leche vendible (LV), consumida por el becerro (CB), residual (LR) y total (LT), según diferentes modalidades de amamantamiento, se realizó un ensayo con 20 vacas de doble propósito (5/8 Holstein y 3/8 Brahman). El ensayo evaluó tres periodos de lactancia entre el parto y el destete, específicamente 30, 70 y 105 días después del parto (DDP). Los tratamientos aplicados fueron T1: Vacas de un parto (G1) con amamantamiento restringido post ordeño de la mañana (A1), T2: G1 con amamantamiento restringido post ordeño de la mañana y la tarde (A2), T3: Vacas de dos ó más partos (G2) con A1 y T4: G2 con A2. Los datos fueron analizados bajo un MANOVA para medidas repetidas en el tiempo. Los resultados indican un efecto ( $P<0,01$ ) atribuible al periodo de la lactancia (30, 70 y 105 DDP) sobre las variables LV (10,18; 8,42 y 6,67 kg leche/d) y LT (14,37; 12,36 y 10,61 kg leche/d), más no para CB y LR. La mayor producción para LT se obtuvo con el tratamiento T4 (15,39 kg/d) y la más baja con el tratamiento T2 (10,25 kg/d), evidenciando que el amamantamiento restringido post ordeño dos veces por día en vacas con dos o más partos representa una modalidad de amamantamiento restringido que incrementa la producción de leche en el sistema leche-carne, sin detrimento de las cantidades de leche disponibles para las crías, por lo cual su uso es efectivo en áreas tropicales.

*Palabras clave:* vacas doble propósito, amamantamiento restringido, número de ordeños por día, número de partos

---

### **Evaluation of different restricted suckling modality on saleable and total milk production in dual purpose cows**

#### **ABSTRACT**

With the aim to quantify variations on saleable milk (LV), milk consumed by the calf (CB), residual milk (LR), and total milk (LT) due to effect of restricted suckling modality an assay was conducted with 20 dual purpose cows (5/8 Holstein and 3/8 Brahman). Three post partum periods between calving and weaning: 30, 70, and 105 days (DDP) were evaluated. Treatments were T1: Primiparous cows (G1) with restricted suckling after morning milking (A1), T2: G1 with restricted suckling after morning and afternoon milking (A2), T3: Multiparous cows (G2) with A1, and T4: G2 with A2. The data were analyzed by MANOVA for repeated measures in time. The results indicate an effect ( $P<0.01$ ) attributable to the period of sampling (30, 70, and 105 DDP) for LV (10.18, 8.42 and 6.67 kg milk/d) and LT (14.37, 12.36 and 10.61 kg milk/d), but not for CB or LR. The highest production was for LT in T4 (15.39 kg/d) and the lowest in T2 (10.25 kg/d). These results demonstrate the beneficial effect due to milking and restricted suckling management. Twice restricted suckling per day improved saleable and total milk production both in primiparous than multiparous cows. Its management produces benefits for milk production by the dual purposes system, and its use is effective in tropical areas.

*Keywords:* dual purpose cattle, restricted suckling, milking per day, primiparous and multiparous cows

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de leche con vacunos en América Latina tropical han sido tradicionalmente de doble propósito (Preston, 1976). La producción vacuna en Venezuela se desarrolla en una elevada proporción (90%) en sistemas donde predomina la producción de leche o carne, de acuerdo a la modalidad productiva (Montilla, 1992). Sin embargo, aún en aquellos de orientación hacia la producción de leche, el promedio de producción se ubica en apenas 4 a 6 kg vaca /d (Vaccaro, 1989; Durán y García, 2000).

La producción de leche es dependiente del tipo de animal, raza, edad, estado de nutrición, preñez y manejo general (Combellas, 1998). Pérez y Gómez (2005) señalan que el incremento la producción lechera de cada animal varía con el número de lactancias o partos, siendo esta mayor en vacas de varias lactancias debido a un mayor desarrollo tanto corporal como del tejido secretor de la glándula mamaria. Así también, el manejo del ordeño de la vaca de estos sistemas, el cual incluye el uso del becerro para producir el estímulo de la eyección láctea en el ordeño de la vaca y extraer la leche no ordeñada a través del amamantamiento restringido (Preston y Leng, 1989) representan factores de gran importancia de estudio en condiciones tropicales.

Cuando se realiza un ordeño incompleto por falta de estímulo para la bajada de la leche, cuando se ordeña lentamente o hay interrupciones y pasa el tiempo del estímulo hormonal, o cuando el animal es nervioso y se muestra intranquilo, hay disminución o cese de la bajada de leche quedando una porción de leche en la ubre que puede llegar a constituir más de 20% (Roldán *et al.*, 2000). En consecuencia, garantizar un ambiente confortable para el animal es primordial para la máxima eyección láctea, la cual entonces está determinada por la cantidad y tiempo de acción de la oxitocina (Sagi *et al.*, 1980; Bruckmaier y Blum, 1998) ya que la leche no removida afecta negativamente el nivel de producción, duración de la lactancia e incidencia de mastitis (Schmidt, 1971).

Estudios realizados en la década de los 70 señalan que el amamantamiento restringido de la vaca posterior al ordeño permite un mejor vaciado de la ubre, ya que el becerro remueve la leche residual, lo que induce una mayor secreción por la glándula (Schmidt, 1971; Bar-Pelled *et al.*, 1995; Samuelsson, 1996) y a su vez facilidad de eyección de la leche

en el ordeño (Bar-Pelled *et al.*, 1995; Samuelsson, 1996) trayendo como consecuencia un aumento en producción de leche vendible y total (Combellas y Tesorero, 2003). Sin embargo, se desconocen trabajos que hayan cuantificado si la glándula mamaria después del ordeño más amamantamiento restringido se ha vaciado por completo o permanecen aún cantidades importantes de leche no aprovechada en estos vacunos mestizos.

El presente trabajo tuvo la finalidad de evaluar las cantidades de leche vendible, consumida por el becerro, residual y total, en base a diferentes modalidades de amamantamiento restringido aplicados a vacas de doble propósito de diferentes número de parto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación

Se realizó un experimento, durante los meses de mayo a diciembre del 2002, con vacas doble propósito (5/8 Holstein y 3/8 Brahman), pertenecientes al rebaño del Laboratorio Sección Bovinos del Instituto de Producción Animal (10° 17' N, 67° 37' O; 455 msnm), Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, ubicado en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Las características climáticas reportaron valores promedios de temperatura media de 27,8°C, humedad relativa 72% y precipitación 970 mm durante los días del ensayo.

### Manejo

Las vacas tuvieron dos ordeños diarios (6:00 AM y 4:00 PM) con la presencia del becerro. En cada ordeño se ofreció 1,5 kg de un suplemento alimenticio comercial. El consumo de gramíneas, en función del manejo, se realizó a través del pastoreo diurno (9:00 AM a 3:00 PM), en potreros con predominio de *Cynodon nlemfuensis* y adicionalmente (6:00 PM y 5:30 AM) se les suministró pasto de corte *C. nlemfuensis* en corrales colectivos donde adicionalmente se disponía de agua a voluntad. Los animales cambiaron de potrero en un promedio de tres a cinco días, de acuerdo a la dimensión del potrero y características del pasto. Los becerros permanecieron estabulados en puestos individuales de 1,5 m de ancho x 3 m de largo, hasta el destete. Además del consumo de leche de acuerdo al tratamiento, se les ofreció diariamente 1 kg de un suplemento alimenticio y pasto de corte de *C. nlemfuensis ad libitum*.

Todos los animales cumplieron con los planes sanitarios rutinarios de prevención y control de enfermedades infecto contagiosas que pudieran alterar los resultados del ensayo. Para tal fin se utilizaron los servicios profesionales del Médico Veterinario adscrito al Instituto de Producción Animal.

### Tratamientos

Se establecieron tres periodos de evaluación: 30, 70 y 105 días después del parto (DDP), correspondientes a tres etapas distintas en la curva de lactancia, las cuales, a su vez, fueron subdivididos en sub-periodos de 5 días consecutivos de medición para evaluar las distintas variables. Un total de 20 vacas fueron distribuidas, de acuerdo a los factores a estudiar, en dos grupos: vacas de un parto (G1) y vacas de dos o más partos (G2). Estos grupos, a su vez, fueron subdivididos en otros dos grupos, de acuerdo a la modalidad de amamantamiento: amamantamiento post ordeño de la mañana (A1) y amamantamiento post ordeño de la mañana y la tarde (A2), para un total de cuatro tratamientos identificados de la siguiente manera: T1: G1 y A1, T2: G1 y A2, T3: G2 y A1 y T4: G2 y A2. Cada grupo contó con 5 animales experimentales.

Las madres pasaron a corrales individuales después del ordeño en la cual los grupos A1 y A2 amantaron a sus crías por 30 min en cada caso. Luego del amamantamiento de la mañana fueron llevadas a pastoreo y sus crías permanecieron en los puestos individuales.

### Mediciones

#### En el alimento

Se evaluó la biomasa forrajera presente en los potreros, antes de introducir los animales en la rotación respectiva, a través del método de la cuadrícula (Mc Intyre, 1978), utilizando muestreos destructivos con un rectángulo de 50 x 50 cm. Las muestras (seis por potreros) se secaron individualmente (estufa a 60°C y 48 h) para realizar las estimaciones de biomasa presente (kg MS/ha). Se molieron individualmente, en criba de 1 mm, y se conformó una sola muestra, la cual fue analizada bromatológicamente (materia seca, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, calcio y fósforo) para su caracterización, conjuntamente con la muestra de suplemento alimenticio comercial. Todo el procedimiento fue

realizado por el Laboratorio de Nutrición Animal del Instituto de Producción Animal.

#### En los animales

Diariamente durante los periodos de evaluación, se registraron las siguientes variables:

Producción de leche vendible (LV) en cada ordeño: Leche vendible de la mañana (LVam), leche vendible de la tarde (LVpm) y leche vendible total (LV = LVam + LVpm).

Leche consumida por el becerro (CB), a través del método del doble pesaje (antes y después del amamantamiento para estimar el consumo de leche por diferencia de peso) en balanza electrónica. Dependiendo del tratamiento el valor fue un único valor (A1) o la suma de dos valores (A2), así los valores parciales de la leche consumida por el becerro en la mañana (CBam) y la leche consumida por el becerro en la tarde (CBpm) conformaron la fracción leche total consumida por el becerro (CB = CBam + CBpm).

Leche residual (LR) post amamantamiento. Posterior al manejo de ordeño y amamantamiento se aplicó una dosis intramuscular de 30 UI de oxitocina en todas las vacas, durante los cinco días de evaluación y en el ordeño de la tarde del día previo, en ambos casos para remover la leche residual que quedó en la glándula mamaria y garantizar el efecto de los tratamientos sobre la síntesis, evaluando LRam: Leche residual de la mañana y LRpm: Leche residual de la tarde y leche residual total (LR = LRam + LRpm).

Leche total (LT) correspondió a la sumatoria de los valores parciales de las fracciones evaluadas : LV + CB + LR

Al parto las vacas fueron pesadas (Balanza Bizerra 1.500 kg) y evaluada la condición corporal (Escala NIRD 1-5) (Broster y Broster, 1998; Fattet y Jaurena, 1988), como variables referenciales para evitar efectos sobre los tratamientos.

### Diseño experimental

El modelo estadístico general multivariante (Chacín, 1998) aplicado en el experimento se detalla a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_j + \varepsilon_{ijk} \text{ con } \varepsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$$

donde:

$Y_{ijk}$  = Valor de la observación del  $i$ -ésimo tratamiento en el  $j$ -ésimo periodo.

$\mu$  = media general

$\alpha_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento ( $i=1,2,\dots,4$ )

$\delta_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo periodo ( $j=1,2,\dots,5$ )

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto debido al error aleatorio del  $i$ -ésimo tratamiento en el  $j$ -ésimo periodo

El modelo es la resultante de una serie de modelos parciales para cada periodo (30, 70 y 105 días) y sub-periodos (del día 1 al 5 días dentro de cada período). Inicialmente los datos parciales de cada sub-período debieron analizarse mediante un análisis de medidas repetidas en el tiempo. Una vez comprobada la inexistencia de efecto del día de aplicación de tratamiento ( $P>0,05$ ) sobre las respuestas productivas en producción de leche se seleccionó el valor más representativo (moda) para cada repetición y con esto se construyó la matriz de datos necesaria para aplicar nuevamente el análisis de medidas repetidas en el tiempo y comparar los periodos de lactancia (30, 70 y 105 días). La importancia de realizar el análisis parcial por sub-periodos y por periodos de la lactancia radicó en la presunción del efecto del día de aplicación del producto (en los sub-periodos) y de la etapa de la lactancia (en los periodos) sobre las variables en estudio, así como la selección del modelo estadístico capaz de explicar biológicamente mejor los resultados obtenidos.

La caracterización de los recursos alimenticios se realizó a través de un análisis descriptivo, calculando el valor de la media mensual y su desviación estándar para la biomasa presente (kg MS/ha). Para la composición bromatológica de las muestras de pastos y del suplemento alimenticio utilizado se conformó un único pool para su caracterización.

En la evaluación de las variables relacionadas a la producción de leche (LV, CB, LR y LT) se aplicó un análisis multivariado (MANOVA) para medidas repetidas en el tiempo (Chacín, 1998; Bruckmaier, 2003), a través del paquete estadístico SAS (SAS, 1999). Este análisis resultó el más apropiado, debido a que las mediciones siempre se realizaron sobre la misma unidad experimental (vaca), donde la aleatorización sólo se aplicó para la asignación inicial de los tratamientos, por lo que se presume inicialmente que las respuestas encontradas en cada

unidad experimental están altamente correlacionadas (Chacín, 1998; Littell *et al.*, 1998; Gil, 2001). Además, de acuerdo a Wilcox *et al.* (1999) y Bruckmaier (2003), este es el tipo de análisis más ajustado para los estudios en fisiología y endocrinología.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### En el alimento

El valor promedio de la biomasa forrajera presente en los potreros de pastoreo fue 2.905 kg MS/ha, la cual se considera adecuada, ya que estuvo por encima del valor crítico de 2.000 kg MS/ha señalado por Minson (1990) ó de 1.000 – 1.500 kg MS/ha indicado por Noy-Meir (1975) y González (2002). El promedio de biomasa forrajera a entrada y salida de los potreros fue 2.974 y 2.833 kg MS/ha, respectivamente. Los resultados obtenidos en relación a la composición química de los alimentos utilizados (pasto y suplemento alimenticio) se presentan en el Cuadro 1. Debido a que las cantidades de forrajes disponibles y la composición bromatológica de los alimentos utilizados estuvieron dentro de los parámetros alimenticios y nutricionales recomendados para producción de leche con vacas de doble propósito de mediano potencial genético (Combellas, 1998) no se consideró éste como un factor limitante para afectar la expresión de los efectos de los tratamientos sobre las variables evaluadas.

### En los animales

Las variables relacionadas con grado de reservas corporales, tales como peso y condición corporal al parto, al ser estadísticamente iguales ( $P>0,05$ ) a inicio del experimento se consideraron con igual efecto sobre los tratamientos evaluados (Broster y Broster, 1998; Jerez, 2002). El promedio de pesos y condición corporal al parto fue 457,6 kg y 2,75, respectivamente. Los valores promedios por grupo animal, es decir, de acuerdo al número de partos se aprecian en el Cuadro 2, donde también se incluyen los valores de la edad promedio y desviación estándar por tratamiento, siendo el valor global 56,8 meses. Específicamente, en el caso de los valores obtenidos para edad de las vacas de primer parto, éstos se encuentran dentro de los descritos por Hahn (1988) y Noguera *et al.* (1994) con 54,9 y 44 meses, respectivamente, a nivel nacional y de rebaños cruzados en el Sur del Lago de Maracaibo.

Cuadro 1. Composición química de los alimentos utilizados en la alimentación de animales, bajo diferentes modalidades de amamantamiento de vacas doble propósito.

Muestra	MS†	Ce	PC	FC	EE	Ca	P
	----- % -----						
Suplemento	88,52	7,78	18,01	4,50	7,30	1,44	0,57
Pasto	32,85	8,95	6,28	36,87	3,26	0,33	0,32

† MS: materia seca, Ce: cenizas, PC: proteína cruda, FC: fibra cruda, EE: extracto etéreo, Ca: calcio, P: fósforo.

Cuadro 2. Promedios y desviación estándar de edad, peso al parto y condición corporal al parto de las vacas utilizadas en el presente ensayo.

Tratamiento†	Edad mes	Peso al parto kg	Condición corporal
T1	36,48 ± 2,71	436,60 ± 14,66	2,75
T2	35,64 ± 0,99	445,20 ± 43,69	2,75
T3	91,32 ± 39,59	488,75 ± 27,17	2,75
T4	74,04 ± 4,06	468,25 ± 44,86	2,75

† T1: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño de la mañana (A1), T2: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño post ordeño de la mañana y la tarde (A2), T3: Vacas de dos o mas partos con A1 y T4: Vacas de dos o mas partos con A2.

Al analizar el efecto de los tratamientos sobre las variables de producción de leche, el MANOVA mostró la existencia de diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ) en cada periodo de la lactancia evaluado, es decir, 30, 70 y 105 días después del parto para LV y LT (Cuadro 3). En relación a LV, se observaron valores promedios generales para LVam de 6,62; 5,96 y 4,86 kg leche/d y para LVpm de 3,56; 2,46 y 1,82 kg leche/d a los 30, 70 y 105 días después del parto, respectivamente. Diversos autores han realizado estudios de la cuantificación de la leche vendible total con amamantamiento restringido después del ordeño en animales cruzados, reportando valores que oscilan entre 6,7 kg/d (Tesorero *et al.*, 2001), 7,7 kg/d (Combellas y Tesorero, 2003) y 4,8 kg/d (Drescher *et al.*, 2007). Las grandes variaciones observadas se deben a los múltiples factores que afectan la producción de leche; sin embargo, los valores obtenidos en el

presente trabajo concuerdan dentro de los señalados y muchos otros en diversas condiciones tropicales (Bar-Pelled *et al.*, 1995; Sandoval *et al.*, 2000).

En todos los periodos de evaluación, la mayor producción de leche, tanto en la fracción LV como en LT, se presentó en T4, caso opuesto en T2, el cual fue el más afectado en relación a LV. La mayor cantidad de leche fue la obtenida en el ordeño de la mañana, lo cual pudo deberse probablemente a dos factores: intervalo entre ordeños o temperaturas ambientales al momento del ordeño. En el primer caso, el intervalo entre ordeño del experimento fue diferente para la mañana y la tarde, siendo de 14 y 10 horas, respectivamente, lo que permite mayor tiempo para la secreción por parte de los alveolos mamarios, lo cual incrementa la leche contenida en la glándula mamaria (Schmidt, 1971; Bruckmaier, 2003; Combellas y Tesorero, 2003). Las temperaturas ambientales afectan

Cuadro 3. Cantidad de leche vendible, consumida por el becerro, residual y total en los periodos de lactancia de 30, 70 y 105 días después del parto.

Variable	Días después del parto			Sign.
	30	70	105	
Leche vendible total, kg/d	10,18 ± 2,50a†	8,42 ± 3,04ab	6,67 ± 2,35b	0,001
Leche consumida por becerro total, kg/d	2,80 ± 2,05	2,75 ± 1,89	2,84 ± 2,39	NS
Leche residual total, kg/d	1,69 ± 1,01	1,49 ± 0,98	1,41 ± 0,99	NS
Leche total, kg/d	14,37 ± 3,78a	12,6 ± 4,36ab	10,61 ± 4,01b	0,001

† Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre promedios ( $P < 0,001$ ). NS: No Significativo

la producción de leche, básicamente por el mayor confort animal, cuando hay menores temperaturas (Gallardo y Valtorta, 2000; Valle, 2007). Todas las vacas, independientemente del tratamiento obtuvieron su máximo de producción a inicio de la lactancia (30 DDP). Esto ha sido citado en la literatura tanto para animales de alta producción Schmidt (1971), como para animales mestizos (Jerez, 2002; Combellas y Tesorero, 2003), siendo que en estos últimos pareciera siempre presentarse mas tempranamente, tal como ocurrió en esta experiencia. Valores de las diferentes fracciones en los periodos evaluados se aprecian en el Cuadro 4.

Las variables CB y LR no presentaron diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) en ningún período. Se observaron valores de 2,10; 2,22 y 2,13 kg leche/d para CBam, 1,58; 1,51 y 1,92 kg leche/d para CBpm, 0,75; 0,54, 0,39 para LRam y 0,95; 0,96 y 1,01 para LRpm a los 30, 70 y 105 DDP, respectivamente. Los valores de CB concuerdan con los citados en la literatura (Preston y Leng, 1989; Combellas y Tesorero, 2003); sin embargo, si se considerase solo el amamantamiento restringido de la tarde, estos serían muy bajos para obtener las ganancias de peso de las crías esperables en un sistema de doble propósito. En cuanto a los valores de leche residual, no existe en la literatura tropical ninguna referencia al respecto. Valores similares han sido reportados por Bruckmaier (2003) en vacas Pardo Suizas, manejadas en sistemas especializados europeos, donde no existe el amamantamiento restringido. La remoción de la leche de la glándula mamaria, a través de la aplicación de oxitocina para cuantificar la LR no fue estadísticamente relevante ( $P > 0,05$ ) en ninguno de

los periodos evaluados, ni a causa de algunos de los tratamientos. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que una proporción de leche cercana a los 156 kg/vaca en un lapso de 90 días no es extraída de la ubre, afectando ligera pero negativamente el nivel de producción y la persistencia de la lactancia (Schmidt, 1971), ocasionando pérdidas económicas para el productor. Estudios que tiendan a mejorar el ordeño y la remoción de leche profundamente son necesarios en estos animales de doble propósito.

En cuanto al número de partos, los datos obtenidos coinciden con los reportados por Pérez y Gómez (2005), al observar que la producción de leche aumenta gradualmente con la edad, siendo que las vacas con un mayor número de lactancias producen mayores cantidades de leche. Así, el solo hecho del cese del crecimiento que se presenta en el animal adulto, dirigirá los nutrientes disponibles directamente hacia la mayor síntesis láctea, apoyado en el desarrollo pleno de la glándula mamaria de la vaca adulta que garantiza una mayor cantidad de tejido secretor (Pérez y Gómez, 2005). El estudio demostró que, según la etapa de la lactancia, se pueden esperar incrementos en producción de leche desde 25% (30 DDP) hasta 82% (105 DDP), según el tratamiento de evaluación, siendo siempre que los tratamientos T3 y T4, produjeron la mayor cantidad de leche (Cuadro 5).

El alcance de este trabajo no permite dilucidar exactamente los mecanismos implicados en las respuestas anteriormente descritas; sin embargo, una aproximación puede derivarse de los trabajos de Wakerley *et al.* (1994), Bar Pelled *et al.* (1995) y

Cuadro 4. Cantidad de leche vendible (LV), de acuerdo a la modalidad de amamantamiento, aplicado a vacas doble propósito, según los días después del parto (DDP).

LV‡	DDP	Tratamiento†				Sign.
		T1	T2	T3	T4	
	d	----- kg -----				
LVam	30	6,71 ± 0,67ab§	5,10 ± 0,67b	7,25 ± 0,75ab	7,75 ± 0,75a	*
	70	5,06 ± 0,84bc	3,66 ± 0,84c	8,86 ± 0,94a	7,05 ± 0,94ab	*
	105	4,31 ± 0,58bc	3,46 ± 0,58c	6,39 ± 0,65a	5,73 ± 0,65ab	*
LVpm	30	3,44 ± 0,35ab	2,79 ± 0,35b	3,87 ± 0,39ab	4,37 ± 0,39a	*
	70	2,05 ± 0,44	2,28 ± 0,44	2,72 ± 0,49	2,94 ± 0,49	NS
	105	1,05 ± 0,47	2,17 ± 0,47	1,99 ± 0,52	2,15 ± 0,52	NS
LVT	30	10,16 ± 0,93ab	7,89 ± 0,93b	11,13 ± 1,04a	12,13 ± 1,04a	*
	70	7,11 ± 0,98bc	5,95 ± 0,98c	11,58 ± 1,10a	10,00 ± 1,10ab	**
	105	5,37 ± 0,94	5,64 ± 0,94	8,39 ± 1,05	7,89 ± 1,05	NS

† T1: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño de la mañana (A1), T2: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño post ordeño de la mañana y la tarde (A2), T3: Vacas de dos o mas partos con A1 y T4: Vacas de dos o mas partos con A2.

‡ LVam: Leche vendible ordeño de la mañana, LVpm: Leche vendible ordeño de la tarde y LVT: Leche vendible total.

§ Valores con diferentes letras en la misma fila representan diferencias estadísticamente diferentes (\*\* indican  $P < 0,01$  y \* indica  $P < 0,05$ ). NS: No significativo

Cuadro 5. Cantidad de leche total producida, de acuerdo a la modalidad de amamantamiento, aplicado a vacas doble propósito, según los días después del parto (DDP).

DDP	Tratamiento†				Sign.
	T1	T2	T3	T4	
	----- kg -----				
30	12,66 ± 1,53a‡	12,50 ± 1,53a	15,70 ± 1,71a	17,51 ± 1,71a	NS
70	9,88 ± 1,44b	9,36 ± 1,44b	16,83 ± 1,61a	14,75 ± 1,61a	**
105	7,63 ± 1,43c	8,89 ± 1,43bc	13,19 ± 1,60ab	13,91 ± 1,60a	*

† T1: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño de la mañana (A1), T2: Vacas de un parto con amamantamiento restringido post ordeño post ordeño de la mañana y la tarde (A2), T3: Vacas de dos o mas partos con A1 y T4: Vacas de dos o mas partos con A2.

‡ Valores con diferentes letras en la misma fila representan diferencias estadísticamente diferentes (\*\* indica  $P < 0,01$  y \* indica  $P < 0,05$ ). NS: No significativo.

Samuelson (1996) donde se describen factores físicos, como la disminución de la presión intramamaria y químicos como la mayor producción de hormonas lactogénicas y metabólicas que se presentan en aquellas vacas con mayor frecuencia de amamantamiento restringido.

## CONCLUSIONES

Los análisis de evaluación de la cantidad de leche vendible y total, bajo diferentes modalidades de amamantamiento en vacas de doble propósito mostraron diferencias entre los periodos de evaluación a los 30, 70 y 105 días después del parto. Se observó

que las vacas adultas con amamantamiento restringido dos veces por día manifestaron los mejores valores para el sistema, ya que hubo más leche vendible y total, sin afectar la disponibilidad de consumo para las crías. Se considera una metodología de trabajo sencilla que incrementaría las ganancias económicas a los productores en el trópico.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por el financiamiento otorgado para el desarrollo del trabajo. A los señores Delfín Perozo y Benito Naranjo por el apoyo brindado en la ejecución del mismo.

### LITERATURA CITADA

- Bar-Pelled, U., E. Maltz, I. Bruckental, Y. Folman, Y. Kali, H. Gacitua, A. Lehrer, C. Knight, B. Robinson, H. Voety H. Tagari. 1995. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 79(12): 2726-2736
- Broster W. y V. Broster. 1998. Body score of dairy cows. Review Article. *J. Dairy Res.*, 65(1): 155-173
- Bruckmaier R. 2003. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 70(1): 123-126.
- Bruckmaier R. y J. Blum. 1998. Oxytocin release and milk removal in ruminants. *J. Dairy Sci.*, 81(4): 939-949.
- Chacín F. 1998. Experimentación en cultivos perennes. Tesis Doctoral. Doctorado en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Combellas J. y M. Tesorero. 2003. Cow-calf relationship during milking and its effect on milk yield and calf live weight gain. *Livest. Res. Rural Devel.*, 15(3). Disponible en línea en <http://www.lrrd.org/lrrd15/3/comb153.htm>. Consultado: 17 Abril 2008.
- Combellas J. 1998. Alimentación de la Vaca de Doble Propósito y de sus Crías. Ed. Inlaca. Venezuela.
- Drescher K., N. Martínez, L. Pinto Santini, A. Ruiz, C. Domínguez, N. Jerez y M. Benezra. 2007. Nivel de alimentación y condición corporal al parto sobre la producción de leche en vacas cruzadas *Bos taurus x Bos indicus*. XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA. *Arch. Latin. Prod. Anim.*, 15(Supl.1): 352-353.
- Durán G. y M. García. 2000. Caracterización de la producción lechera de 30 fincas ubicadas en el Valle de Aroa, Estado Yaracuy. *Gaceta Cien. Vet. UCLA*, 6(1-2): 15-21.
- Fattet I. y M. Jaurena. 1988. El Estado Corporal de las Vacas Lecheras. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- Gallardo M. y S. Valtorta. 2000. Estrategias para mejorar la producción de leche en verano. *Rev. Producir* XX1, 9(110): 23.
- Gil J. 2001. Comparación de los procedimientos GLM y MIXED del SAS para analizar diseños de parcelas divididas con bloques al azar. *Zootecnia Trop.*, 19(1): 43-58.
- González A. 2002. Suplementación con cama de pollo, melaza y aceite crudo de palma Africana (*Eleais guinensis*) en vacas de un parto. Tesis de Maestría en Producción Animal. Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Univ. Central Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Hahn M. 1988. Evaluación económica de los cruzamientos en la ganadería de doble propósito. En González Stagnaro C., N. Madrid Bury y E Soto Belloso (Eds.) *Mejora de la Ganadería de Doble Propósito*. Ed. Astro Data. Maracaibo. Venezuela. pp. 107-119.
- Jerez W. 2002. Evaluación de características productivas y reproductivas de un rebaño doble propósito, ubicado en el Municipio Rafael Urdaneta del estado Aragua. Tesis de Grado. Ingeniero Agrónomo. Fac. Agronomía. Univ. Central Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Littell R., P. Henry y C. Amerman. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.*, 76: 1216 - 1231.
- McIntyre G. 1978. Statistical aspects of vegetation sampling. En T'Mannetje L. (Ed.) *Measurement*

- of Grassland Vegetation and Animal Production. CSIRO. Bol. 52. CAB. Australia. pp 8-21.
- Minson D. 1990. Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press. San Diego, EUA.
- Montilla J. 1992. Ganadería mestiza de doble propósito. Prólogo. *En* González Stagnaro C. (Ed.) Ganadería Mestiza de Doble Propósito. Universidad del Zulia. Fusagri. GIRARZ. Maracaibo, Venezuela. pp. 11-14.
- Noguera E., O. Abreu, R. Azócar y R. Acosta. 1994. Comportamiento productivo de un rebaño mestizo indefinido en el sur del lago de Maracaibo. *Zootecnia Trop.*, 12(1): 99-114.
- Noy-Meir I. 1975. Stability of grazing systems: an application of predator prey grass. *J. Ecology*, 63: 459-481.
- Pérez G. y M. Gómez. 2005. Factores genéticos y ambientales que afectan el comportamiento productivo de un rebaño pardo suizo en el trópico. 1: Producción de leche. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 15(2): 141-147.
- Preston T.R. 1976. Prospects for the intensification of cattle production in developing countries. *En* Smith A.J. (Ed.) Beef Cattle Production in Developing Countries. Univ. Edinburgh Press, Edinburgh. Escocia. pp. 242 - 257.
- Preston T. y R. Leng. 1989. Ajustando los sistemas de producción a los recursos disponibles. *Consultorías para Desarrollo Rural Integrado en el Trópico*. Cali. Colombia.
- Roldán A., P. Perdomo, G. Sánchez y M. Ramírez. 2000. Tecnificación del sistema de producción ganadera de doble propósito en el trópico alto andino colombiano: amamantamiento restringido. *Livest. Res. Rural Devel.*, 12(2): <http://www.lrrd.org/lrrd12/2/rol122.htm>
- SAS. 1999. SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, EUA.
- Sagi R., R. Gorewit y D. Wilson. 1980. Role of exogenous oxytocin in eliciting milk ejection in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 6(12): 2006-2011.
- Samuelsson B. 1996. The influence of management routines on endocrine systems involved in the control of lactation in dairy cattle. Tesis Doctoral. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*. Uppsala, Suecia.
- Sandoval C., S. Anderson y J. Leaver. 2000. Production responses of tropical crossbred cattle to supplementary feeding and to different milking and restricted suckling regimes. *Livest. Prod. Sci.*, 66: 13-23.
- Schmidt G. 1971. *Biología de la Lactación*. Acribia. Zaragoza. España.
- Tesorero M., J. Combellas, W. Uzcátegui y L. Gabaldón. 2001. Influence of suckling before milking on yield and composition of milk from dual purpose cows with restricted suckling. *Livest. Res. Rural Devel.*, 13(1): <http://www.lrrd.org/lrrd13/1/teso131.htm>.
- Vaccaro L.P. 1989. *Sistemas de producción bovina predominantes en el trópico latinoamericano*. *En* Arango Nieto L., A. Charry y R. Vera (Eds.) *Panorama de la Ganadería de Doble Propósito en la América Tropical*. ICA - CIAT. Bogotá, Colombia. pp. 29 - 43.
- Valle A. 2007. *Bioclimatología Tropical*. Vacuno. Imgraphic. Maracay, Venezuela.
- Wakerley J., G. Clarke y A. Summerlee. 1994. Milk ejection and its control. *En* *The Physiology of Reproduction*. 2<sup>da</sup> ed. Raven Press. New York. EUA. pp. 1131 - 1177.
- Wilcox C., W. Thacher y F. Martin. 1999. Statistical analysis of repeated measurements in physiology experiments. *Florida Agric. Exp. Sta. Series No. 9552*. Gainesville, EUA.



## Estimación de algunos parámetros genéticos de crecimiento en la raza Guzerat en México

Juan C. Martínez González<sup>1\*</sup>, Froylán A. Lucero Magaña<sup>1</sup>,  
Sonia P. Castillo Rodríguez<sup>1</sup> y Eligio Ortega Rivas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>División de Estudios de Postgrado e Investigación, Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias. Universidad Autónoma de Tamaulipas. CP 87149. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. \*Correo electrónico: jmartinez@uat.edu.mx

<sup>2</sup>Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México.

---

### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue estimar algunos parámetros genéticos de características de crecimiento en el ganado de la raza Guzerat. Se utilizó la información de 905 becerros de registro en prueba de control de desarrollo ponderal inscritos en la Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Los becerros fueron pesados cada  $90 \pm 10$  días desde su nacimiento hasta los 18 meses de edad. Se destetaron aproximadamente a los ocho meses de edad. Las variables peso al nacer (PN), al destete ajustado a 205 días (PDA), al año (P365) y a los 550 días (P550) fueron evaluadas con un modelo animal a través del conjunto de programas MTDFREML considerando como efectos fijos el grupo contemporáneo (año y época de nacimiento y sexo), así como rancho y edad de la vaca como covariable (lineal y cuadrática) y como efectos genéticos, animal, semental y vaca. Las medias generales para PN, PDA, P365 y P550 fueron 30,7; 174,8; 251,6 y 332,5 kg, respectivamente. Mientras que los índices de herencia para PN, PDA, P365 y P550 fueron 0,23; 0,53; 0,41 y 0,52, respectivamente. Se concluye que los índices de herencia fueron altos, excepto para PN, lo que sugiere que existen variaciones genéticas aditivas que pueden ser aprovechadas para establecer programas de mejoramiento genético de PD, P365 y P550.

*Palabras clave:* Guzerat, modelo animal, parámetros genéticos, crecimiento.

---

### Estimate of some genetic parameters of growth in Guzerat breed in Mexico

### ABSTRACT

The objective of this study was to estimate some genetic parameters of traits growth in Guzerat breed. Data from 905 calves were used, which were in test of control of development pondered, and registered in the Mexican Association of Zebu Breeders. The calves were weighed at  $90 \pm 10$  days from birth until 18 months of age. They were weaned approximately at the eight month of age. The variables studied were birth weight (BW), weaning weight adjusted to 205 days (WWA), one year weight (W365), and weight to 550 days (W550), and evaluated with an animal model through the set of programs MTDFREML considering as fixed effects the contemporary group (year and season birth and sex), ranch, and age of the cow (lineal and quadratic, covariable). The genetic effects were animal, sire, and cow. The general means for BW, WWA, W365, and W550 were 30.7, 174.8, 251.6, and 332.5 kg, respectively. The heritability for BW, WWA, W365, and W550 were 0.23, 0.53, 0.41, and 0.52, respectively. We concluded that effects genetic are important in the WWA, W365, and W550 characteristics.

*Keywords:* Guzerat, animal model, genetic parameters, growth.

## INTRODUCCIÓN

En México, las zonas con clima cálido (húmedo y subhúmedo) abarcan 27,7% del territorio nacional (INEGI, 2007), las cuales juegan un papel importante en la producción de carne y leche (Magaña *et al.*, 2006). Las condiciones ambientales en estos climas dificultan la producción animal principalmente del ganado bovino de origen europeo (*Bos taurus*), destacando el ganado cebú (*Bos indicus*) por sus características de adaptación (Chapellín, 1999; De Souza *et al.*, 2003).

El ganado de la raza Guzerat, también conocido como Guzerá en Sudamérica y Kankrej en su país de origen, es el resultado de seleccionar animales para producción de carne y leche (AMCC, 1996) y se adapta fácilmente a una gran gama de ambientes y climas (Chapellín, 1999). Es un ganado rústico de cuerpo vigoroso, pecho amplio, lomo recto y giba desarrollada. El color predominante en el macho es el ceniza plateado, ceniza de acero y hasta casi negro, los cuartos delanteros y traseros son siempre más oscuros que el resto del cuerpo y las hembras son ligeramente más claras que los machos (AMCC, 1996; Gil, 1999). Reportes de campo indican que las vacas Guzerat tienen altas producciones de leche, habilidad materna y son excelentes para cruzamientos con Holstein u otras razas europeas (AMCC, 1996; Urdaneta, 1999).

La Asociación Mexicana de Criadores de Cebú (AMCC) a partir de 1994 inició el programa de Control de Desarrollo Ponderal (CDP), que consiste en llevar registros de los pesos de los becerros desde el nacimiento hasta los 550 días, para lo cual se pesan al menos cada 90 días (AMCC, SF). Esta información puede servir para realizar evaluaciones genéticas, con lo que se espera mejorar la productividad de los animales de las zonas tropicales.

Según datos de la AMCC, el total de registros expedidos hasta diciembre de 2005 para animales de esta raza fue de 9.417 registros, mientras que la participación en el CDP alcanzó los 2.551 pesajes (AMCC, 2006). Sin embargo, la raza Guzerat ha venido a menos en México quedando sólo unos 12 criadores activos ante la AMCC que corresponden a los estados de Yucatán, Chiapas, Campeche, Jalisco, entre otros.

Por otro lado, el índice de herencia ( $h^2$ ) es necesario para establecer programas de mejoramiento genético

para incrementar la producción de carne (Eler *et al.*, 1995). Estudios realizados en México (Martínez *et al.*, 2002, 2005) y en Brasil (Pelicioni *et al.*, 2002; Mucari y Oliveira, 2003; Silva *et al.*, 2006) muestran que existe un importante efecto genético directo para características de crecimiento.

Estas características usadas como criterios de selección son afectadas por el genotipo del animal (efecto directo) y por el de la madre (efecto materno) particularmente en los períodos pre-nacimiento y pre-destete (Quintero *et al.*, 2007), así como efectos ambientales propios de cada sistema de producción. En consecuencia, la inclusión de todos estos efectos es fundamental para la obtención de estimadores de índices de herencia precisos y confiables. Los efectos genéticos aditivos directos y maternos se han venido utilizando como efectos directos y efectos maternos y están relacionados con la utilización de la tecnología genético-estadística que se conoce en la práctica bajo el nombre de “modelo animal” (Boldman *et al.*, 1995).

El objetivo del presente trabajo fue estimar el índice de herencia de algunas características de crecimiento desde el nacimiento hasta la edad de 550 días en animales de la raza Guzerat de registro en México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La información utilizada en el presente estudio correspondió a los registros de 900 becerros Guzerat en Control de Desarrollo Ponderal y avalados por la AMCC con sede en Tampico, Tamaulipas, México. La información fue colectada por técnicos de dicha Asociación, para lo cual los animales se pesaron, al menos cada 90 días, desde el nacimiento hasta aproximadamente los 550 días de edad. La información obtenida correspondió a animales nacidos entre 1996 y 2003 en 17 diferentes ganaderías (criadores).

El manejo de los animales ha sido previamente descrito en otros trabajos (Castro, 1995; Martínez, 1999). De manera general, los becerros fueron pesados e identificados con un tatuaje en la oreja o con arete plástico al momento del nacimiento. El destete se realizó aproximadamente a los ocho meses de edad y se identificaron con hierro candente (fierro de propiedad, número de identidad y año de nacimiento).

Posteriormente, el desarrollo post-destete se dio en tres diferentes modalidades: pastoreo, semiestabulación o estabulación. Los pastos que se utilizaron fueron jaragua (*Hyperrhenia rufa*), pangola (*Digitaria decumbens*), estrella (*Cynodon nlemfuensis*), guinea (*Panicum maximum*), elefante (*Pennisetum purpureum*) y varias especies de braquiarias (*Brachiaria* spp.). Además, en todas las explotaciones se contaba con programas sanitarios de vacunación contra enfermedades producidas por clostridios (*Clostridium* spp.) y pausterelosis (*Pasteurella multocida*), así como tratamientos contra parásitos internos y externos.

### Edición y análisis de la base de datos

La base de datos fue editada con los paquetes computacionales de Microsoft Excel®, Microsoft Visual FoxPro 6.0® y Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1987) con la finalidad de eliminar todos aquellos registros que no correspondieran a respuestas biológicamente normales o que se encontraron fuera del intervalo de más menos dos desviaciones estándar y registros con datos incompletos.

Las variables consideradas para el estudio fueron: peso al nacimiento (PN), peso al destete ajustado a 205 días (PDA), peso ajustado al año de edad (P365) y peso ajustado a los 550 días de edad (P550). Los ajustes a las edades constantes respectivas se realizó de acuerdo a las fórmulas recomendadas por la Federación del Mejoramiento de la Carne (BIF, 2002).

Como variables ambientales (efectos fijos) se consideraron grupo contemporáneo (año y época de nacimiento, sexo del animal), épocas de nacimiento

(definidas como época de sequía (enero-junio) y época de lluvias (julio-diciembre)) y hato (socio). La edad de la vaca se tomó como covariable lineal y cuadrática y también, el efecto genético aditivo directo del animal ( $u$ ). Se evaluó la conectividad genética de sementales entre grupos contemporáneos utilizando el programa MILC (Fries, 1998), del cual derivaron las bases de animales conectados para cada variable.

El modelo animal ajustado para cada una de las características fue

$$y = X\beta + Zu + e$$

donde  $y$  es el vector de observaciones para PN, PDA, P365 ó P550,  $\beta$  es el vector de efectos fijos (grupo contemporáneo, hato y covariable lineal y cuadrática de edad de la vaca),  $X$  es la matriz que asocia  $\beta$  con  $y$ ,  $u$  es el vector de efectos aditivos directos,  $Z$  es la matriz que asocia  $u$  con  $y$  y  $e$  es el vector de efectos aleatorios residuales. Debido a que existían pocas observaciones (crías) por vaca (Cuadro 1) no se incluyeron los efectos genéticos maternos, ni el ambiental permanente materno (Quintero *et al.*, 2007).

Para este modelo, los supuestos fueron:

$$E[y] = Xb$$

$$Var \begin{bmatrix} \mu \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_{\mu}^2 & 0 \\ 0 & I_N\sigma_e^2 \end{bmatrix}$$

Cuadro 1. Número de observaciones y medias fenotípicas de cada una de las características analizadas.

Variable†	Animales en el pedigrí número	Crías/Semental	Crías/Vaca	Media ± DE kg
PN	1.361	5,15	1,15	30,7 ± 1,3
PDA	1.361	5,15	1,15	174,8 ± 38,7
P365	1.361	6,59	1,20	251,6 ± 56,5
P550	1.361	5,01	1,17	332,5 ± 71,8

†PN: peso al nacimiento, PDA: peso al destete ajustado a 205 días, P365: peso ajustado a 365 días y P550: peso ajustado a los 550 días.

donde N es el número de registros, A es la matriz del numerador de relaciones de parentesco e I son las matrices 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 conjunto de programas MTDFREML (Boldman *et al.*, 1995). El índice de herencia se obtuvo a partir de las varianzas proporcionadas por el mismo conjunto de programas. El proceso iterativo convergió cuando la varianza de los valores de la función de verosimilitud ( $-2 \log L$ ) del método simple fue menor que  $1 \times 10^{-6}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Valores fenotípicos de los caracteres de crecimiento

Las medias fenotípicas para cada una de las variables de crecimiento estudiadas en este trabajo se presentan en la Cuadro 1, donde se aprecia que la media  $\pm$  desviación estándar para peso al nacimiento (PN) fue  $30,7 \pm 1,3$  kg, el cual es similar al reportado por Martínez *et al.* (2002) y Pelicioni *et al.* (2002) en becerros Guzerat en México y Brasil, respectivamente. El valor encontrado en este estudio es similar al de otras razas cebuínas, como por ejemplo en el ganado Indubrasil (Avila *et al.*, 1995), Brahman (Parra-Bracamonte *et al.*, 2007) y Sardo Negro (Martínez *et al.*, 2007) con pesos de 33,9, 32,2 y 32,9 kg, respectivamente. Sin embargo, Razook *et al.* (2002) encontraron que los becerros Guzerat en Brasil pesaron 3,7 kg menos que los observados en este estudio (27,0 kg).

Con relación al peso al destete ajustado a 205 días (PDA), la media  $\pm$  desviación estándar fue  $174,8 \pm 38,7$  kg, el cual es similar al reportado por Pelicioni *et al.* (2002) quienes observaron pesos de 175,0 kg en becerros destetados a los 210 días. Asimismo, es similar al citado para un grupo de becerros machos sometidos a selección para peso al destete (Razook *et al.*, 2002). Por otro lado, Martínez *et al.* (2002) mencionaron que los becerros Guzerat destetados a los 205 días de edad pesaron 132,0 kg. Estas diferencias pudieran explicarse como resultado de los sistemas de explotación dado que en algunos hatos los animales reciben grandes cantidades de concentrados como suplemento al pastoreo, mientras que en otros la alimentación se basa únicamente en el pastoreo.

Para el caso del peso al año de edad (P365) el valor encontrado fue  $251,6 \pm 56,5$  kg, el cual es superior al reportado por Pelicioni *et al.* (2002) quienes observaron una media de peso al año de 214,3 kg. Sin embargo, Razook *et al.* (2002) señalaron que un grupo de becerros Guzerat seleccionados para crecimiento alcanzaron 326,0 kg al año de edad. Al igual que en el caso anterior, es probable que los resultados que se observaron en el presente estudio se deban a las diferentes condiciones de manejo.

La media de peso a la edad de 550 días  $\pm$  desviación estándar (P550) fue de  $332,5 \pm 71,8$  kg. Este peso es superior al reportado por Razook *et al.* (2002) en hembras sin y con selección para características de crecimiento, quienes observaron 238,0 y 288,0 kg, respectivamente. En México, muchos productores suplementan al ganado con alimentos concentrados para ofrecer animales en buenas condiciones en los Programas de Fomento Ganadero.

### Parámetros genéticos

En la Cuadro 2 se presentan los componentes de varianza y el índice de herencia directo ( $h^2$ ) y sus respectivos errores estándar de los análisis univariados para cada una de las características de crecimiento. Debido a la estructura de los datos y al poco número de observaciones por vaca no fue posible la estimación de los efectos genéticos aditivos maternos y de ambiente permanente materno.

El  $h^2$  para PN fue 0,23 (0,09), que puede ser considerado como bajo según la clasificación de Preston y Willis (1974). Resultados inferiores fueron reportados por Pelicioni *et al.* (2002) quienes publicaron índices de herencia para PN de 0,14 en becerros Guzerat. Sin embargo, Martínez *et al.* (2002) quienes analizaron datos de una estación experimental en Nayarit, México reportaron  $h^2$  de 0,38. De igual modo, Pelicioni *et al.* (2002) mencionaron que los efectos genéticos maternos no fueron importantes ya que el índice de herencia materno ( $h^2m$ ) para PN fue cero en ganado Guzerat en Brasil.

Por otro lado, el valor de  $h^2$  para PDA fue 0,53 (0,19), considerado como un parámetro alto (Preston y Willis, 1974). Sin embargo, en la literatura se mencionan índices de herencia bajos para PDA en becerros que se encuentran en pastoreo. Por ejemplo, Silva *et al.* (2006), Martínez *et al.* (2002) y Castro (1995) encontraron  $h^2$  para PDA fue 0,15, 0,28, y

Cuadro 2. Componentes de varianza e índice de herencia para las variables analizadas en ganado Guzerat de registro en México.

Variable	$\sigma^2a^\dagger$	$\sigma^2e$	$\sigma^2p$	$h^2$ (EE)
Peso al nacimiento	0,286	0,981	1,267	0,23 (0,09)
Peso al destete ajustado (205)	600,787	532,000	1.132,787	0,53 (0,19)
Peso ajustado a 365 días	851,237	1.224,951	2.076,188	0,41 (0,18)
Peso ajustado a 550 días	1.440,653	1.329,979	2.770,632	0,52 (0,17)

$\dagger \sigma^2a$ : varianza aditiva,  $\sigma^2e$ : varianza ambiental,  $\sigma^2p$ : varianza fenotípica y  $h^2$ : índice de herencia. EE: error estándar

0,14, respectivamente. Debido a que el  $h^2$  fue alto se puede decir que una proporción de la variación entre animales se debe al componente genético aditivo, lo que posibilita la utilización de programas de selección genética para mejorar esta característica. Cabe señalar que por la naturaleza de la información no fue posible estimar el efecto materno, lo que pudiera estar provocando una sobre estimación de  $h^2$ . Sin embargo, Parra Bracamonte *et al.* (2007) señalaron que el efecto materno no fue importante en  $h^2$  para el peso al destete ajustado de becerros Brahman en México.

Similarmente,  $h^2$  para peso al año de edad (P365) fue 0,41 (0,18), que al igual que en el caso anterior se puede considerar como un parámetro genético de valor alto (Preston y Willis, 1974). No obstante, en la literatura (Silva *et al.*, 2006; Mucari y Oliveira, 2003; Pelicioni *et al.*, 2002) se publican  $h^2$  para peso al año de edad de 0,11. La variación observada en la población de ganado Guzerat sugiere que es posible el establecimiento de programas de mejoramiento genético debido a que existe una alta proporción de genes de efecto aditivo que influyen el peso al año de edad.

Por último, la estimación del  $h^2$  para P550 fue 0,52 (0,17), que es el resultado de la variación genética aditiva directa. Sin embargo, Silva *et al.* (2006) y Mucari y Oliveira (2003) encontraron  $h^2$  bajos (0,10) para el peso a los 18 meses de edad. Por otro lado, Martínez (1999) reportó valores altos para esta característica, pero en las razas Nelore, Gyr, Indubrasil y Brahman. Con base a la variabilidad observada en este estudio, se puede señalar que es posible la selección de esta característica a través de programas de mejoramiento genético.

## CONCLUSIONES

A manera de conclusión se puede señalar que los pesos encontrados en este estudio a las diferentes edades para el ganado Guzerat están por arriba de los publicados para esta raza bajo condiciones tropicales. Los índices de herencia tuvieron un valor alto, excepto para peso al nacer, lo que puede sugerir que mediante programas de mejoramiento genético se puede hacer selección a favor de estas características, pero siempre considerando la meta de mayor eficiencia por animal, como por unidad de superficie.

## 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

- AMCC. 1996. Características generales de las razas cebuinas Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México.
- AMCC. 2006. XLIV Asamblea General Ordinaria. Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México.
- AMCC. SF. Reglamento técnico del control de desarrollo ponderal. Asociación Mexicana de Criadores de Cebú. Tampico, Tamaulipas, México. Disponible en línea en <http://www.cebumexico.com/reglamentos/ReglamentoCDP.pdf> (15/06/2008)

- Ávila M.G.A., R.J. Solís y F.A. Ruiz. 1995. Efectos de consanguinidad sobre características de crecimiento en ganado Indubrasil. *Revista Chapingo*, 1: 31-34.
- BIF. 2002. Uniform Guidelines for Beef Improvement Programs. 8<sup>va</sup> ed. Beef Improvement Federation. The University of Georgia. Athens, EUA.
- Boldman K.G.A., L.D. Kriese, L.D. Van Vleck y S.D. Kachman. 1995. A manual for use of MTDFREML. A set of programs to obtain estimates of variance and covariances. Agricultural Research Service, USDA. Washington, EUA.
- Castro S.A. 1995. Predicción de valores genéticos para crecimiento predestete en ganado Indubrasil. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Chapellín J.A. 1999. Adaptabilidad y versatilidad de la raza Guzerá. Segundo Ciclo de Conferencias La Cátedra del Cebú: Raza Guzerá. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Asocebu, Guanare, Venezuela. 1(1): 5-18.
- 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. Latinoam. Prod. Anim.*, 11(2): 94-100.
- Eler J.P., L.D. Van Vleck, J.B.S. Ferraz y R.B. Lôbo. 1995. Estimation of variants due to direct and maternal effects for growth traits of Nellore cattle. *J. Anim. Sci.*, 73: 3253-3258.
- Fries L. 1998. Connectability in beef cattle evaluation: The heuristic approach used in MILC.FOR. Proceedings 6<sup>to</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Armidale, Australia. pp. 449-450.
- Gil R.P. 1999. Características fenotípicas de la raza Guzerá. Segundo Ciclo de Conferencias La Cátedra del Cebú: Raza Guzerá. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Asocebu, Guanare, Venezuela. 1(2): 7-24.
- INEGI. 2007. Anuario estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. Edición 2006. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Aguascalientes, México.
- Magaña M.J.G., A.G. Ríos y J.C. Martínez. 2006. Los sistemas de doble propósito y los desafíos en los climas tropicales de México. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 14(3): 105-114.
- 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. Ciudad Victoria, México.
- Martínez G.J.C., S.P. Castillo, F.A. Lucero y E. Ortega. 2007. Influencias ambientales para características de crecimiento en ganado Sardo Negro en México. *Zootecnia Trop.*, 25(1): 1-7.
- Martínez V.G., J.J. Bustamante, F.J. Palacios y M. Montaña. 2005. Efectos raciales y heterosis materna Criollo-Guzerat para características de la canal. XLI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Morelos. Cuernavaca, Morelos. México.
- Martínez V.G., M. Montaña y A. Rivera. 2002. Genetic parameters for age at first calving and interval beginning of breeding season-calving in purebred Guzerat and Criollo cows and reciprocal crosses, and birth and weaning weight of their calves. 7<sup>mo</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier, Francia.
- Mucari T.B. y J.A. Oliveira. 2003. Quantitative and genetic analysis of weights at 8, 12, 18 and 24 months of age in a Guzerat breed herd. *Rev. Bra. Zootec.*, 32(6, Suppl.1): 1604-1613.
- Parra Bracamonte G.M., J.C. Martínez González, E.G. Cienfuegos Rivas, F.J. García Esquivel y E. Ortega Rivas. 2007. Parámetros genéticos de variables de crecimiento de ganado Brahman de registro en México. *Vet. Méx.*, 38(2): 217-229.
- Pelicioni L.C., S.A. Queiroz y L.G. Albuquerque. 2002. Estimates of genetic parameters for body weights of Guzerat cattle. 7<sup>mo</sup> World Congress

- on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier, Francia.
- Preston T. y M. Willis. 1974. Producción Intensiva de Carne. Editorial Diana, Ciudad de México, México.
- Quintero J.C., J.G. Triana, J.H. Quijano y E. Arboleda. 2007. Influencia de la inclusión del efecto materno en la estimación de parámetros genéticos del peso al destete en un hato de ganado de carne. *Rev. Col. Cien. Pecu.*, 20: 117-123.
- Razook A.G., L.A. Figueiredo, L.M.B. Neto, J.N. Cyrillo y M.E. Mercadante. 2002. The role of the experimental station of Sertãozinho (SP)-Brazil in the preservation and selection of zebu breeds and Caracu. 7<sup>mo</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, Francia.
- Silva I.S., I.U. Packer, L.O. Silva, R.A. Torres y C.M. de Melo. 2006. Avaliação de modelos para estimação de componentes de variância e parâmetros genéticos para características de crescimento de bovinos da raça Guzerá. *Rev. Bras. Zootec.*, 35: 1943-1950.
- SAS. 1987. SAS User's Guide: Basics. SAS Institute. Cary, EUA.
- Urdaneta E.L. 1999. El ganado Guzerá en Venezuela. Segundo Ciclo de Conferencias La Cátedra del Cebú: Raza Guzerá. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Asocebu, Guanare, Venezuela. 1(2): 35-43.



## **Efecto de la mastitis clínica y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas totales y albúmina en hembras bovinas**

Aleidy J. Aranguren Parra\*, Aura A. López Ortega, Carmen A. Mendoza y Norka Delgado

<sup>1</sup>Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Ciencias Veterinarias, Unidad Investigación Ciencias Funcionales Dr. H. Moussatché. Barquisimeto, Lara, Venezuela. \*Correo electrónico: aleara71@gmail.com

---

### **RESUMEN**

En la actualidad la mastitis es considerada, en el ámbito agropecuario, como una de las enfermedades más costosas debido a las pérdidas económicas que desde el punto de vista productivo genera. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la mastitis clínica y subclínica en hembras bovinas lecheras, sobre algunos parámetros metabólicos plasmáticos. Se utilizaron 30 vacas mestizas Holstein de una finca lechera comercial, ubicada en Quibor, Lara, Venezuela, sometidas a las mismas condiciones de manejo, distribuidas en tres grupos de 10 animales cada uno: vacas sanas, con mastitis subclínica y con mastitis clínica. La concentración de glucosa, colesterol total y sus fracciones Col-HDL y Col-LDL, triglicéridos, proteínas totales y albúmina se cuantificaron por kits comerciales. En ambos tipos de mastitis hubo un aumento altamente significativo ( $P < 0,002$ ) sobre la glucosa plasmática, probablemente por menor utilización o por movilización desde los reservorios endógenos. Los triglicéridos no se modificaron, pero el colesterol total presentó una disminución altamente significativa. En la fracción Col-HDL de las vacas con mastitis clínica se observó una disminución altamente significativa. Por otra parte, hubo un aumento altamente significativo de las proteínas totales en ambos grupos ( $P < 0,001$ ); sin embargo, la modificación de sus fracciones (albúmina y globulinas) fue diferente en cada tipo de mastitis.

*Palabras clave:* mastitis, glucosa plasmática, proteínas totales, colesterol total, hembras bovinas.

---

### **Effect of clinic and subclinic mastitis on the plasmatic concentration of metabolites, total protein, and albumen in bovine females**

#### **ABSTRACT**

At present time, mastitis is considered, in the farming scope, one of the most expensive diseases due to the economic losses from the productive point of view. The objective of this study was to evaluate the effect of the clinical and subclinical mastitis in milk bovine females on some plasmatic metabolic parameters. Thirty racially mixed cows Holstein were used from a commercial milk farm which is located in Quibor, Lara, Venezuela, managed under the same conditions and distributed in three groups of 10 animals each: healthy cows, with subclinical mastitis, and clinical mastitis. The concentrations of glucose, total cholesterol, and its fractions Col-HDL and Col-LDL, triglycerides, proteins, and albumen were quantified by commercial kits. In both types of mastitis there was a highly significant increase ( $P < 0,002$ ) on the plasmatic glucose, probably by smaller use or mobilization from the endogenous reservoirs. The triglycerides were not modified, but total cholesterol showed a significant decrease. The Col-HDL fraction from cows with clinical mastitis, it was observed a significant decrease. On the other hand, there was a highly significant increment of total proteins in both groups ( $P < 0,001$ ); however, the modification of its fractions (albumen and globulins) were different in each type from mastitis

*Keywords:* mastitis, plasmatic glucose, total proteins, total cholesterol, bovine females.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mastitis es considerada como una de las enfermedades más costosas, debido a la disminución en la producción de leche que ocasiona (desde 4 hasta 30%) y el incremento en los costos de producción por los medicamentos utilizados, que desde el punto de vista económico genera una gran pérdida en la explotación lechera (Belloda y Ponce, 2008). La reducción en producción de leche es el mayor gasto asociado con la mastitis subclínica y un costo importante también está asociado con la mastitis clínica (Shim *et al.*, 2004).

Se estima que un tercio de la población de todas las vacas lecheras está afectada por alguna de las formas de mastitis, en uno o más cuartos (Philpot y Nickerson, 1992). Por otra parte es importante señalar que en climas tropicales, los sistemas de producción de leche de tipo intensivo con ganadería especializada se ven muy limitados por las condiciones agroecológicas predominantes (Holmann *et al.*, 1990; Vaccaro *et al.*, 1990; Madalena, 2002). Por tal motivo, los animales en este tipo de ganaderías tienden a sufrir constante estrés, lo cual los hace más susceptibles a ciertas enfermedades, entre éstas, la mastitis. Se ha comprobado que los patógenos productores de mastitis pueden colonizar la glándula mamaria de novillas tanto en los períodos de parto como en el postparto, situación preocupante ya que son animales que desde el inicio de la lactancia ingresan afectados por mastitis subclínica al rebaño productor (Zambrano y Castillo, 2005).

En toda finca lechera, la vaca constituye el elemento más importante y su glándula mamaria, órgano encargado de producir leche, es vital mantenerla sana. Con frecuencia las vacas se encuentran expuestas a una serie de factores que afectan no solamente al tejido glandular mamario, sino también al organismo animal en general, de tal manera que ante la inflamación de la glándula mamaria o mastitis, se hace necesario estudiar la influencia de la mastitis tanto de tipo subclínico como clínico, sobre algunos parámetros metabólicos plasmáticos en el animal, en los primeros 100 días de lactancia.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la mastitis clínica de tipo agudo y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas totales y albúmina en bovinos hembras mestizas Holstein.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización, población y muestra

La investigación fue realizada en una finca comercial, ubicada en el caserío Morón del Municipio Jiménez, del estado Lara, Venezuela, localizada a 9° 55' 11" N y 69° 37' 39" O y una altitud de 682 msnm. El clima es cálido, característico de bosque muy seco premontano, de acuerdo a la clasificación de Holdridge (Ewel, 1976). Con una temperatura media anual de 25,3°C con amplitud desde 24,2°C hasta 26,4°C y una precipitación media anual de 409,5 mm distribuida bimodalmente: el 40% en los meses de marzo a junio y 32,5% entre septiembre y noviembre. La evaporación promedio anual es de 2.794 mm lo que establece un balance hídrico negativo a lo largo del año y da a la zona un carácter extremadamente árido, con suelos erosionados en forma natural, con una vegetación autóctona conformada por plantas cactáceas columnares, arbustivas, esféricas y trepadoras.

Se utilizaron vacas mestizas  $\frac{3}{4}$  Holstein del plantel bovino indicado, que se encontraban en los primeros 100 días de lactancia y cuyo historial indicaba uno o dos partos y una condición corporal de tres, cuya determinación se realizó de acuerdo al diagrama de flujo de la calificación de condición corporal (CCC) en el ganado lechero, según Edmonson (1989).

### Manejo de los animales

Todas las vacas del ensayo fueron sometidas al mismo manejo alimenticio y sanitario, en un sistema de producción de tipo intensivo característico de la finca. Se realizó el ordeño mecánico distribuido en tres sesiones diarias, realizados de 0:00 a 6:00 am, de 8 am a 2 pm y el último de 4 a 10 pm; el destete es total al momento de nacer el becerro. Las vacas recibieron alimento cinco veces al día en una ración total mixta (concentrado más silo de maíz, semilla de algodón, entre otros).

Los animales se distribuyeron en tres grupos: 1) Grupo control: mediante un muestreo aleatorio simple, se seleccionaron al azar 10 vacas, negativas a la prueba California de mastitis (CMT) y sin signos clínicos de mastitis. 2) Grupo con mastitis subclínica: constituido por 10 vacas que presentaron un CMT con positividad de 2 y 3 cruces y sin signos clínicos de mastitis y 3) Grupo con mastitis clínica de tipo agudo:

formado por 10 vacas con signos clínicos de mastitis y alteración física de la leche evidenciada por la prueba de fondo negro. Para completar el diagnóstico, se procedió a practicar el examen clínico general del animal para evidenciar alteraciones sistémicas, así como también se examinó en busca de lesiones a nivel de la glándula mamaria.

### Cuantificación de parámetros sanguíneos

Para la determinación de los parámetros metabólicos plasmáticos, a los animales sin ayuno, entre 7:00 y 10:00 am, se les extrajo una muestra de sangre de aproximadamente 5 mL de la vena coccígea con aguja de 18 x 22 mm, la cual se recibió en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA-Na<sub>4</sub> al 1%. Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 20 min en una centrifuga Clay Adams (modelo 21152, Sparks, MD, USA). Separados los plasmas se trasladaron en una cava con gel frío, a la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales “Dr. H. Moussatché” del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado y mantenidos a 4°C hasta el momento de la cuantificación de los parámetros sanguíneos. Todo el proceso se efectuó en un tiempo máximo de 4 horas post-obtención de la muestra. Todas las lecturas espectrofotométricas se efectuaron en un equipo Genesys 5 (Rochester, NY, USA).

Las muestras de sangre en el caso de mastitis clínica fueron tomadas el primer día que manifestaron signos clínicos de la enfermedad y alteración física de la leche (presencia de grumos), detectada mediante la prueba de fondo negro, la cual se llevó a cabo en todas las vacas antes de ser ordeñadas. La muestra de sangre se extrajo antes de la aplicación de algún tipo de medicamento o del tratamiento que se emplea normalmente en la finca. En el caso de vacas con mastitis subclínica y los controles, las muestras de sangre se tomaron en vacas positivas 2 y 3 y negativas a la prueba CMT, respectivamente, al momento de aplicar la prueba.

La concentración de glucosa se cuantificó a través del método enzimático correspondiente al sistema Glucosa oxidasa/Glucosa peroxidasa, diseñado por Trinder (1969) y evaluado por Lott y Turner (1975). Se utilizó kit Ultralab (Caracas, Venezuela) y la absorbancia se leyó a 510 nm.

Los triglicéridos se cuantificaron mediante método enzimático de acuerdo a Patton *et al.* (1982), con la utilización de kit de Qualitest (Caracas, Venezuela) con un patrón de 200 mg/dL de trioleína y la lectura de absorbancia fue a 500 nm. El colesterol total y sus fracciones contenidas en Col-LDL y Col-HDL se determinaron por método enzimático según Allain *et al.* (1974) a través de kit Colestat de Wiener Lab (Rosario, Argentina) con un patrón de colesterol de 200 mg/dL y la lectura de la absorbancia fue a 510 nm. Las proteínas totales y albúmina se determinaron por método colorimétrico de Rojkin *et al.* (1974) mediante kit Proti de Wiener Lab (Rosario, Argentina) que utiliza como patrón, respectivamente, una solución de 4.6 g/dL de proteínas totales y de 2,9 g/dL de albúmina. La lectura fue realizada a una absorbancia de 540 nm y 625 nm, respectivamente. La concentración de globulinas se obtuvo por diferencia de las dos anteriores.

### Análisis microbiológico

Las muestras de leche proveniente de los cuartos afectados, de las vacas positivas a mastitis subclínica y clínica, fueron tomadas de manera aséptica en recipientes estériles y se enviaron al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Aseguramiento de la Calidad de la Organización “El Tunal CA” para determinar los microorganismos presentes, mediante la técnica de siembra por agotamiento en agar sangre (Brooks *et al.*, 2000).

### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa SPSS versión 10.0 para Windows, se les aplicó prueba descriptiva y otra de comparación múltiple mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia del 95%. Los resultados son la media  $\pm$  error estándar (EE) de la media y están expresados en mg/dL, excepto en las proteínas que están en g/dL.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Glucosa

Este parámetro mostró un incremento altamente significativo ( $P < 0,001$ ) en el grupo de vacas con mastitis subclínica ( $52,8 \pm 2,4$  mg/dL), así como en el grupo de animales con mastitis clínica ( $54,0 \pm$

3,8 mg/dL) ( $P < 0,002$ ) en comparación con el nivel presentado por el grupo control ( $32,4 \pm 4,4$  mg/dL). Sin embargo, entre los dos grupos con mastitis no se observó diferencias estadísticas, tal como se muestra en la Figura 1a.

Las endotoxinas o lipopolisacáridos bacterianos inducen una inflamación aguda en el huésped, las citoquinas liberadas así como otros mediadores, también estimulan el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal resultando en un aumento de la producción de cortisol (De Lucas, 2007). Los animales con mastitis sufren un proceso de estrés, ocasionado por el estado inflamatorio que está presentando la glándula mamaria, donde posiblemente se incrementen los niveles de cortisol y catecolaminas, las cuales tienen un efecto anti-insulínico. Por otra parte, el incremento de la glucosa encontrado en este trabajo podría deberse a una disminución de la captación de la glucosa circulante y específicamente en el tejido mamario donde el proceso inflamatorio conlleva a la pérdida de las funciones celulares, lo que se traduce en disminución en la captación de glucosa y por ende, disminución de la síntesis de lactosa, en concordancia con nuestra hipótesis. Hill y Hill (1988) describen que el aumento de la glucosa sanguínea respondería a movilización de reservas metabólicas endógenas con inducción de anorexia, lo cual ha sido descrito en los estados de enfermedad y lesión.

### Triglicéridos

En esta investigación se obtuvo (Figura 1b) que la concentración plasmática de triglicéridos no se modificó en ninguno de los dos tipos de mastitis estudiadas ( $33,1 \pm 2,5$  y  $33,8 \pm 7,3$ ) al compararla con las vacas sanas ( $32,4 \pm 4,4$ ) ni tampoco entre sí, lo que indicaría que los factores metabólicos que determinan la concentración sanguínea de triglicéridos, no estarían influenciados por la mastitis.

### Colesterol total y sus fracciones

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de este lípido presentó una disminución altamente significativa en el grupo de vacas mestizas Holstein con mastitis ( $193,9 \pm 10,1$ ) al compararlos con el control ( $217,4 \pm 12,1$ ), como se observa en la Figura 2a. Aranda *et al.* (2002) han encontrado un aumento de los ácidos grasos libres circulantes y una disminución de la concentración sanguínea de colesterol y ambos parámetros serían indicadores de riesgo de enfermedades reproductivas (metritis, mastitis, retención de placenta) en vacas lecheras. Sin embargo, la explicación de esta correlación aun no se ha estudiado.

En las fracciones de colesterol contenidas en las lipoproteínas de alta y baja densidad, se estableció una disminución estadística altamente significativa ( $P < 0,01$ ) del Col-HDL plasmático en las vacas

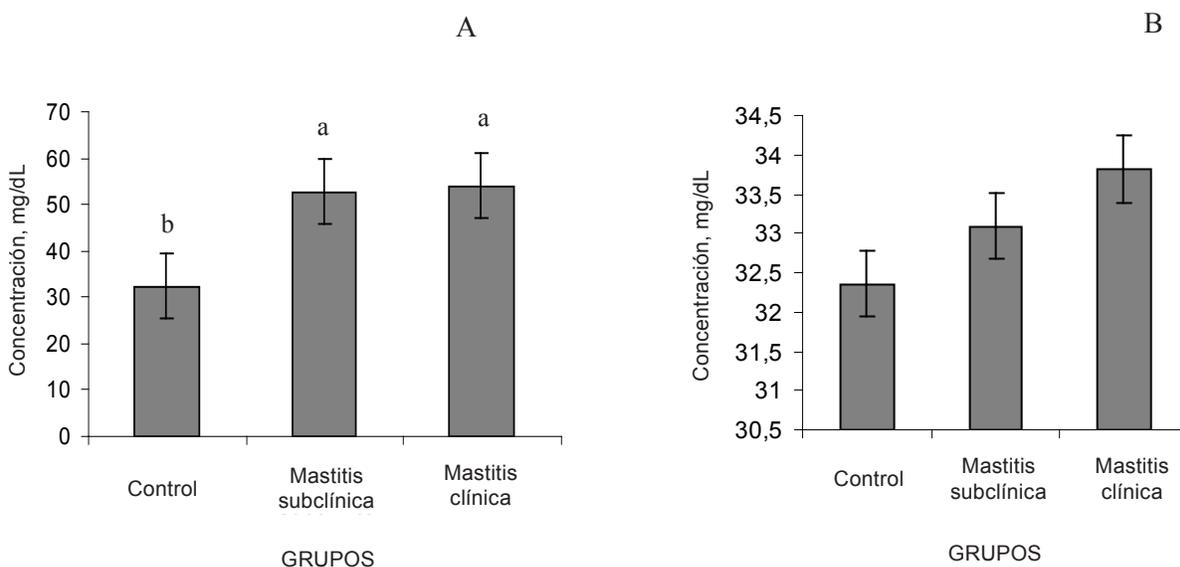


Figura 1. Concentración plasmática de (A) glucosa y (B) triglicéridos en vacas mestizas Holstein con y sin mastitis. Letras indican diferencias ( $P < 0,001$ ) con respecto al valor control. Barras indican error estándar de la media.

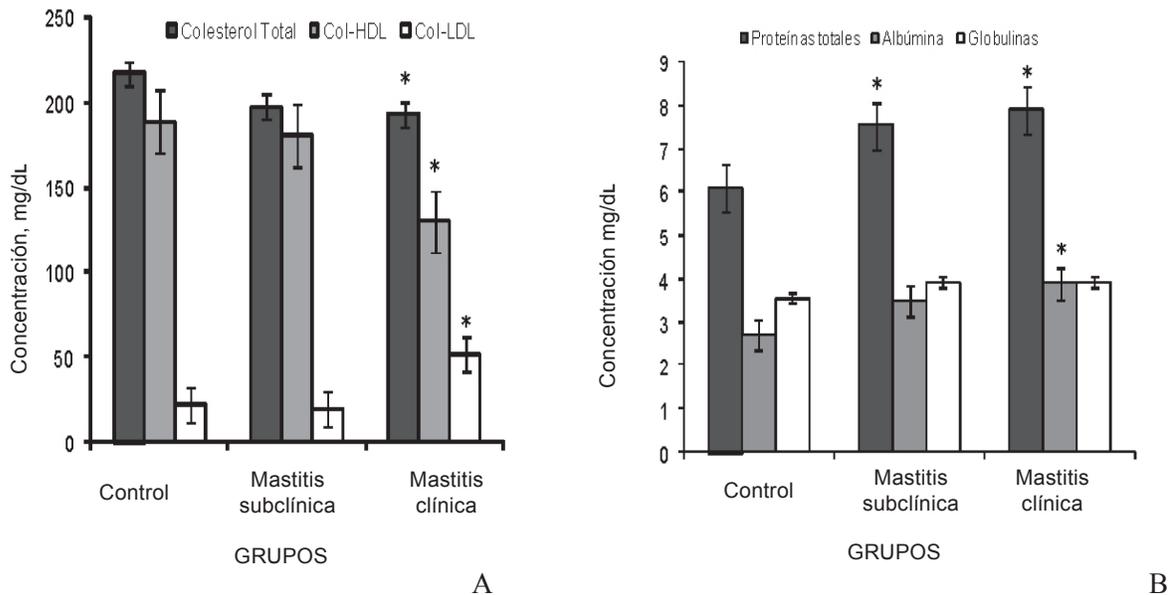


Figura 2. Concentración plasmática de (A) colesterol total y sus fracciones y (B) proteínas totales y sus fracciones en vacas mestizas Holstein con y sin mastitis. Letras indican diferencias ( $P < 0,05$ ) con respecto al valor control. Barras indican error estándar de la media.

que presentaban mastitis clínica ( $130,1 \pm 10,5$ ) en comparación con el grupo control ( $189,1 \pm 21,3$ ), no así en las vacas mestizas Holstein afectadas de la forma subclínica ( $180,6 \pm 20,3$ ) de mastitis, las cuales mostraron una concentración plasmática de Col-HDL sin diferencias estadísticas con las controles.

Por otra parte, en cuanto a la fracción de las LDL, sólo el grupo con mastitis clínica ( $51,9 \pm 10,0$ ) mostró un aumento significativo ( $P < 0,02$ ), tanto con respecto al valor de las vacas controles ( $22,0 \pm 5,5$ ), como con el grupo de animales con mastitis subclínica ( $19,3 \pm 8,3$ ;  $P < 0,04$ ).

### Proteínas totales y sus fracciones

Se observó que las vacas lactantes sanas presentaron los siguientes valores de proteínas totales (g/dL):  $6,1 \pm 0,2$ , albúmina:  $2,7 \pm 0,2$  y globulinas:  $3,6 \pm 0,4$  (Figura 2b). De acuerdo a The Merck Veterinary Manual (1998), los valores normales de proteínas sanguíneas, para hembras bovinas lecheras, se pueden encontrar entre los siguientes rangos (g/dL): de 6,16 a 8,22 para las proteínas totales; de 2,75 a 3,94 para albúmina y de 2,89 a 4,86 para las globulinas. Los valores obtenidos en este estudio se pueden catalogar como normales; por otra parte, en el grupo de animales

con mastitis subclínica, las proteínas totales sufrieron un incremento altamente significativo ( $7,53 \pm 0,19$ ) al compararla con el grupo de animales sanos, mientras que los valores de albúmina y globulinas en este grupo no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo de animales sanos. En el grupo de animales con mastitis clínica se pudo apreciar un incremento altamente significativo ( $7,90 \pm 0,29$ ) en las proteínas totales al compararlo con el grupo de animales sanos, por su parte la albúmina se incremento de forma significativa ( $3,90 \pm 0,31$ ) en este grupo

Al analizar los grupos con mastitis, los valores se orientaron de diferente manera. En las vacas lactantes con mastitis subclínica, las proteínas totales aumentaron ( $P < 0,001$ ) y se ubicaron en una posición referencial media, la igual que la fracción de albúmina ( $3,50 \pm 0,47$  g/dL), pero las globulinas ( $3,93 \pm 0,48$  g/dL) alcanzaron el límite superior. Por su parte, el grupo lactante con mastitis clínica presentó también una elevación de las proteínas totales ( $P < 0,001$ ) con una posición en el rango superior, mientras que la albúmina alcanzó una ubicación referencial media y las globulinas ( $3,93 \pm 0,41$  g/dL) a igual que el grupo con mastitis subclínica, obtuvo el límite de referencia máximo.

Estos resultados mostrados en la Figura 2b, coinciden con lo establecido por Morales (1999), quien demuestra que el efecto de la mastitis sobre el porcentaje de proteína total láctea es pequeño, sin embargo, altera drásticamente la composición proteica de la leche, con disminución de las fracciones de: caseína,  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, esto unido a un aumento de las proteínas séricas.

### Análisis microbiológico

Se observó que en las vacas con mastitis de tipo subclínico, 70% de las muestras no presentaron crecimiento microbiano hasta las 72 h y en el 30% restante, *Streptococcus agalactiae* (20%) fue el más frecuentemente aislado y en menor proporción (10%), *Staphylococcus* (coagulasa negativo).

Diferente fue el resultado obtenido en las muestras de leche provenientes de las vacas con mastitis clínica. El 100% de ellas presentaron crecimiento microbiano, donde la mayor cuantía estuvo representada, a igual que en la mastitis subclínica, por *Streptococcus agalactiae* (60%) y las menores proporciones se repartieron en partes iguales (20% cada uno) entre *Staphylococcus* (coagulasa negativo) y *Escherichia coli*, microorganismo que o fue aislado en la mastitis subclínica.

### CONCLUSIONES

En este estudio se estableció que tanto la mastitis subclínica como la clínica inducen cambios en los parámetros plasmáticos estudiados a excepción de los triglicéridos. Los niveles de proteínas totales y de albúmina se vieron incrementados significativamente en el grupo de vacas que presentaban mastitis subclínica y clínica. Por otra parte, se evidenció un incremento en las globulinas en el grupo de vacas con mastitis, que no alcanzó la significancia estadística, lo cual correspondería a la respuesta del organismo ante la presencia de un agente infeccioso.

Los niveles de glucosa plasmática se incrementan significativamente tanto en animales con mastitis subclínica como animales con mastitis clínica, quizás debido a la condición de estrés que presenta el organismo animal, causado por estado inflamatorio de la glándula mamaria, donde posiblemente se encuentren aumentados el cortisol y catecolaminas, las cuales tienen un efecto anti-insulínico y así como también exista una disminución de la captación de

la glucosa circulante y específicamente en el tejido mamario en donde el proceso inflamatorio conlleva a la pérdida de las funciones celulares lo que se traduce en disminución en la captación de glucosa, lo que induciría menos síntesis de lactosa y en consecuencia una disminuida producción láctea.

El colesterol total disminuyó en las vacas con mastitis subclínica y clínica lo cual se relacionaría en forma inversa al riesgo de enfermedades reproductivas. La fracción lipoproteína Col-HDL disminuyó en los animales del grupo de mastitis clínica, lo cual ha sido asociado con afecciones podales, mastitis y problemas reproductivos.

### AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al concejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado por haber financiado este proyecto y a la organización El Tunal C.A. por su apoyo en la realización de este estudio.

### LITERATURA CITADA

- Allain C.C., L.S. Poon, C.S.G. Chan, W. Richmond y P.C. Fu. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20: 470-475
- Aranda M.V., N. Brave y R. Casagrande. 2002. Colesterol en bovinos. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en: [http://produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/26-colesterol\\_en\\_bovinos.htm](http://produccionbovina.com/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/26-colesterol_en_bovinos.htm)
- Arave C.W., R.H. Miller y R.C. Lamb. 1975. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. *J Dairy Sci.*, 58(3): 423-427.
- Belloda C.C y M.E. Ponce de León. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *Rev. Elect. Vet.*, 9(4): 1695-7504.
- Brooks G., J. Butel y S. Morse 2000. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Ed. Manual Moderno, Cd. de México, México..
- Edmonson A.J., I.J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver y G. Webster. 1989. A body condition scoring chart

- for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72(1): 68-78.
- Ewel J.J., M. Arnold y J.P. Tosi. 1976. Zonas de Vida de Venezuela. 2<sup>da</sup> ed. Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Editorial Sucre, Caracas, Venezuela.
- Hill A.G. y G.L. Hill. 1998. Metabolic response to severe injury. *Br. J. Surg.*, 85: 884-890.
- Holmann F., R.W. Blake, M.V. Hahn, R. Barker, R.A. Milligan, P.A. Oltenacu y T.L. Satanton. 1990. Comparative profitability of purebred and crossbred Holstein herds in Venezuela. *J. Dairy Sci.*, 73: 2190 – 2205
- Lott J.A. y K. Turner. 1975. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin. Chem.*, 21: 1754-1760
- Madalena F.E. 2002. Cruces entre razas bovinas para la producción económica de leche. *En* González Stagnaro C., E. Soto Belloso y L. Ramírez Iglesia (Eds.) Avances de la Ganadería de Doble Propósito. Fundación GIRARZ. Maracaibo, Venezuela. pp. 55-67.
- Morales M.S. 1999. Factores que afectan la composición de la leche. *Tecno Vet*: 1: marzo. Disponible en [http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html) [Enero 5, 2005].
- Patton J.G., D.M. Dinh y S.J. Mao. 1982. Phospholipid enhances triglyceride quantitation using an enzyme kit methods. *Clin Chim Acta*, 118(1): 125-128.
- Philpot W.N. y S.C. Nickerson. 1992. Mastitis: El Contra Ataque. Babson Brothers Co. Baton Rouge, EUA.
- Rojkin M.L., D.E. Olguin, M.C. Mariani, G.A. Drappo y C.P. Sosa. 1974. Proteínas totales del suero: causas mas frecuentes de error en la reacción de Biuret. Nuevo reactivo cuproalcalino estable. *Bioq. del Atlántico*, 5: 1163-1193.
- Shim E.H, R.D. Shanks y D.E. Morin. 2004. Milk loss and treatment cost associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87: 2702-2708
- Merck. 1998. The Merck Veterinary Manual. 8<sup>va</sup> ed. Merck & Co. Whitehouse Station, EUA.
- Trinder P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase. *Ann. Clin. Biochem.*, 6: 24-27
- Vaccaro L., R. Cardozo, R. Vaccaro y M. Benezra. 1990. Vida útil en sistemas intensivos de producción de leche en el trópico. Hembras Holstein Friesian importadas y nacidas localmente. Univ. Central Ven, Fac. Agronomía. Maracay, Venezuela.
- Zambrano W. y O. Castillo. 2005. Infecciones por patógenos de la mastitis en ubres de novillas lechera antes y después del parto. *Gaceta Cien. Vet.*, 11(1): 5-13.



## **Evaluación del perfil bromatológico y de algunos parámetros físicos del follaje de plantas leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo en un bosque seco tropical semideciduo**

Nicolás Korbut<sup>1</sup>, Álvaro Ojeda<sup>1\*</sup> y Dorian Muñoz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Producción Animal, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay 2101, Aragua, Venezuela. \*Correo electrónico: ojedaa@agr.ucv.ve

<sup>2</sup> Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay 2101, Aragua, Venezuela.

---

### **RESUMEN**

Con la finalidad de evaluar algunos parámetros físicos y químicos del follaje de seis especies de plantas leñosas de valor forrajero para vacunos (*Coccoloba* sp., *Guazuma ulmifolia*, *Inga* sp., *Machaerium* sp., *Samanea saman* y *Senna pallida*) presentes en un bosque seco tropical semideciduo ubicado en el estado Portuguesa, Venezuela, fueron colectadas muestras mensuales durante la época seca. Las muestras se correspondieron con la fracción comestible ingerida por 10 vacunos *Bos taurus* x *Bos indicus* (390,4 kg PV) en silvopastoreo. Para las especies en estudio (16,0% PC; 51,4% FND; 1,8% Ca y 0,1% P), se determinó que los valores de densidad volumétrica (0,26 g MS/mL), tamaño medio de partícula (0,31 mm), capacidad de retención de agua (3,2 mL/g MS), solubilidad de la materia orgánica (11,3%) y de la fracción mineral (53,9%) se encontraron dentro de los rangos citados en la literatura para materiales fibrosos, resaltando una importante variación entre especies ( $P<0,01$ ) relacionada con el contenido y la composición química de la pared celular del follaje evaluado. Conjuntamente con otras estrategias de valoración químicas y biológicas, la sistematización de este tipo de información puede contribuir a establecer la relación entre la tasa de pasaje y de degradación de estos recursos, y consecuentemente, entre el consumo y la utilización de materiales fibrosos en sistemas de silvopastoreo con rumiantes.

*Palabras clave:* Parámetros físicos, silvopastoreo, selva tropical, vacunos.

---

### **Evaluation of bromatological profile and some physical parameters of trees and shrubs foliage species consumed by cattle in silvopastoral conditions at a tropical semideciduous dry forest**

#### **ABSTRACT**

In order to evaluate some chemical and physical parameters of foliage of six trees and shrubs with forage value for cattle (*Coccoloba* sp., *Guazuma ulmifolia*, *Inga* sp., *Machaerium* sp., *Samanea saman* y *Senna pallida*) located in a tropical semideciduous dry forest located in Portuguesa state, Venezuela were collected monthly samples during dry season. Samples corresponded to the edible fraction of plants consumed by 10 cattle *Bos taurus* x *Bos indicus* (390.4 kg LW) in silvopastoral conditions. For the species considered (16.0% CP, 51.4% NDF, 1.8% Ca, and 0.1% P), the particle density (0.26 g MS/mL), particle size (0.31 mm), water holding capacity (3.2 mL/g MS), organic matter (11.3%) and mineral (53.9%) solubilisation were within the literature range for fibrous material, with an important variation among species ( $P<0.01$ ) related to the cellular wall content

and the chemical composition of foliage evaluated. Together with others strategies of chemical and biological valuation, the systematization of this information could contribute to establish the relationship between passage and degradation rates of these resources, and consequently, between intake and fibrous materials utilization in silvopastoral systems with ruminants.

*Keywords:* Physical parameters, silvopastoral, tropical forest, cattle.

## INTRODUCCIÓN

Bajo las condiciones propias de explotación de nuestros rebaños vacunos, y en particular los de tipo doble propósito, las unidades de producción que cuentan con áreas de bosques semidecuidos en sus predios, tradicionalmente durante el periodo seco recurren a la utilización de estos ecosistemas para uniformizar la oferta de materia seca a consumir por sus rebaños. En consecuencia, el follaje de arbustos y árboles se convierte en un recurso altamente estratégico del cual puede depender el mantenimiento de los animales en épocas críticas de disponibilidad de pasturas.

Siendo el consumo y la degradabilidad ruminal de materiales fibrosos dependiente, entre otros factores, de sus características físicas (Baile y McLaughlin, 1987; Van Soest, 1994; Forbes, 1998; Giger-Reverdin, 2000), la ausencia de información relativa a variables como densidad, tamaño de partícula, capacidad de retención de agua y solubilidad es una limitante en la definición del valor nutricional de dichos materiales, lo cual es indispensable para el establecimiento de estrategias de manejo sostenible de sistemas silvopastoriles.

Así, el presente estudio tuvo como objetivo la evaluación de algunos parámetros físicos, y su relación con variables químicas, en el follaje de árboles y

arbustos consumidos por vacunos en silvopastoreo en un bosque seco tropical semidecuido ubicada en el estado Portuguesa, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en un área de bosque seco tropical semidecuido de aproximadamente 50 ha, ubicada en las instalaciones de la Estación Experimental "San Nicolás" (8° 49' 58" N y 69° 48' 00" O), localizada en el Municipio San Genaro de Boconoito del estado Portuguesa y esta adscrita a la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. Este bosque se ubica a una altitud de 133 msnm y presenta una precipitación promedio anual de 1.545 mm, 27,2°C de temperatura, evaporación de 1.893 mm, evapotranspiración de 1.514 mm y 83% de humedad relativa (Abarca, 2004).

Partiendo de una evaluación preliminar (Canelones, 2007), se colectaron muestras mensuales del follaje de las plantas leñosas seleccionadas por 10 vacunos adultos machos con peso vivo de 390,4 ± 18,0 kg manejados en silvopastoreo en el bosque antes mencionado, durante una parte del periodo seco (enero-abril) del año 2006 (Cuadro 1). Estas especies representaron 47,6% de las partículas presentes en las heces evaluadas a través de su estudio histológico (Holeckek, 1982), mientras el resto estuvo conformado por partículas correspondientes a diversas especies de

Cuadro 1. Descripción taxonómica de especies leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo de un bosque seco tropical semidecuido en el estado Portuguesa.

Familia	Nombre	
	Científico	Vulgar
Leguminosae	<i>Senna pallida</i>	Flor amarillo
	<i>Machaerium humboldtianum</i>	Uña de gavilán, Uña de gato
	<i>Inga</i> sp.	Cahuabarí
	<i>Samanea saman</i>	Saman, Carabalí, Ceniceró
Polygonaceae	<i>Coccoloba caracasana</i>	Uvero, Uva, Uvero macho
Sterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i>	Guácimo, Guácimo dulce

gramíneas (49,3%) y plantas leñosas no identificadas botánicamente (3,1%).

Las plantas leñosas evaluadas se hallaban en las fenofases de senescencia y floración, restringiéndose las muestras a la fracción del follaje maduro localizado a una altura inferior a los 2 m y considerando 5 plantas por especie seleccionadas al azar en el área delimitada por tres transectas de longitud variable (100 a 150 m), ubicadas a lo largo del bosque en estudio. Una vez colectadas, las muestras fueron refrigeradas con CO<sub>2</sub> en estado sólido (hielo seco) durante su traslado para ser deshidratadas hasta peso constante en estufa de aire forzado a 40°C, para su posterior molido en criba de 1 mm de diámetro.

En dichas muestras se determinó el contenido de cenizas (Cen) y proteína cruda (PC), según lo descrito por la AOAC (1985). Los análisis de fibra insoluble en detergente neutro (FDN) y ácido (FDA), hemicelulosa, celulosa y lignina se efectuaron de acuerdo a la metodología descrita por Van Soest *et al.* (1991), con la adición de sulfito de sodio a la solución de detergente neutro para remover parcialmente los complejos taninos-proteína (Terril *et al.*, 1994). Las fracciones correspondientes a calcio (Ca) y fósforo (P) se evaluaron según metodología reportada por Fick *et al.* (1979) y Fiske y Subarrow (1925), respectivamente.

Las evaluaciones físicas fueron las siguientes:

#### **Densidad volumétrica (DV)**

Esta determinación se realizó de acuerdo a Giger-Reverdin (2000), para lo cual se tomó un cilindro graduado de 100 mL, el cual fue llenado con la muestra deshidratada y molida hasta la marca de 50 mL, para luego ser agitado manualmente durante 15 seg. Posteriormente, se añadió muestra hasta la marca de los 100 mL y se agitó nuevamente por 10 seg, para finalmente enrasar el cilindro hasta los 100 mL y pesar el material contenido en el mismo. La densidad volumétrica se expresó como la relación entre peso (g) de la muestra y volumen (mL) ocupado por esta.

#### **Tamaño medio de partícula (D50)**

A través de tamices con diámetro de 1,0; 0,75; 0,5 y 0,25 mm fueron cernidos 10 g de cada muestra. Los rechazos en cada tamiz fueron pesados para calcular su valor relativo respecto a la muestra total. Los

resultados fueron graficados contra el logaritmo de cada tamaño de tamiz y calculado el valor de tamaño medio de partícula, correspondiente éste al tamiz virtual donde se retendría el 50% de las partículas de la muestra (Melcion y de Monredon, 1991).

#### **Capacidad de retención de agua (CRA)**

Se colocaron 2,5 g de muestra en remojo con 250 mL agua destilada durante 24 h, para luego proceder a filtrar en crisoles de porosidad N° 2 y pesar el residuo obtenido en el crisol, expresándose la capacidad de retención de agua como L de agua retenida en la fracción sólida por kg muestra en base seca (Robertson y Eastwood, 1981; Giger-Reverdin, 2000).

#### **Solubilidad**

La solución obtenida a partir de la evaluación de la capacidad de retención de agua fue deshidratada en estufa a 105°C durante 72 h o hasta alcanzar peso constante, se registró su peso y se procedió a colocar en mufla a 550°C por 12 h para ser pesada nuevamente. La materia seca y la ceniza contenida en el material soluble fueron expresadas como g/L ó % del peso inicial de la muestra considerada, obteniéndose de este modo la solubilidad de la materia orgánica (SolMO) y fracción mineral (SolMin), de acuerdo a lo descrito por Giger-Reverdin (2000).

Para analizar la información obtenida, se empleó un diseño completamente aleatorizado, estudiando las diferencias entre medias a través de una prueba de comparaciones múltiples (prueba de Tukey) y se caracterizó el grado de asociación entre variables físicas y químicas por medio de regresiones lineales múltiples (Steel y Torrie, 1985).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Perfil bromatológico y fracciones constituyentes de la pared celular**

En el Cuadro 2 se presentan los valores obtenidos en la determinación del perfil bromatológico y fracciones constituyentes de la pared celular de las especies evaluadas. En general, las especies evaluadas mostraron contenidos de PC (16,0 ± 3,9%), Ca (1,8 ± 0,5%) y P (0,1 ± 0,1%) que resaltan el valor estratégico de la selva seca tropical como una importante fuente de nutrientes al animal en pastoreo en época seca.

Cuadro 2. Composición química de especies leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo de un bosque seco tropical semideciduo en el estado Portuguesa.

Especie	Fracciones†								
	PC	FDN	FDA	Cel	Hemic	Lig	Cen	Ca	P
	----- g/100 g MS -----								
<i>Senna pallida</i>	16,7	32,1	18,6	11,8	13,4	7,4	8,9	1,94	0,21
<i>Machaerium</i> sp.	17,8	52,4	32,2	22,5	20,2	9,7	8,1	2,46	0,12
<i>Inga</i> sp.	17,6	68,8	55,0	28,3	13,8	26,1	8,6	1,43	0,12
<i>Samanea saman</i>	20,0	56,5	40,9	25,0	15,6	15,9	3,8	0,98	0,13
<i>Coccoloba</i> sp.	8,6	51,7	45,2	26,1	6,5	18,4	13,7	2,13	0,07
<i>Guazuma ulmifolia</i>	15,2	47,0	33,1	17,2	13,9	15,8	9,0	1,80	0,23
Media	16,0	51,4	37,5	21,8	13,9	15,6	8,7	1,8	0,1
DE	3,9	12,0	12,5	6,2	4,4	6,6	3,1	0,5	0,1

† PC: Proteína cruda (N\*6,25), FDN: Fibra insoluble en detergente neutro, FDA: Fibra insoluble en detergente ácido, Ce: Celulosa, Hemic: Hemicelulosa, Lig: Lignina, Cen: Cenizas, Ca: Calcio, P: Fósforo.

Las fracciones constituyentes de la pared celular (FDN  $51,4 \pm 12,0\%$ ; FDA  $37,5 \pm 12,5\%$ ; celulosa  $21,8 \pm 6,2\%$ ; hemicelulosa  $13,9 \pm 4,4\%$  y lignina  $15,6 \pm 6,6\%$ ) mostraron una importante variabilidad entre especies, con valores de FDN, FDA, lignina y celulosa que oscilaron entre 32,1-68,8%; 18,6-55,0%; 7,4-26,1% y 11,8-28,3%, respectivamente. En todos los casos antes citados, el límite inferior correspondió a *Senna pallida*, mientras el superior a *Inga* sp.

Estos resultados muestran diferencias al ser comparados con estudios similares (Narváez y Lascano, 2000; Baldizán, 2003; Baldizán y Chacón, 2004), lo que resalta la alta dependencia de la composición química de estos recursos con respecto al tipo de bosque, estado fenológico y época del año en que se realiza la evaluación, factores que deben ser considerados en la definición de su manejo en sistemas de silvopastoreo.

### Parámetros físicos del follaje

En el Cuadro 3 se muestran los valores de los parámetros físicos evaluados en los follajes en estudio. La DV presentó diferencias interespecíficas ( $P < 0,01$ ), con la mayor densidad para *Senna pallida* e *Inga* sp. ( $0,31 \pm 0,02$  g/mL) y un promedio general similar al  $0,26 \pm 0,04$  g/mL, reportado por Giger-Reverdin (2000) para materiales fibrosos. Alimentos con baja DV y por tanto con elevados valores de FND, presentan mayor efecto de distensión ruminal o efecto de llenado, lo que condiciona la tasa de

pasaje a partir de rumen y el consumo de materia seca. Los efectos de la DV de materiales fibrosos sobre la fisiología digestiva han sido manipulados a través del comprimido y la molienda (Montgomery y Baumgardt, 1965; Van Soest *et al.*, 1991; Wattiaux, 1993).

La D50 presentó diferencias estadísticas ( $P < 0,01$ ) entre las especies consideradas, con los menores valores para *Senna pallida* e *Inga* sp. ( $0,27 \pm 0,01$  mm). Para materiales fibrosos, se reportan valores que van desde 0,26 mm para el heno de alfalfa hasta 0,88 mm para la tusa de maíz (Giger-Reverdin, 2000). El D50 influye sobre las medidas geométricas del material en evaluación, tales como longitud, diámetro, superficie o volumen, todos relacionados con el área superficial de la pared celular que quedará directamente accesible a las secreciones digestivas y bacterianas (Savón y Gutiérrez, 1999). Una menor D50 se asocia a un menor tamaño de la estructura celular de la materia evaluada, incrementándose las posibilidades de ser completamente digerida debido a una mayor susceptibilidad al ataque de los microorganismos ruminales.

La capacidad de la pared celular para inmovilizar agua en su matriz (CRa) presentó diferencias entre las especies consideradas ( $P < 0,01$ ), con un promedio general de  $3,17 \pm 1,5$  mL/g. La literatura reporta valores de CRa para materiales fibrosos que van desde 3,80 mL/g para el heno de alfalfa hasta 8,87 mL/g para la tusa de maíz (Giger-Reverdin, 2000). Como factor

Cuadro 3. Parámetros físicos de especies leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo de un bosque seco tropical semideciduo en el estado Portuguesa

Especie	Parámetros físicos‡				
	DV	D <sub>50</sub>	CRa	SolMO	SolMin
	g/mL	mm	mL/g	----- % -----	
<i>Senna pallida</i>	0,31a†	0,27b	2,0de	22,4a	80,4a
<i>Machaerium</i> sp.	0,23d	0,31a	4,4b	10,9b	55,6c
<i>Inga</i> sp.	0,31a	0,26b	1,9e	6,6b	30,7e
<i>Samanea saman</i>	0,25b	0,34a	2,7c	9,7b	68,2b
<i>Coccoloba</i> sp.	0,24c	0,32a	2,4cd	8,6b	35,0e
<i>Guazuma ulmifolia</i>	0,24c	0,33a	5,6a	9,5b	53,5c
Media	0,26	0,31	3,17	11,3	53,9
DE	0,04	0,03	1,5	5,6	19,0

‡ DV: Densidad volumétrica, D<sub>50</sub>: Tamaño medio de partícula, CRa: Capacidad de retención de agua, SolMO: Solubilidad de la materia orgánica, SolMin: Solubilidad de los minerales.

† Medias con letras diferentes en una misma columna difieren estadísticamente (P<0,01).

que controla las características de los materiales fibrosos puede ser muy versátil, asociándose tanto al flujo de la digesta en el tracto digestivo hasta su susceptibilidad al ataque microbial en el rumen, y por tanto, su capacidad de ser degradada. Esto se deriva de las proporciones relativas de los polisacáridos que integran su fibra, donde la lignina tiene una capacidad higroscópica casi nula, mientras que las celulosas captan menos agua que las pectinas.

Las fracciones solubles de la materia orgánica y minerales mostraron diferencias entre especies (P<0,01), con valores ubicados en los rangos citados para materiales con alto contenido de pared celular (Savón y Gutiérrez, 1999; Giger-Reverdin, 2000). Aunque es un indicador frecuentemente asociado a la disponibilidad de nutrientes (Dehority y Johnson, 1964), se debe señalar que algunas sustancias presentes en los alimentos (cuerpos de Maillard, taninos y otros compuestos fenólicos solubles) presentan elevada solubilidad, pero son totalmente indisponibles al medio ruminal, tal como lo señala Van Soest (1994). Para ambos parámetros, con excepción de *Inga* sp., las leguminosas mostraron los mayores valores de solubilidad, lo cual coincide con observaciones

efectuadas por Singh y Narang (1991). Esta condición debe ser tomada en cuenta, ya que al ubicarse estos recursos en un medio deficiente en minerales para el animal en pastoreo, esta familia taxonómica podría ser considerada un importante aporte de minerales solubles al animal.

#### Relación entre parámetros químicos y físicos

En el Cuadro 4 se observa como la DV se asocia en forma directamente proporcional ( $R^2=0,42$ ;  $P<0,01$ ) con el contenido de materia orgánica y de manera inversa con la CRa ( $R^2=0,58$ ;  $P<0,01$ ). En materiales fibrosos, la relación entre la DV y el contenido de materia orgánica refleja el impacto de la pared celular sobre el volumen de los materiales, mientras que una relación inversa entre la densidad de un material y su capacidad de retención de agua es debido a que materiales con baja densidad presentan numerosos espacios vacíos en la matriz de su pared celular, los cuales pueden retener agua cuando ésta se presenta en exceso, tal como ocurre a nivel ruminal durante el proceso de inhibición de los materiales ingeridos. Esta situación se asocia a materiales que muestran elevado efecto de distensión ruminal o de llenado y

Cuadro 4. Ecuaciones de regresión entre la composición química y parámetros físicos de especies leñosas consumidas por vacunos en silvopastoreo de una selva seca tropical semidecidual en el edo. Portuguesa.

Variabes†	$y = a + bx$	P	R <sup>2</sup>
<u>DV (y)</u>			
Materia orgánica (x)	$y = -0,50 + 0,01x$	0,0002	0,42
CRA (x)	$y = 0,38 - 0,03x$	0,0000	0,58
<u>CRA (y)</u>			
Hemicelulosa (x)	$y = 0,73 + 0,18x$	0,0004	0,40
<u>SolMO (y)</u>			
FDN (x)	$y = 31,7 - 0,40x$	0,0001	0,66
FDA (x)	$y = 23,8 - 0,36x$	0,0001	0,53
Cel (x)	$y = 25,3 - 0,68x$	0,0001	0,49
<u>SolMin (y)</u>			
FND (x)	$y = 113,5 - 1,16x$	0,0001	0,56
FDA (x)	$y = 97,7 - 1,22x$	0,0001	0,63
Lig (x)	$y = 77,4 - 1,71x$	0,0003	0,41
Cel (x)	$y = 99,0 - 2,15x$	0,0001	0,50

† Variables: DV: densidad volumétrica, CRA: Capacidad de retención de agua, SolMO: Solubilidad de la materia orgánica, FDN: Fibra insoluble en detergente neutro, FDA: Fibra insoluble en detergente ácido, Cel: celulosa, Lig: Lignina y SolMin: Solubilidad de los minerales.

una baja tasa de pasaje (Singh y Narang, 1991; Van Soest, 1994).

Es conocido que las fibras denominadas dietarias tienen diferentes efectos sobre el sistema gastrointestinal. Algunas de éstas se hinchan o tienen una alta capacidad de retención de agua, factor éste que modula el ritmo con el que la dieta pasa a través del sistema intestinal, y por tanto, el consumo voluntario de alimentos (Robertson y Eastwood, 1981). Los resultados del presente estudio indican que la hemicelulosa juega un papel importante en la definición del impacto de la fracción fibra sobre la CRA, al evidenciarse una relación positiva ( $R^2 = 0,40$ ;  $P < 0,01$ ) entre ambas variables.

La solubilidad de la materia orgánica y de la fracción mineral presentaron relaciones negativas con respecto a las fracciones de fibra analizada (fibras insolubles), observándose para ambos indicadores una disminución de la solubilidad a medida que aumentan las concentraciones de la pared celular (FDN y FDA) y algunas de sus fracciones (lignina y celulosa). Esto puede estar reflejando que la fracción

de minerales se encuentre asociada en alguna medida a la pared celular de las especies en estudio, lo cual debe ser considerado al establecer las estrategias de uso de estos recursos. Frecuentemente, el contenido de materia orgánica y minerales solubles se hallan muy correlacionados (Van Soest *et al.*, 1991), lo cual no se evidenció en el presente trabajo. Esta relación es particularmente válida cuando la materia orgánica presenta alto contenido de carbohidratos de elevada solubilidad, como pectinas y almidones, los cuales no fueron evaluados en este estudio, y su potencial ausencia podría estar condicionando la falta de asociación entre SolMin y el contenido de materia orgánica.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los valores de los parámetros físicos (densidad volumétrica, tamaño medio de partícula, capacidad de retención de agua, solubilidad de la materia orgánica y de la fracción mineral) evaluados en las plantas arbustivas y arbóreas colectadas se encuentran dentro de los rangos citados en la literatura para materiales fibrosos, resaltando una importante variación entre

especies en todos estos parámetros. El contenido y composición de la pared celular se presentan como variables químicas altamente relacionadas con dichos parámetros físicos. Conjuntamente con otros mecanismos de valoración químicos y biológicos, la sistematización de este tipo de información puede contribuir a establecer la relación entre la tasa de pasaje y de degradación de estos recursos, y consecuentemente, entre consumo y utilización de materiales fibrosos en sistemas de silvopastoreo con rumiantes.

### LITERATURA CITADA

- Abarca O. 2004. Planificación del aprovechamiento de la tierra de las estaciones experimentales de la Universidad Central de Venezuela. Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>ta</sup> ed. Association of Official Analytical Chemist. AOAC International. Washington, EUA.
- Baile C. y C. McLaughlin. 1987. Mechanisms controlling feed intake in ruminants: A review. *J. Anim. Sci.*, 64: 915-922.
- Baldizán A. 2003. Producción de biomasa y nutrimentos de la vegetación del bosque seco tropical y su utilización por rumiantes a pastoreo en los llanos centrales de Venezuela. Tesis Doctoral. Doctorado en Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Baldizán A. y E. Chacón. 2004. Sistemas agroforestales con ovinos y caprinos. Memorias IV Congreso Nacional de Ovinos y Caprinos. Asoc. Nac. Ovinos y Caprinos, Universidad Nacional Francisco de Miranda. Coro, Venezuela.
- Canelones C. 2007. Estudio de la selección por vacunos y búfalos en crecimiento en silvopastoreo de una selva semicaducifolia tropical del estado Portuguesa. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Dehority B. y R. Johnson. 1964. Estimation of digestibility and nutritive value of forage by cellulose and dry matter solubility methods. *J. Anim. Sci.*, 23: 203-207.
- Fick K., L. McDowell, P. Miles, N. Wilkinson, J. Funk y J. Conrad. 1979. Métodos de Análisis de Minerales para Tejidos de Plantas y Animales. 2<sup>da</sup> ed. Universidad de Florida, Gainesville, EUA.
- Fiske C. y Y. Subarrow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66: 375-381.
- Forbes J.M. 1998. Feeding behaviour. *En* Forbes J.M. (Ed). Voluntary Feed Intake and Diet Selection in Farm Animal. CAB International, Oxon, Inglaterra. pp. 11-37.
- Giger-Reverdin S. 2000. Characterization of feedstuffs for ruminants using some physical parameters. *Anim. Feed Sci. Techn.*, 86: 53-69.
- Holeček J. 1982. Sample preparation technique for microhistological analysis. *J. Range Manage.*, 35: 267-268.
- Melcion J. y F. de Monredon. 1991. Techniques d'analyse granulométrique. *En* Linden, G. (Ed). Techniques d'Analyse et de Contrôle Dans les Industries Agro- alimentaires. Apria, Paris. pp. 216-233.
- Montgomery M. y B. Baumgardt. 1965. Regulation of food intake in ruminants. 2. Rations varying in energy concentration and physical form. *J. Dairy Sci.*, 48: 1623-1628.
- Narváez N. y C. Lascano. 2000. Caracterización química de especies arbóreas tropicales con potencial forrajero en Colombia. *Pasturas Trop.*, 26: 4-5.
- Robertson J. y M. Eastwood. 1981. An investigation of the experimental conditions which could affect water-holding capacity of dietary fiber. *J. Sci. Food Agric.*, 32: 819-825.
- Savón L y O. Gutiérrez. 1999. Manual Teórico Práctico de Caracterización de Productos Fibrosos. EDICA, La Habana. Cuba.
- Singh B. y M. Narang. 1991. Some physico-chemical characteristics of forages and their relationships to digestibility. *Indian J. Anim. Nutr.*, 8: 179-186.

- Steel R. y J. Torrie. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. 2<sup>da</sup> ed. Mc Graw-Hill. Bogotá. Colombia.
- Terril T., W. Windham, J. Evans y C. Hoveland. 1994. Effect of drying method and condensed tannin on detergent fiber analysis of *Serica lespedeza*. J. Sci. Food Agric., 66: 337-343.
- Van Soest P. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2<sup>da</sup> ed. Cornell University Press. Ithaca, NY.
- Van Soest P., J. Robertson y B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.
- Wattiaux M. 1993. A mechanism influencing passage of forage particles through the reticulo-rumen: change in specific gravity during hydration and digestion. Thesis. The University of Wisconsin, Madison, EUA.

## Efecto del peso de la donadora sobre la tasa de colecta de embriones murinos (*Mus musculus*)

Pedro Cabrera<sup>1\*</sup>, Adriana Fernandez<sup>1</sup>, Pedro Bastidas<sup>1</sup>, Edison Perozo<sup>1</sup>, Magaly Molina<sup>2</sup>, Angélica Bethencourt<sup>3</sup>, Isis Vivas<sup>4</sup>, Yuraima Reyes<sup>5</sup> y Thais Díaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Central de Venezuela (UCV), Apartado 4563, Maracay 2101A, Aragua, Venezuela. \*Correo electrónico: pedro.cabrera@ucv.ve

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Sanidad Animal, Maracay, Aragua, Venezuela. <sup>3</sup> Cátedra de Parasitología, FCV, UCV. Maracay, Aragua. Venezuela.

<sup>4</sup>Cátedra de Estadística, FCV, UCV. Maracay, Aragua. Venezuela.

<sup>5</sup>Bioterio, FCV, UCV. Maracay, Aragua. Venezuela.

---

### RESUMEN

La producción *in vivo* de embriones en la especie murina constituye una práctica biotecnológica influenciada ampliamente por una serie de variables, como dosis y tipo de hormonas superovulatorias utilizadas, la cepa y aspectos nutricionales de la donadora, entre otras. Estos factores pueden afectar en gran medida la eficiencia del sistema. Conocer y controlar la mayor cantidad de estas y otras variables permitirá obtener un número elevado de embriones de excelente calidad en corto tiempo y a muy bajo costo. Con la finalidad de evaluar la influencia del peso de la donadora al inicio del protocolo de superovulación sobre la tasa de colecta de embriones se utilizaron 54 ratones hembra agrupados de acuerdo a su peso en cinco categorías: 12,2 - 14,9; 15,0 - 17,6; 17,7 - 20,3; 20,4 - 23,0 y 23,1 - 25,8 g. Un total de 940 embriones fueron colectados, en los cuales se demostró el efecto ( $P < 0,05$ ) del peso de la donadora sobre el número de embriones colectados. Aquellas hembras con un rango de peso de 17,7 a 20,3 g presentaron mayor tasa de colecta de embriones de excelente calidad y congelables, con 10,4 y 6,0 mórulas y blastocitos/donadora, respectivamente. Estos resultados indican la importancia de considerar el peso de la hembra murina donadora antes de la aplicación del protocolo hormonal superovulatorio en un sistema de producción *in vivo* de embriones.

*Palabras clave:* embrión, murino, peso

---

### Effect of donor weight on recovery rate of murine embryos (*Mus musculus*)

#### ABSTRACT

*In vivo* production of murine embryos is a biotechnology practice widely influenced by a series of variables such as dose and type of hormone for superovulation, strain and level of nutrition of the donor, among others. These factors can affect the efficiency of the system. Therefore, knowing and controlling most of these factors would allow obtaining a higher number of excellent quality embryos at a very low cost in a shorter period of time. With the aim to evaluate the effect of the donor weight at the beginning of the superovulation protocol on the recovery rate, 54 female mice were divided according to their weight in five categories: 12.2 - 14.9, 15.0 - 17.6, 17.7 - 20.3, 20.4 - 23.0, and 23.1 - 25.8 g. A total of 940 embryos were collected, which showed a weight effect ( $P < 0.05$ ) of the donor on the number of embryos recovered. Female mice with weight between 17.7 to 20.3 g had the highest recovery rate, with 10.4 and 6.0 morulae and blastocysts/donor, respectively. These results indicate the importance of considering the weight of the murine donor female before hormonal superovulation protocol in an *in vivo* production system of embryos.

*Keywords:* embryo, murine, weight

## INTRODUCCIÓN

Bioteecnologías reproductivas como la producción y la criopreservación de embriones se encuentran en constante desarrollo (Roberts, 2001). Gran cantidad de investigaciones básicas y aplicadas sobre estos procedimientos biotecnológicos son realizadas con embriones de ratón *Mus musculus*, representando un invaluable modelo animal experimental (Rall, 1992; Mazur *et al.*, 2008; Taft, 2008).

Los embriones murinos juegan un rol importante en el desarrollo de nuevas técnicas de reproducción asistida, ya que al demostrar que estas técnicas son seguras y efectivas en el ratón pueden ser adaptadas a embriones de otras especies domésticas de interés económico como el bovino. Debido a que los costos de mantenimiento de los animales de laboratorio y de los tratamientos hormonales son considerablemente inferiores y el abastecimiento de los embriones es significativamente superior se constituye en una valiosa herramienta (Prather y First, 1988; Romero, 2001; Taft, 2008).

El número y la calidad de los embriones colectados de una donadora murina está influenciado por una gran cantidad de variables (Robinson *et al.*, 2003). Entre ellas destaca el protocolo de superovulación, en el cual se utilizan hormonas exógenas que sobrestimulan los ovarios de la hembra donadora para producir un elevado número de ovulaciones y conseguir un mayor número de embriones en un solo ciclo estral (De la Fuente, 2001). La implementación de este manejo hormonal resulta beneficiosa, tomando en cuenta que la viabilidad de los embriones colectados en hembras superovuladas no difiere de los provenientes de hembras sin tratamiento hormonal (Kovacs *et al.*, 1993). En tal sentido, Cornejo Cortés *et al.* (2006) determinaron la influencia de la dosis hormonal superovulatoria sobre la tasa de embriones colectados. Además, el tipo de hormona superovulatoria administrada (FSH o eCG) influyó la obtención de diferentes tasas de embriones colectados por donadora (Muñoz *et al.*, 1994).

Otra variable que influye sobre la tasa de colecta de ovocitos y embriones murinos corresponde a la cepa de la donadora, habiéndose reportado mayor número de embriones por donadora en cepas no consanguíneas que en cepas consanguíneas (Corbin y McCabe, 2002). Asimismo, Byers *et al.* (2006) reportaron amplias diferencias al evaluar 10 cepas

murinas con grado de consanguinidad similar, observando una baja tasa de colecta de ovocitos en donadoras de la cepa A/J, siendo marcadamente mayor para la cepa 129SI/SvImJ (4,0 vs. 39,5 ovocitos normales por hembra, respectivamente).

También los aspectos nutricionales pueden afectar a las donadoras, influyendo negativamente sobre la producción *in vivo* de embriones. En este sentido se ha reportado que la exposición de las donadoras a bajas dosis de aflatoxina B1 (3,6 ppb) en el alimento concentrado causa una marcada disminución en la calidad de los embriones murinos, observándose el citoplasma degenerado en la totalidad de los embriones colectados, sin verse afectada la tasa de colecta por donadora (Cabrera *et al.*, 2006).

Teniendo en cuenta que en un sistema de producción *in vivo* de embriones murinos existe gran cantidad de variables estudiadas y otras más no estudiadas que influyen sobre la eficiencia en la producción de grandes cantidades de embriones de excelente calidad, el objetivo del presente trabajo es determinar la influencia del peso de la donadora al inicio del protocolo de superovulación sobre el número de embriones murinos colectados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se escogieron 80 ratones hembras vírgenes de la cepa NIH (National Institute of Health), con un rango de edad entre seis a ocho semanas, agrupando 16 animales experimentales por cada una de las cinco categorías de acuerdo a su peso al inicio del protocolo de superovulación: categoría uno, con un rango de peso entre 12,2 y 14,9 g; categoría dos, 15,0 a 17,6 g; categoría tres, 17,7 a 20,3 g; categoría cuatro, 20,4 a 23,0 g y la categoría cinco, entre 23,1 y 25,8 g. Además, fueron utilizados 8 ratones machos de la misma cepa, con una edad promedio de ocho semanas, a los cuales se les comprobó su fertilidad, mediante exposición previa a hembras y nacimiento de crías viables. Se mantuvieron todos los animales en un ambiente donde se controló tanto la temperatura (promedio 24°C), como el período de iluminación, manteniendo la luminosidad entre 06:00 y 18:00 h, es decir, un período de 12 h luz y 12 h oscuridad, durante un tiempo mínimo de 10 d previo al inicio del protocolo de superovulación.

Al azar, indistintamente del peso, fueron seleccionados grupos de ocho ratones hembras para

cada jornada de colecta, los cuales simultáneamente se trataron aplicando el protocolo de superovulación descrito por Kuleshova *et al.* (2001). Se denominó día cero al inicio del tratamiento hormonal, indistintamente de la fase del ciclo estral de la donadora, ya que no existe diferencia significativa en cuanto al número de embriones colectados en las diferentes fases del ciclo estral (Muñoz *et al.*, 1992). El protocolo superovulatorio se inició con la administración de una dosis de 10 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG; Folligon<sup>®</sup>, Intervet), por vía intraperitoneal entre las 14:00 y 16:00 h. Cuarenta y ocho horas después se aplicó una dosis de 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG; Pregnyl<sup>®</sup>, Organon), por vía intraperitoneal, colocando las hembras inmediatamente en contacto con machos enteros en relación 1:1. Dieciocho horas después se visualizó la presencia del tapón vaginal como indicador positivo de monta, siendo sólo estas hembras las que fueron posteriormente colectadas el día seis entre las 08:00 y 10:00 h.

Previo a la colecta, considerando las normas de ética en animales de experimentación, se sacrificaron las donadoras por dislocación cervical. Acto seguido, a través de un abordaje abdominal, se disecaron ambos cuernos uterinos bajo lupa estereoscópica (Carl Zeiss, 40 X) colocados en una placa de Petri desechable (Falcon Integrid<sup>®</sup>; 100 x 100 mm). Cada cuerno fue separado de su respectivo ovario y oviducto, y lavado internamente con una cánula plástica (dispuesta en dirección cérvix-oviducto), adaptada a una jeringa contentiva de solución base (SB: 4 mg de albúmina sérica bovina por mL de fosfato buferado salino). Para el lavado a presión de cada cuerno se utilizó aproximadamente 1 mL de esta solución.

Las placas conteniendo la solución de lavado, se examinaron bajo un microscopio invertido (Carl Zeiss, 150 X). Los embriones identificados se transfirieron a otra placa similar, conteniendo gotas de aproximadamente 100  $\mu$ L de SB.

Todos los embriones localizados fueron sometidos a un proceso de evaluación y selección, tomando en cuenta los parámetros establecidos por Lindner y Wright (1983) en bovinos, determinando el grado de calidad como patrón para realizar su clasificación. Para efectos de este trabajo experimental, la población en estudio estuvo compuesta solamente por embriones grado uno o de excelente calidad, los cuales son embriones simétricos, esféricos, con células de

tamaño, color y textura uniforme (Lindner y Wright, 1983).

Este conjunto de embriones grado uno se clasificaron en dos sub grupos, no congelables y congelables. Los embriones no congelables son aquellos embriones en los cuales el estadio de desarrollo no se corresponde con el estadio esperado al momento de la colecta, tomando en cuenta las horas transcurridas después de la fertilización. Los embriones congelables son aquellos en los que concuerda su estadio de desarrollo con el esperado el día de la colecta (Butler y Biggers, 1989).

Los datos obtenidos fueron analizados tanto por estadística descriptiva como por la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis haciendo uso del Sistema de Análisis Estadístico (SAS, 1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación del protocolo hormonal de superovulación permitió una tasa de monta positiva total (visualización del tapón vaginal) de 67,5% (54/80), observándose 62,5; 100; 93,7; 43,7 y 37,5% de monta positiva para los grupos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente. Durante la ejecución del experimento se llevaron a cabo 54 colectas a donadoras de las 5 categorías de peso, obteniéndose 940 embriones de excelente calidad en distintos estadios de desarrollo, determinando que no hubo efecto ( $P > 0,05$ ) del peso de la donadora sobre el promedio de embriones colectados en los estadios iniciales de desarrollo (embriones de 2 a 16 células). Sin embargo, se observó un efecto significativo ( $P < 0,05$ ) del peso de la donadora sobre el promedio de embriones colectados en estadios de desarrollo más avanzados, mórula y blastocito (Cuadro 1). Es importante destacar que la mayor cantidad de embriones colectados presentaron un estadio de desarrollo de mórula y en este sentido las donadoras de la categoría tres (17,7 a 20,3 g) produjeron el mayor promedio por colecta de embriones de un mismo estadio de desarrollo, en este caso mórulas ( $10,4 \pm 2,8$ ).

Al analizar los datos presentados en el Cuadro 2 no se evidenció diferencia significativa ( $P > 0,05$ ) en el promedio total de embriones colectados, así como tampoco en el promedio de embriones congelables y no congelables colectados entre los grupos de donadoras, clasificadas por su peso al inicio del protocolo de superovulación. Es importante resaltar,

Cuadro 1. Número de embriones por colecta (promedio  $\pm$  error estándar) en distintos estadios de desarrollo obtenidos en 54 colectas y clasificados de acuerdo al peso de la donadora.

Peso	2 y 4 células	8 y 16 células	Mórulas	Blastocitos
g	----- Número -----			
12,2 a 14,9	2,6 $\pm$ 0,7a†	4,2 $\pm$ 1,5a	9,2 $\pm$ 0,8a	1,4 $\pm$ 0,5a
15,0 a 17,6	1,6 $\pm$ 0,6a	1,5 $\pm$ 0,5a	3,9 $\pm$ 0,7b	6,9 $\pm$ 1,3b
17,7 a 20,3	1,2 $\pm$ 0,5a	3,6 $\pm$ 0,9a	10,4 $\pm$ 2,8ab	6,0 $\pm$ 1,1b
20,4 a 23,0	0,5 $\pm$ 0,4a	2,0 $\pm$ 0,9a	8,7 $\pm$ 1,6ab	6,5 $\pm$ 1,4b
23,1 a 25,8	3,3 $\pm$ 1,4a	1,8 $\pm$ 0,6a	7,6 $\pm$ 2,1ab	3,1 $\pm$ 0,8ab

† Valores con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Cuadro 2. Número (n) y promedio por colecta ( $\pm$  error estándar) de embriones no congelables (ENC), embriones congelables (EC) y totales obtenidos en 54 colectas y clasificados de acuerdo al peso de la donadora.

Peso	ENC		EC		Total	
	n	Promedio	n	Promedio	n	Promedio
12,2 a 14,9	68	6,8 $\pm$ 1,3	106	10,6 $\pm$ 0,7	174	17,4 $\pm$ 1,3
15,0 a 17,6	51	3,1 $\pm$ 1,0	174	10,8 $\pm$ 1,4	225	14,0 $\pm$ 2,0
17,7 a 20,3	73	4,8 $\pm$ 1,0	247	16,4 $\pm$ 2,5	320	21,3 $\pm$ 2,8
20,4 a 23,0	18	2,5 $\pm$ 0,8	107	15,2 $\pm$ 2,2	125	17,8 $\pm$ 2,9
23,1 a 25,8	31	5,1 $\pm$ 1,9	65	10,8 $\pm$ 2,6	96	16,0 $\pm$ 3,9
Total	241		699		940	

que la categoría tres, comprendida entre los pesos 17,7 a 20,3 g, fue la que presentó el mayor promedio de embriones totales colectados por donadora (21,3), presentando además, el mayor promedio de embriones congelables por colecta (16,4).

Considerando la proporción de estructuras congelables vs. estructuras no congelables por categorías de peso de las donadoras, se evidenció que las dos categorías extremas (categorías uno y cinco) no superaron la relación 2:1, mientras que las tres categorías intermedias presentaron una relación superior a 3:1. La categoría tres presentó 3,3 estructuras congelables por cada estructura no congelable y la categoría cuatro presentó la mayor relación entre dichas estructuras en el experimento (5,9:1).

Estos resultados se correlacionan con lo reportado por Robker (2008), quien reseña que hembras murinas obesas proporcionaron ovocitos de mala calidad, y por consiguiente reducida tasa de sobrevivencia

de blastocitos y anormal diferenciación celular del embrión, resaltando el efecto del peso sobre la producción de embriones *in vivo*.

## CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio indican que es necesario tomar en cuenta el peso de la hembra donadora murina antes de iniciar el protocolo hormonal superovulatorio para la producción de embriones *in vivo*, ya que el peso corporal influye sobre la cantidad y calidad de los embriones preimplantacionales colectados. Utilizando hembras de aproximadamente 17 a 20 g se obtuvieron mayor número de embriones por hembra colectada de una manera sencilla, abundante, económica y repetible.

## LITERATURA CITADA

Butler J. y J. Biggers. 1989. Assessing the viability of preimplantation embryo *in vitro*. Theriogenology, 31: 115-126.

- Byers S.L., S.J. Payson y R.A. Taft. 2006. Performance of ten inbred mouse strains following assisted reproductive technologies (ARTs). *Theriogenology*, 65: 1716-1726.
- Cabrera P., A. Fernández, T. Díaz, P. Bastidas, M. Molina, A. Bethencourt, I. Vivas, Y. Reyes y F. Sifontes. 2006. Efecto teratógeno de la aflatoxina B1 sobre embriones murinos. *Agronomía Trop.*, 56: 485-488.
- Corbin T.J y J.G. McCabe. 2002. Strain variation of immature female rats in response to various superovulatory hormone preparations and routes of administration. *Contem. Top. Lab. Anim. Sci.*, 41: 18-23.
- Cornejo Cortés M.A., C. Sánchez Torres, J.C. Vázquez Chagoyán, H.M. Suárez Gómez, G. Garrido Fariña y M.A. Meraz Ríos. 2006. Rat embryo quality and production efficiency are dependent on gonadotrophin dose in superovulatory treatments. *Lab. Anim.*, 40: 87-95.
- De la Fuente J. 2001. Transferencia de embriones en el ganado bovino. *En* González Stagnaro C. (Ed.) *Reproducción Bovina*. Fundación Giraraz, Maracaibo, Venezuela. pp. 373-388.
- Kovacs M., L. Lowe y M. Kuehn. 1993. Use of superovulated mice as embryo donors for ES cell injection chimeras. *Lab. Anim. Sci.*, 43: 91-93.
- Kuleshova L.L., J.M. Shaw y A.O. Trounson. 2001. Studies on replacing most of the penetrating cryoprotectant by polymers for embryo cryopreservation. *Cryobiology*, 43: 21-31.
- Lindner G. y R. Wright Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20: 407-416.
- Mazur P., S. Leibo y G. Seidel. 2008. Cryopreservation of the germplasm of animals used in biological and medical research: Importance, impact, status, and future directions. *Biol. Repr.*, 78: 2-12.
- Muñoz I., A. Gutiérrez, C. Rodríguez y B. Pintado. 1992. Influencia del ciclo estral sobre la respuesta a tratamientos de superovulación en ratonas. *Rev. Exp. Anim.*, 3: 121-125.
- Muñoz I., C. Rodríguez, A. Gutiérrez, M.J. Blánquez y B. Pintado. 1994. Comparison of superovulatory response of mature outbred mice treated with FSH or PMSG and developmental potential of embryos produced. *Theriogenology*, 41: 907-914.
- Prather R.S. y N.L. First. 1988. A review of early mouse embryogenesis and its applications to domestic species. *J. Anim. Sci.*, 66: 2626-2635.
- Rall W.F. 1992. Cryopreservation of oocytes and embryos: methods and applications. *Anim. Repr. Sci.*, 28: 237-245.
- Roberts R. 2001. The place of farm animal species in the new genomics world of reproductive biology. *Biol. Repr.*, 64: 409-417.
- Robinson V., D.B. Morton, D. Anderson, J.F.A. Carver, R.J. Francis, R. Hubrecht, E. Jenkins, K.E. Mathers, R. Raymons, I. Rosewell, J. Wallece y D.J. Wells. 2003. Females used to provide fertilized eggs and blastocysts. *Lab. Anim.*, 37: 20-23.
- Robker R. 2008. Evidence that obesity alters the quality of oocytes and embryos. *Pathophysiology*, 15: 115-121.
- Romero A. 2001. Fases de un experimento y elección del modelo experimental. *En* Zuñiga J.M., J.A. Tur Marí, S.N. Milocco y R. Piñeiro (Eds.) *Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación Animal*. Mc Graw Hill Interamericana, Madrid, España. pp. 587-603.
- SAS. 1998. SAS/STAT User's Guide. Rel. 6.03. SAS Institute Inc. Cary, EUA.
- Taft R. 2008. Virtues and limitations of the preimplantation mouse embryo as a model system. *Theriogenology*, 69: 10-16.



## **Identificación de factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), bajo condiciones de cultivo suspendido en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela**

Esperanza Buitrago<sup>1</sup>, Joaquín Buitrago<sup>2</sup>, Luis Freitas<sup>3</sup> y César Lodeiros<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigaciones en Biología de Moluscos, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumana 6101, Sucre, Venezuela.

<sup>2</sup> Departamento de Estudios Especiales, Estación de Investigaciones Marinas de Margarita, Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Punta de Piedras 6318, Isla de Margarita, Nueva Esparta, Venezuela.

<sup>3</sup> Grupo de Investigaciones en Biología de Moluscos y Lab. Acuicultura, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Cumaná 6101, Sucre, Venezuela. \*Correo electrónico: cesarlodeirosseijo@yahoo.es

---

### **RESUMEN**

La ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae*, es uno de los moluscos con mayores perspectivas para el desarrollo de la acuicultura en el Caribe y costa atlántica tropical. Aunque se han realizado estudios para establecer su cultivo, no se ha determinado la influencia de los factores ambientales en el desarrollo bajo condiciones de cultivo. Individuos de 30 mm fueron cultivados en cestas españolas a 4 m de profundidad en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela. Mensualmente se determinaron la longitud y masa de la concha, así como la masa del tejido blando y los organismos y material depositado sobre las valvas (fouling), además de la supervivencia. La temperatura se registró continuamente y semanalmente se observó la transparencia del agua y se determinaron la salinidad, oxígeno, seston (total, orgánico e inorgánico) y la biomasa fitoplanctónica. La longitud dorso-ventral incrementó 89%, alcanzando tallas de 54,5 mm y 0,48 g de tejido seco, luego de recuperarse de una disminución en los meses de agosto a septiembre (meses cálidos), sugiriendo a la temperatura como un factor importante en el desove. La elevada y constante biomasa fitoplanctónica en el sistema de manglar mostró que la disponibilidad de alimento no fue limitante, lo que en conjunto con la poca variabilidad en los factores ambientales estudiados no permitieron una clara identificación de factores que afectan la varianza observada en la masa de los tejidos blandos y la sobrevivencia de *C. rhizophorae* en condiciones de cultivo suspendido, con la excepción de la incidencia eventual de gasterópodos depredadores del género *Cymatium*.

*Palabras clave:* bivalvo, cultivo de moluscos, factores ambientales, predadores, sobrevivencia

---

### **Identification of environmental factors affecting growth and survival of the mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), in suspended culture at La Restinga lagoon, Margarita Island, Venezuela**

### **ABSTRACT**

Mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, is one of the mollusks with greatest perspectives for aquaculture development in the Caribbean and the tropical Atlantic coast. Even though, many studies have been carried out to establish its culture, there has not been established which and how environmental factors influence its growth under culture condition. Spats with a mean size of 30 mm were suspended in "Spanish baskets" at a depth of 4 m during 6 months. The experiment was carried on at La Restinga lagoon, Margarita Island, Venezuela.

Recibido: 06/02/2008 Aceptado: 21/01/2009

Each month oysters were measured (ventral-dorsal and antero-posterior), and weighted (dry weight from conch, tissue and fouling). Survivorship was also evaluated. Water temperature was recorded continuously and weekly measurements of Secchi depth, salinity, oxygen, total, organic and inorganic seston, and chlorophyll *a* were determined. Results show 89% increase in ventral-dorsal size reaching sizes of 54.5 mm. Dry weight of tissue at the end of the study period was 0.48 g after a decrease during the warmer months of august and september, indicating temperature as an important factor controlling spawning. The high and constant phytoplanktonic biomass present in La Restinga lagoon showed that food availability was not a limiting factor, which together with the small variability in the studied environmental variables, made impossible to identify factors controlling growth and survival of *Crassostrea rhizophorae* in long-line suspended culture. The exception was the occasional predation by *Cymatium* snails.

*Keywords:* mangrove oyster culture, growth, predation, survival, environmental factors.

## INTRODUCCION

La ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), es una especie hermafrodita protándrica, de talla mediana-grande, que llega a alcanzar longitudes de 100 mm, y se distribuye en el Caribe y Atlántico suramericano hasta Brasil. La especie habita normalmente en ecosistemas con manglar y salinidades superiores a 30‰, comúnmente se encuentra adherida a las raíces del mangle rojo, *Rhizophora mangle*, y es explotada comercialmente, siendo la ostra de mayor producción en el Caribe (Lodeiros *et al.*, 1999).

*C. rhizophorae* es uno de los moluscos con mayores perspectivas para el desarrollo de la acuicultura en el Caribe y la costa atlántica tropical. Su cultivo está principalmente desarrollado en Cuba, país que posee una tecnología de cultivo integral y produce cantidades relevantes (1.000-2.500 t/año) (FAO, 2008). De igual manera en Brasil, Colombia y Venezuela se producen cantidades relativamente importantes, aunque no reportadas por la FAO.

En Venezuela, *C. rhizophorae* supone un recurso pesquero con una actividad económicamente importante de la cual dependen gran número de personas, siendo la única entrada de ingresos en varios grupos familiares (Gil y Moreno, 2007) y se muestra como una especie adecuada para establecer cultivos a través de cooperativas u organizaciones comunales en el occidente y oriente del país (Lodeiros y Freites, 2008). No obstante, a pesar que se han realizado varios estudios e intentos comerciales durante los años 70 y 80, y recientes estudios han permitido diseñar sistemas de captación de semilla y cultivo en suspensión (Buitrago *et al.*, 1999, 2000; Buitrago y Alvarado, 2005; Lodeiros *et al.*, 2006), su cultivo comercial no ha sido desarrollado. Entre

los factores que contribuyeron al fracaso de los primeros intentos, se reporta la presencia de gran cantidad de organismos competidores y depredadores (Vélez y Lodeiros, 1990). Revisiones sobre el cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela concluyen que existe un limitado conocimiento científico relativo a la identificación de factores que permitan establecer estrategias de cultivo para una producción sostenida (Vélez y Lodeiros, 1990; Vélez, 1991; Lodeiros y Freites, 2008).

Las ostras del género *Crassostrea*, en general, se consideran organismos con capacidad de resistencia a la variabilidad de factores ambientales y son considerados organismos eurihalinos (Quayle, 1988). La respuesta de las ostras, en términos de crecimiento y supervivencia, a las condiciones ambientales ha sido estudiada para *C. virginica* (Hofmann *et al.*, 1992, 1994; Powell *et al.*, 1995; Deksheniaks *et al.*, 2000) y para *C. gigas* (Kobayashi *et al.*, 1997; Hyun *et al.*, 2001), destacando el efecto de la disponibilidad de alimento. En *C. rhizophorae* estas respuestas en condiciones ambientales naturales han sido poco estudiadas. Por otro lado, en un estudio realizado bajo condiciones de cultivo suspendido en el Golfo de Cariaco, durante el periodo de surgencia discontinua y estratificación de la columna de agua (Villarreal *et al.*, 2004) mostraron que el crecimiento *C. rhizophorae* tan solo alcanzó 15 mm en 6 meses de cultivo, identificando a la disponibilidad de alimento como el factor limitante para el crecimiento y consideraron que tanto la incidencia del "fouling", en las cestas y sobre la concha, así como la depredación de gasterópodos del género *Cymatium* fueron factores negativos para el cultivo.

El presente estudio evalúa la influencia de factores bióticos y abióticos en el crecimiento y la

supervivencia de *C. rhizophorae*, bajo condiciones de cultivo suspendido en la Laguna La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo durante 6 meses (01 junio al 29 noviembre 2002) en la Laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela (10°, 9874521' N; 64°, 1621834' O), con semillas captadas en colectores artificiales construidos con botellas plásticas, según Buitrago *et al.* (1999).

Para el estudio se utilizaron 800 ejemplares de *C. rhizophorae* de  $29,8 \pm 5,12$  mm (DE) de longitud dorso-ventral de la concha,  $1,11 \pm 0,06$  g de masa de la concha y  $0,97 \pm 0,05$  g de tejido. Los ejemplares se distribuyeron en 8 cestas españolas con una densidad de 100 individuos por cesta, de las que 3 eran réplicas experimentales y 5 de sustitución. Las cestas se suspendieron a 1,5 m de la superficie en una zona de 4 m de profundidad, en una línea larga o "long line" que fue establecido a unos 20 m del manglar, en la zona central de la laguna.

Para estimar el crecimiento, mensualmente se determinó la dimensión de la concha en su eje máximo dorso-ventral (largo), antero-posterior (alto) e intervalvar (ancho) en todos los organismos de cada cesta con la ayuda de un vernier digital Mytutoyo (0,01 mm de apreciación). También se obtuvieron quince ejemplares de cada réplica para determinar la masa seca de la concha y tejidos blandos (60°C durante 72 h). De igual manera, fue determinada la masa seca de los organismos y material adherido a la concha o "fouling".

La supervivencia se determinó mensualmente contando la totalidad de los organismos, utilizando los individuos de las réplicas de sustitución para mantener la densidad de 100 individuos por cesta, en las tres réplicas de experimentación.

Con el fin de estudiar el efecto de los factores ambientales se determinó la temperatura del agua, oxígeno disuelto y salinidad. Además se evaluó la disponibilidad de alimento a través del seston (total, orgánico e inorgánico), transparencia del agua mediante un disco sechi y biomasa fitoplanctónica, estimada por la determinación de clorofila *a*. La temperatura se registró a intervalos de 30 min con un termógrafo electrónico (Sealog, Vemco Ltd, Halifax),

colocado a la misma profundidad del cultivo. Con una periodicidad semanal se tomaron muestras de agua con una botella Niskin de 2 L de capacidad, a la misma profundidad de las cestas. Luego las muestras fueron transferidas a un contenedor opaco y transportadas al laboratorio en menos de 1 h, cuando fueron procesadas. Submuestras de agua de 1 L, previamente tamizadas con una malla de 153  $\mu$ m de diámetro de poro fueron concentradas en filtros MSF (0,7  $\mu$ m de diámetro poro), utilizando un equipo Millipore de filtración al vacío. Los filtros con las muestras concentradas fueron lavados con formiato de amonio al 3% y almacenados a -20°C hasta su posterior análisis. El seston total, inorgánico y orgánico se determinó por métodos gravimétricos y la clorofila *a* mediante el método colorimétrico según recomendaciones en Stricklan y Pearson (1972).

Para la evaluación de los parámetros de crecimiento y la masa seca del "fouling", se determinó la normalidad de los datos y se aplicó un análisis de varianza de una vía, tomando en cuenta los muestreos realizados en cada mes como tratamientos. Como todos los parámetros mostraron diferencias significativas entre muestreos cuando se les aplicó el ANOVA ( $P < 0,05$ ), se utilizó un análisis "a posteriori" de Duncan ( $\alpha = 0,05$ ), para comparar las medias de los valores absolutos entre los meses sucesivos, en virtud de determinar crecimiento o decrecimiento significativo.

Para evaluar el efecto de los factores ambientales en el crecimiento, los valores transformados a log de la tasa diaria específica de crecimiento (división del incremento entre muestreos contiguos y dividido por el número de días de dicho periodo) de las dimensiones de concha, su peso y el de los tejidos de las ostras se contrastaron como variables dependientes con los factores ambientales (variables independientes). Para ello se utilizó un análisis de regresión múltiple "stepwise" usando el programa Statistica (StatSof, 1999). Todas las variables ambientales (excepto el fouling) se utilizaron para el análisis de regresión múltiple y mostraron un grado de asociación intermedio-bajo ( $r < 0,7$ ; correlación de Pearson), por lo que los efectos de colinearidad dentro de los modelos construidos fueron considerados mínimos (Hair *et al.*, 1992).

## RESULTADOS

### Crecimiento en longitud y masa

El crecimiento en longitud de la concha mostró dos fases bien marcadas para todas las dimensiones (Figura 1a). Una fase de crecimiento acelerado en los dos primeros meses (excepto la longitud entre valvas que fue solo el primer mes) con incrementos significativos ( $P < 0,05$ ), seguida de una fase donde el incremento de la longitud no mostró incrementos significativos ( $P > 0,1$ ). Al final de la experiencia, las ostras incrementaron en su longitud dorso-ventral, alto y entre valvas en un 82,9; 73,5 y 162,7% con respecto a la talla inicial, respectivamente, obteniendo un valor medio de  $54,5 \pm 9,8$  mm de largo, con un intervalo de tallas de 40,5 a 78,1 mm.

La masa seca de la concha mostró incrementos significativos ( $P < 0,05$ ) durante todo el periodo de estudio, excepto en el mes de septiembre (Figura 1b). Al final del experimento, la concha alcanzó valores de  $14,3 \pm 0,79$  g.

La masa seca de los tejidos de la ostra presentó un crecimiento acelerado hasta finales de julio, cuando alcanzó valores de  $0,45 \pm 0,042$  g (Figura 1c), para luego disminuir su masa en un 49 y 51% durante los meses de agosto y septiembre ( $0,22 \pm 0,032$ ), cuando se observó poco tejido reproductivo, sugiriendo una actividad de desove durante estos meses. Posteriormente, la masa de los tejidos incrementó con tasas similares a las iniciales hasta el final del experimento, cuando alcanzó  $0,48 \pm 0,057$  g, recuperando prácticamente la masa perdida en el período anterior (agosto-septiembre).

### Supervivencia

La supervivencia durante el primer mes fue alta ( $>95\%$ ). En los meses restantes la supervivencia estuvo por debajo del 85% (Figura 2). En el mes de agosto, se encontró una gran dispersión de la media de supervivencia relacionada con la presencia del gasterópodo *Cymatium poulsoni* y el decápodo *Callinectes ornatus*, lo cual afectó la supervivencia de una de las cestas. Al final del estudio, la supervivencia acumulada fue 53%.

### “Fouling” en la concha

La masa seca del “fouling” sobre las conchas incrementó hasta finales del mes de julio con un valor de  $1,67 \pm 0,24$  g, representando 30% de la masa

total de la concha. A partir de esa fecha el “fouling” disminuyó significativamente ( $P < 0,05$ ) hasta el mes de octubre ( $0,62 \pm 0,11$  g; 8,3% del peso de la concha), para luego aumentar a  $1,29 \pm 0,19$  g (9% de la concha) en el último mes del experimento (Figura 3).

### Factores ambientales

Durante todo el experimento, las temperaturas se mantuvieron siempre sobre  $27^{\circ}\text{C}$ , con un máximo de  $31,6^{\circ}\text{C}$  (Figura 4a). Entre el periodo agosto-septiembre, la temperatura fue incrementando gradualmente hasta alcanzar su máximo a finales de septiembre ( $31,3^{\circ}\text{C}$ ), para luego disminuir hasta el final del estudio, cuando fueron registradas temperaturas entre  $28$  y  $29,5^{\circ}\text{C}$ . Similares valores de temperaturas se observaron a mitad de julio. El rango de temperatura interdiaria se mantuvo generalmente con valores menores a  $2^{\circ}\text{C}$ . En cuanto a la salinidad, ésta varió en unas 4‰ (38-42‰), generalmente se mantuvo entre 40-42‰, excepto en el mes de julio, cuando disminuyó a 38‰ debido a fuertes precipitaciones (Figura 4b). El oxígeno disuelto se mantuvo alrededor de 3,5 mg/L, presentando mínimos de 2,27 mg/L en los meses de septiembre y octubre y máximos de 4,5 mg/L a principios del experimento (Figura 4c). Por otro lado, la transparencia osciló entre 1,9 y 3,1 m, manteniéndose generalmente en 2,3 m (Figura 4d), mientras que, la clorofila *a* se mantuvo generalmente sobre 3  $\mu\text{g/L}$ , con periodos de valores elevados (sobre el rango de 3,5-5  $\mu\text{g/L}$  a mitad de junio-julio) y de finales de julio a mediados de septiembre (Figura 5a). Por último, el seston total mostró valores generalmente de 5 mg/L con máximos a finales de julio (19 mg/L) y la primera semana de octubre (11 mg/L). El porcentaje del seston orgánico se mantuvo variable entre el 20-70%, manteniéndose en valores por encima del 60% en el mes de julio, agosto y finales de septiembre.

### Relación de las tasas de crecimiento y factores ambientales

Todos los factores ambientales determinados en el experimento fueron considerados en el análisis múltiple, siendo la salinidad, la transparencia (profundidad del disco secchi), la fracción orgánica del seston y la clorofila *a* los factores más frecuentemente integrados en los modelos para explicar la variabilidad de los parámetros de crecimiento (Cuadro 1). La integración de todos estos factores explicó más del 90% de la variabilidad de los parámetros de crecimiento, exceptuando la masa del tejido para la

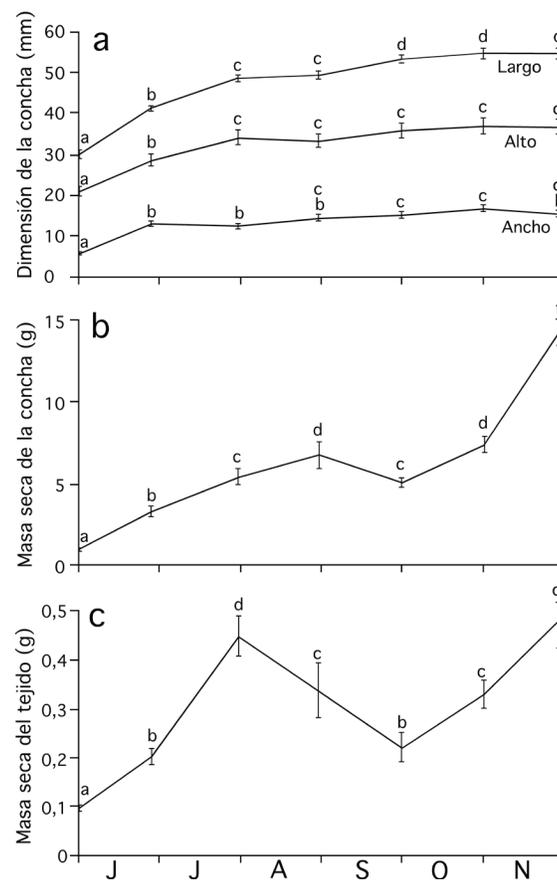


Figura 1. Valores absolutos de la dimensiones de la concha (largo, ancho y alto), masa seca de la concha y el tejido de *C. rhizophorae* bajo sistema de cultivo suspendido en la Laguna de la Restinga, Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. Las líneas verticales representan el error estándar de las medias de las réplicas (n=3). Letras iguales y diferentes representan medias iguales o diferentes significativamente (ANOVA; Duncan P<0,05).

cual no pudo construirse un modelo significativo. La salinidad fue el factor predictivo principal en los modelos y la temperatura solo intervino como factor para explicar el ancho de la concha. Por su parte, la clorofila *a* fue un factor importante para explicar la masa de la concha y la masa total de las ostras.

## DISCUSIÓN

La Laguna de la Restinga es un sistema manglar cerrado que disminuye el efecto que produce la actividad periódica de los vientos alisios que generan surgencia y estratificación de la columna de agua. De esta manera, cambios de los factores ambientales como la temperatura se minimizan debido a la protección que ofrece los manglares (Monente, 1978).

Nuestro estudio confirma dicha observación, ya que a pesar que la temperatura posee cierta variabilidad temporal, ésta siempre mantuvo una diferencia de solo 2°C, tanto del rango de temperatura diaria como de todo el periodo de estudio, asemejándose al comportamiento normal de poca variabilidad de zonas tropicales sin influencia de vientos. De igual manera, los otros parámetros físico-químicos como la salinidad, transparencia y oxígeno, mostraron poca variación y a pesar que en nuestro análisis de regresiones múltiples éstos factores ambientales, con excepción del oxígeno, fueron incluidos como variables principales predictivas en los modelos, los resultados indican que las variaciones acontecidas no mostraron una magnitud adecuada como para sugerir

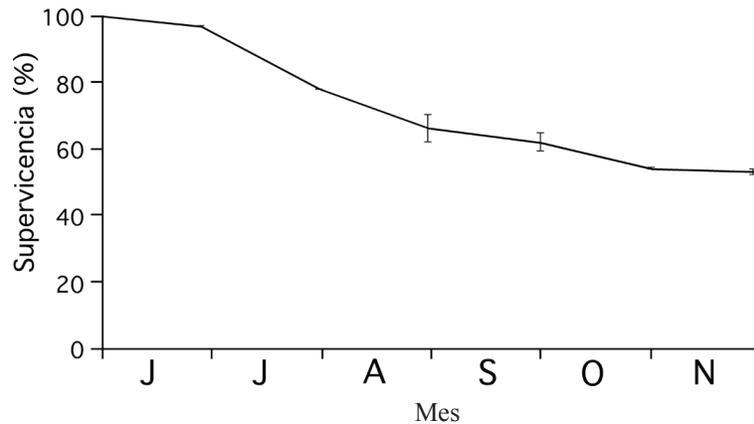


Figura 2. Supervivencia de *C. rhizophorae* bajo sistema de cultivo suspendido en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. Las líneas verticales representan el error estándar de las medias de las réplicas (n=3).

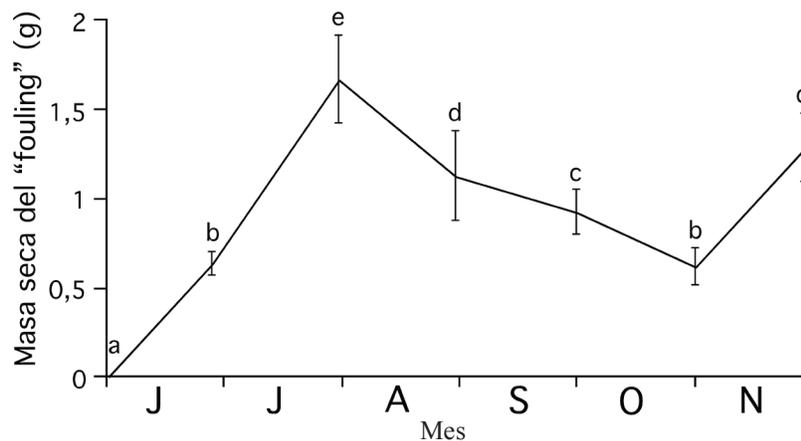


Figura 3. Masa seca del "fouling" en las conchas de *C. rhizophorae* bajo sistema de cultivo suspendido en la Laguna de la Arestinga, Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela. Las líneas verticales representan el error estándar de las medias de las réplicas (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre promedios (Duncan  $P < 0,05$ ).

cambios en los procesos fisiológicos de moluscos bivalvos (Bernard, 1983; Griffiths y Griffiths, 1987).

Por otra parte, una serie de experimentos en laboratorio con *C. rhizophorae* sugiere que la especie posee una gran capacidad de adaptación a las variaciones de los parámetros físico-químicos como salinidad, temperatura y pH, mostrándose como una especie fuertemente eurioica y resistente a rangos de elevada salinidad y temperatura (Poza y Rodríguez 1987). Esto explica porque la influencia de los factores

ambientales en las ostras en la Laguna de La Restinga no fue notable.

La única correlatividad observada con la biomasa seca de los tejidos de la ostra fue una disminución significativa en los meses de agosto y septiembre, coincidiendo con el inicio de la elevación de la temperatura del agua característica de estos meses en la zona. Esto podría explicarse por el hecho que las ostras desarrollaron su actividad reproductiva y desovaron (a juzgar por las observaciones de las características macroscópicas de las gónadas),

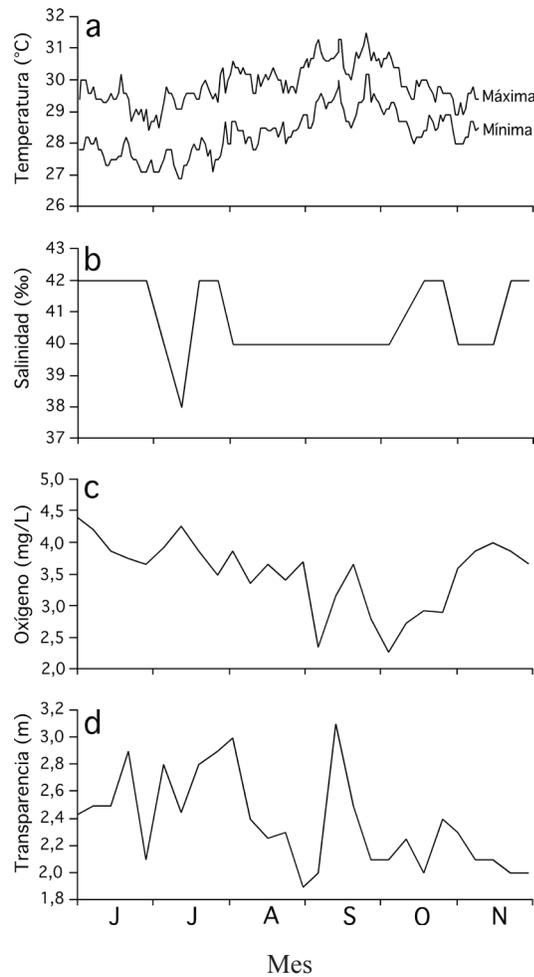


Figura 4. Parámetros físico-químicos: temperatura, salinidad, oxígeno y profundidad del disco Secchi registrados en la laguna de La Restinga, isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

disminuyendo así la masa seca del tejido durante los meses más cálidos de agosto y septiembre, para empezar la recuperación de la masa de su tejido blando cuando las temperaturas bajaron. Todo esto sugiere que la temperatura podría ser un factor importante que modula la gametogénesis y particularmente el desove de la especie en la zona de estudio. Estudios periódicos e histológicos en los tejidos de *Crassostrea rhizophorae* en relación a la temperatura y otros factores ambientales son necesarios para contrastar la hipótesis antes señalada.

En concordancia con la mayoría de los trabajos de influencia de factores ambientales en el crecimiento de moluscos bivalvos, Powell *et al.* (1995) y Hyun

*et al.* (2001) afirman que los principales factores que explican el crecimiento de las ostras de las especies *C. virginica* y *C. gigas* son la temperatura y la disponibilidad de alimento. De la misma manera, Villarroel *et al.* (2004) sugirieron que el factor principal del crecimiento de *C. rhizophorae* en el Golfo de Cariaco, un área influenciada por la surgencia costera, es la disponibilidad de alimento, llegándose a una variabilidad de clorofila *a* de elevada magnitud (0,2 a 10,5  $\mu\text{g/L}$ ), muy diferente a la variabilidad en nuestro estudio, donde los valores se muestran siempre entre 3 y 5  $\text{mg/L}$ , los cuales son considerados suficientes para satisfacer las demandas de los moluscos filtradores. De esta manera, en la laguna La Restinga, la disponibilidad

Cuadro 1. Modelos finales para explicar los parámetros de crecimiento en relación a los factores ambientales, obtenidos del análisis de regresión múltiple “stepwise”. Los valores de las variables independientes en el modelo fueron multiplicados por 100 en función de facilitar la lectura de los valores predictivos.

Parámetro	Modelo†	R <sup>2</sup>	n	gl	P
Alto	3,11(Sal) + 8,38(Sch) + 0,88(Cl) + 168.7(St) - 148,04	0,94	1237	4,1	<0,000
Largo	13,57(Sch) + 4,14(Sal) + 190,41(St) - 198,32	0,94	1237	4,1	<0,000
Ancho	-47,07(Sal) + 30,6(T) - 33,0(Sch) + 2.886,35	0,92	1237	4,1	<0,000
Tejido	nd		104		NS
Concha	-264,5(Sal) - 387(Cl) - 400,2(PSec) - 32.270(So) - 12927,4	0,99	104	4,1	<0,000
Masa total	319(Sal) + 416(Cl) + 450,3(Sch) - 3222(So) -15344,5	0,99	104	4,1	<0,028

† Sal: salinidad, T: temperatura, Sch: profundidad sechi, Cl: clorofila *a*, St: seston total, So: seston orgánico, nd: no determinado.

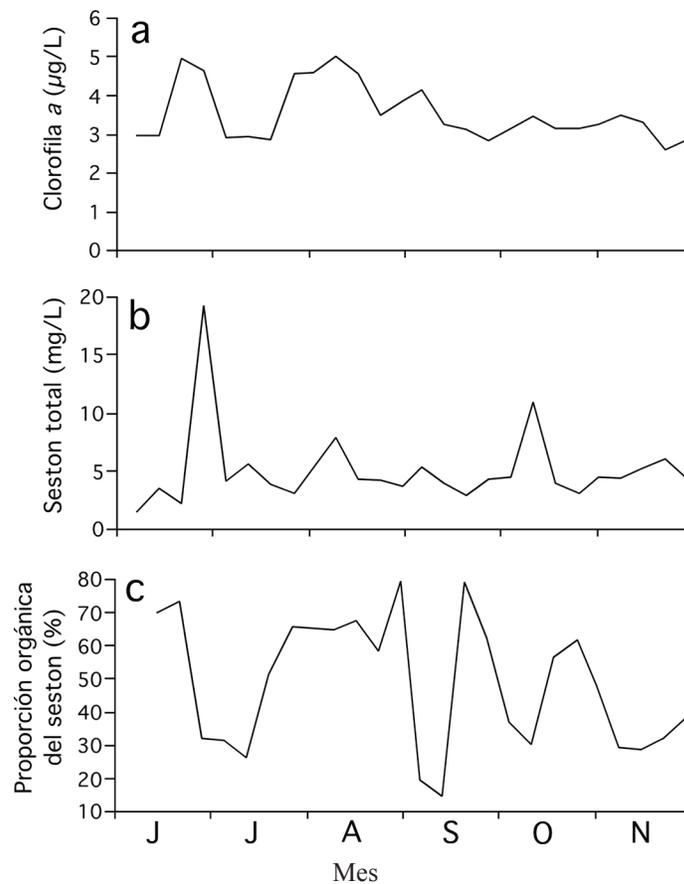


Figura 5. Parámetros relativos al seston: seston total, seston orgánico y biomasa fitoplanctónica estimada por clorofila *a* en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, estado Nueva Esparta, Venezuela.

de alimento relativo a la biomasa fitoplanctónica no parece ser limitante. A pesar que la clorofila *a* es una de las variables que se incluyeron en el modelo para explicar la variabilidad de la masa de la concha, su carácter secundario y valor negativo muestra que no es limitante y que la variabilidad puede ser explicada más por otros factores ambientales o factores endógenos, como la formación de tejido gonadal que puede exigir energía que podría ser dirigida a los procesos de crecimiento somáticos, tal y como ocurre en bivalvos por razones evolutivas (Toumi *et al.*, 1983). Tal canalización energética preferencial de reservas para la gametogénesis y que afecta el crecimiento somático ha sido señalada para muchos bivalvos, incluyendo los cultivados en el nororiente de Venezuela (Lodeiros y Himmelman, 2000; Narváez *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2003). La ausencia de modelos significativos que pudieran explicar la variabilidad de los tejidos de *C. rhizophorae*, a través de los factores ambientales estudiados, sugiere la posibilidad de una mayor importancia de la modulación endógena que de la exógena del crecimiento de las ostras bajo cultivo suspendido, en la Laguna de la Restinga.

La presencia de organismos epibiontes y material depositado sobre las cestas de cultivo y las conchas (“fouling”) ha sido identificada como una de las principales causas que inhiben y reducen el crecimiento de las ostras (Angell, 1973; Vélez y Lodeiros, 1990; Nascimento, 1991). El “fouling” sobre la concha puede interferir mecánicamente en la acción de apertura de la concha, sea por interferencia en los bordes de la concha o por su peso, el cual genera una fuerza antagónica a la ejercida por el gozne o ligamento. Esto no permitiría abrir la concha cuando el músculo abductor se relaja, afectando a su vez el proceso de filtración (Lodeiros, 2002). No obstante, Lodeiros *et al.* (2002) en un estudio sobre el efecto de la posición y peso del “fouling” en la concha de *C. rhizophorae* bajo condiciones de cultivo suspendido, concluyen que es improbable que el “fouling” pueda tener efecto mediante el peso en condiciones de cultivo, por lo que su efecto más bien podría ser debido a otro tipo de acción ejercida por los epibiontes (esponjas, hidroides, anémonas, cirrípedos, briozoos, tunicados, algas y algunos pocos mejillones (*Perna viridis*) y particularmente incrustantes como poliquetos espionidos del género *Polydora*, los cuales pueden afectar el crecimiento de ostras (competidores por el alimento), o bien su aceptabilidad por parte del

consumidor (Handley y Bergquist, 1997). El “fouling” sobre las ostras, en el presente estudio, alcanza 30% de la masa seca de la concha y si bien este valor no es excesivamente alto, se observó que el “fouling” sobre las cestas de cultivo fue bastante alto, aunque no fue evaluado en este estudio.

La incidencia del decápodo *Callinectes ornatus* y particularmente del gasterópodo *Cymatium poulsoni* en una de las cestas experimentales en el mes de agosto condujo a una disminución elevada de la supervivencia, lo cual identifica a la depredación como un importante factor en el cultivo, tal y como lo sugirió Villarroel *et al.* (2004), en el Golfo de Cariaco, donde existe una mayor incidencia del gasterópodo en los cultivos. Las especies del gasterópodo *Cymatium* son consideradas uno de los principales factores que afectan de manera negativa al cultivo de moluscos bivalvos en el nororiente de Venezuela (Lodeiros y Freitas, 2008) y probablemente del Caribe y costa atlántica, debido a su distribución. En este sentido, Freitas *et al.* (2000) mostraron que en poco tiempo, probablemente un mes, un solo individuo puede acabar con la población incluida en las cestas de cultivo, por lo que se recomienda, al menos en los primeros meses de cultivo, una inspección y retiro continuo de estos organismos dentro de las cestas. También recomienda la realización de estudios de biocontrol con organismos como erizos que puedan eliminar larvas y organismos juveniles de este gasterópodo. Una alternativa para la eliminación de depredadores y organismos del “fouling” podría ser el sometimiento de las cestas de cultivo a desecación por un período prolongado, tal como ocurre, debido a las mareas, con las ostras en condiciones naturales en el manglar; de esta manera, el cultivo en la zona intermareal podría ser una estrategia adecuada para *C. rhizophorae*.

En cuanto al crecimiento se refiere, las ostras cultivadas obtuvieron un incremento de 24,7 mm en 6 meses, el cual representó 83% de la dimensión inicial de la concha con una supervivencia acumulada del 53%. Este crecimiento fue alto, comparado con ostras provenientes de la misma cohorte y cultivadas en Turpialito, Golfo de Cariaco (44,6%), bajo las mismas condiciones (Villarroel *et al.*, 2004). En contraste, el mismo crecimiento fue bajo si los comparamos con los obtenidos, también en 6 meses, por Buitrago *et al.* (2000), en la misma zona de estudio, donde el incremento de la concha fue 128%, mientras que el observado en Cubagua por Hernández *et al.* (1998)

fue 189%. A diferencia del presente estudio, en los dos estudios antes mencionados los ejemplares fueron cultivados en linternas que fueron suspendidas de balsas flotantes. Por otra parte, Angell (1973) en un estudio de cultivo de *C. rhizophorae*, en la Laguna de La Restinga, fijadas en colectores de asbesto y suspendidas en balsa encontró mayor crecimiento que en todos los estudios anteriores (68 mm en 6 meses); sin embargo, la supervivencia fue 10%, imputando este resultado a la baja densidad de organismos por área. Lodeiros *et al.* (2006) en un estudio realizado para seleccionar el tipo de cesta y sistema de cultivo ("long line" vs. balsa), en la misma zona de estudio, determinó un mayor crecimiento en balsa y con cestas tipo linternas. La diferencia de estos estudios radica en la utilización de sistemas (balsas y "long line") y recintos de cultivo diferentes (cestas, asbesto) con diferente densidad de siembra, lo cual sugiere la realización de estudios multifactoriales que contemplen diferentes densidades, diseños de cestas y sistemas de cultivo.

Al final de la experiencia, las ostras incrementaron entre valvas en 163% con respecto a los valores iniciales, a diferencia de las dimensiones dorso-ventral y antero-posterior de la concha (<83%). Este incremento entre valvas del doble de las otras dimensiones generó una morfología particular en la ostra, donde la valva izquierda se muestra de forma cóncava y la derecha y superior plana, generando mayor cavidad intervalval y con ello mayor biomasa que las encontradas en la naturaleza de la misma talla dorso-ventral y antero-posterior (observación personal). Esta característica de las ostras cultivadas en suspensión le confiere una mayor producción de la vianda y parece estar asociada al método de cultivo sin fijación en un sustrato, como ocurre en la naturaleza. Estudios comparativos de estas dos situaciones con análisis morfo y gravimétricos son recomendados.

### CONCLUSION

Nuestros resultados muestran poca variabilidad ambiental en el sistema de manglar de la Laguna de la Restinga unido con una elevada biomasa fitoplanctónica y por ende la inexistencia de identificación de factores ambientales que afecten de manera significativa la varianza observada en la masa de los tejidos blandos y la sobrevivencia de *C. rhizophorae*, en condiciones de cultivo suspendido en long line.

### AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se llevó a cabo cofinanciamiento del proyecto FONACIT N° 2000001415 titulado "Transferencia tecnológica del cultivo de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* en el estado Nueva Esparta. Agenda Pesca y Acuicultura" Se agradece la asistencia técnica de Karem Lunar, Pulido Moreno, Zoila Vázquez y Juan Carlos Capelo. La Fundación para la Investigación y Desarrollo de la Acuicultura del estado Sucre contribuyó parcialmente en esta investigación, siendo ésta su contribución No. 9.

### LITERATURA CITADA

- Angell C. 1973. Crecimiento y mortalidad de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae*. Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle, 94-95: 152-162.
- Bernard F. 1983. Physiology and the mariculture of some northeaster pacific bivalve molluscs. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci., 63.
- Buitrago E. y D. Alvarado. 2005 A highly efficient oyster spat collector made with recycled materials. Aquacult. Eng., 33(1): 63-72.
- Buitrago E., K. Lunar y P. Moreno. 2000. Cultivo piloto de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita. Memoria Fundación La Salle, 154: 25-38.
- Buitrago E., P. Moreno, K. Lunar y Z. Vázquez. 1999. Cultivo suspendido de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* en la laguna de La Restinga, evaluación de sistemas de fijación de semilla. Memorias 29<sup>na</sup> Reunión Asociación de Laboratorios Marinos del Caribe, Cumaná, Venezuela.
- Deksheniaks M., E. Hofmann, J. Klinck y E. Powell. 2000. Quantifying the effects of environmental change on an oyster population: A modelling study. Estuaries, 23: 593-610.
- FAO. 2008. Fisheries and Aquaculture Department Fishery Statistical Collections 1950-2005. Global Aquaculture Production. Disponible en línea en <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production>.
- Freites L., J. H. Himmelman y C. Lodeiros. 2000. Impact of predation by gastropods and crabs

- recruiting onto culture enclosures on the survival of the scallop *Euvola ziczac* (L.) in suspended culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 244: 295-303.
- Freites L., C. Lodeiros, N.G. Narváez, y J.M.F. Babarro. 2003. Growth and survival of the scallop *Lyropecten (Nodipecten) nodosus* (L., 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela), during a non-upwelling period. *Aquacult. Res.*, 34: 709-718.
- Gil H. y M. Moreno. 2007. Explotación y comercialización de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae*, en algunas playas turísticas del estado Sucre, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 25: 215-219.
- Griffiths C.L. y R.J. Griffiths. 1987. Bivalvia. *En* Pandian J.H. y F.J. Vernberg (Eds.) *Animals Energetic*. Vol. 2. Academy Press, New York, EUA. pp. 1-88.
- Hair J.F., R.E. Anderson, R.L. Tatham y W.C. Black. 1992. *Multivariate Data Analysis*. Mac Millan Pub. Co., New York, EUA.
- Handley S.J. y P. Bergquist. 1997. Spionid polychaete infestations of intertidal pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg), Mahurangi Harbour, northern New Zealand. *Aquaculture*, 153: 191-205.
- Hernández O., L. Troccoli y Q. Millán. 1998. Crecimiento, engorde y supervivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) en la Isla de Cubagua, Venezuela. *Caribb. J. Sci.*, 34: 243-249.
- Hofmann E., E. Powell, J. Klinck y E. Wilson 1992. Modeling oyster populations III. Critical feeding periods, growth, and reproduction. *J. Shellfish Res.*, 11: 399-416.
- Hofmann E., J. Klinck, E. Powell, S. Boyles y M. Ellis. 1994. Modelling oysters populations II. Adult size and reproductive effort. *J. Shellfish Res.*, 13: 165-182.
- Hyun K., C. Pang, J. Klinck, J. Choi, E. Powell, E. Hofmann y E. Bochenek. 2001. The effect of food composition on Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) growth in Korea: a modelling study. *Aquaculture*, 199: 41-62.
- Kobayashi M., E. Hofmann, E. Powell, J. Klinck y K. Kusaka. 1997. A population dynamic model for the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 149: 285-321.
- Lodeiros C. 2002. Cuestión de peso y posición. *Rev. Biol. Trop.*, 50: 875-878.
- Lodeiros C. y L. Freites 2008. Estado actual y perspectivas del cultivo de moluscos bivalvos en Venezuela. *En* Lovatelli A., U. Iker y A. Farias (Eds.) *Estado Actual del Cultivo y Manejo de Moluscos Bivalvos y su Proyección Futura: Factores que Afectan su Sustentabilidad en Latinoamérica*. Taller Técnico Regional de la FAO. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Roma, Italia.
- Lodeiros C. y J. H. Himmelman. 2000. Identification of factors affecting growth and survival of the tropical scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in the Golfo de Cariaco, Venezuela, *Aquaculture*, 182: 91-114.
- Lodeiros C., B. Marin y A. Prieto. 1999. Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela. Clase Bivalvia. Edición APUDONS. Cumaná, Venezuela..
- Lodeiros C., E. Buitrago y A. Guerra. 2006. Evaluación del tipo de cestas de cultivo para la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* suspendidas en long line y balsa. *Ciencias Marinas*, 32: 331-337.
- Monente J. 1978. Estudio químico físico de la laguna de La Restinga, *Memoria Soc. Cienc. Nat. La Salle*, 28: 227-309.
- Narváez N., C. Lodeiros, L. Freites, M. Núñez, D. Pico y A. Prieto. 2002. Abundancia de juveniles y crecimiento de la concha abanico *Pinna carnea* (Gmelin, 1791) en cultivo suspendido. *Rev. Biol. Trop.*, 48: 785-797.
- Nascimento I. 1991. *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) and *C. brasiliiana* (Lamarck) in South and Central America. *En* Menzel W. (Ed.) *Estuarine and Marine Bivalve Mollusk Culture*. CRC Press. Boston, EUA. pp.125-134.
- Powell E.N., J. Song, M. Ellis y E. Wilson-Ormond. 1995. The status of long-term trends of oyster

- reefs in Galveston bay, Texas. *J. Shellfish. Res.*, 14: 439-457.
- Poza J. y R. Rodríguez. 1987. Supervivencia de la ostra de mangle *Crassostrea rhizophorae* a las variaciones de temperatura, salinidad y pH. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle*, 18(127-128): 217-231.
- Quayle D.B. 1988. Pacific oyster culture in British Columbia. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 218. Ottawa, Canada.
- StatSoft. 1999. *Statistica User's Manual*. StatSoft Inc. Tulsa, EUA.
- Strickland J.D.H. y T.R. Pearson. 1972. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*. 2<sup>da</sup> ed. Fish. Res. Board. *Can. Bull.*, 167. Ottawa, Canada.
- Toumi J., T. Hakala y E. Haukioja. 1983. Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction and selection in life history evolution. *Am. Zool.*, 23: 25-34.
- Vélez A. 1991. Biology and culture of the Caribbean mangrove oyster, *Crassostrea rhizophorae*, Guilding, in the Caribbean and South America. *En* Menzel W. (Ed.) *Estuarine and Marine Bivalve Mollusc Culture*. CRC Press. Boston, EUA. pp. 117-124.
- Vélez A. y C. Lodeiros. 1990. El cultivo de Moluscos en Venezuela. *En* Hernández R.A. (Ed.) *Reunión del Grupo de Trabajo Técnico*. Red Regional de Entidades y Centro de Acuicultura de América Latina. Bogotá, Colombia. pp. 345-368.
- Villarroel E., E. Buitrago y C. Lodeiros. 2004. Identification of environmental factors affecting growth and survival of the tropical oyster *Crassostrea rhizophorae* in suspended culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 14(1): 28-35.

## Evaluación de la levadura de vinazas (torula) en la alimentación de alevines de *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)

José E. Llanes Iglesias\*, José Toledo Pérez y José M. Lazo de la Vega Valdez

Centro de Preparación Acuícola Mampostón. Carretera Central km 41, Morales, San José de las Lajas, La Habana. Cuba.  
\*Correo electrónico: jellanes@telemar.cu

---

### RESUMEN

Se ensayaron dos dietas experimentales que difirieron en el valor de inclusión (10 y 20%) de levadura de torula obtenida a partir de vinazas de destilería, como sustituto parcial de la harina de pescado en el alimento comercial utilizado en el alevinaje de *Clarias gariepinus* (1,30 g de peso inicial) durante 40 días. El diseño experimental fue completamente aleatorizado y el análisis estadístico se realizó mediante el análisis de varianza y las medias se compararon a través del test de Duncan al 5%. Los resultados mostraron que los indicadores de crecimiento, conversión alimentaria, eficiencia proteica y tasas de supervivencias no fueron afectados ( $P>0,05$ ) por los niveles de levadura evaluados. Se concluye que la levadura de vinazas puede sustituir un 20% de harina de pescado en el alimento comercial de alevinaje de *C. gariepinus*, con un ahorro de 20,2% por conceptos de alimentación.

*Palabras clave:* alimentación, *Clarias* sp., levadura, vinazas, torula.

---

### Evaluation of (torula) vinazas yeast in the feeding for fingerling of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)

### ABSTRACT

Two diets, which differed in the inclusion value (10 and 20%) of vinazas yeast, were tested as partial substitutes of fish meal in commercial food in fingerling farming of *Clarias gariepinus* (1.30 g as initial weight) during 40 days. The experimental design was completely randomized and the statistical analysis of the results was done through analysis of variance and the results were compared through the Duncan test at 5%. The results showed that growth indicators, feed conversion rate, protein efficiency, and survival rate were not affected ( $P>0.05$ ) by the vinazas yeast levels evaluated. It was concluded that the substitution of 20% of fish meal by vinazas yeast in commercial fingerling food for *C. gariepinus* is possible, with a 20.2% reduction of costs in relation to feeding concepts.

*Keywords:* feeding, *Clarias* sp., yeast, vinazas, torula.

---

### INTRODUCCIÓN

La tecnología de cultivo de *Clarias* sp. contempla una etapa de alevinaje superintensivo para obtener peces de 10 g de peso en 35 días, utilizando un alimento balanceado comercial de 48% de proteína bruta, cuya base es la harina de pescado. Sin embargo,

en la actualidad es difícil su adquisición por la poca disponibilidad de esta materia prima dado sus precios en el mercado internacional.

Actualmente, las proteínas unicelulares tales como microalgas, bacterias y levaduras se han convertido en fuentes no convencionales de mucha importancia

en la alimentación animal. De ellas, las levaduras son usadas con mayor frecuencia en las formulaciones de alimentos acuícolas por ser una fuente rica en proteínas, vitaminas del complejo B, carbohidratos complejos y nucleótidos (Olvera Novoa *et al.*, 2002; Li y Gatlin, 2006), además de poseer niveles más bajos de fósforo que ayudarían a disminuir la contaminación del agua y el ambiente en relación a la harina de pescado y otras proteínas vegetales (Cheng *et al.*, 2004).

Hoy, la agroindustria azucarera cubana produce una levadura de torula (*Candida utilis*) a partir de la fermentación de residuales del proceso de obtención de etanol llamada levadura de vinazas, la cual no difiere significativamente en cuanto a su calidad nutricional de la obtenida sobre mieles finales de caña (Saura, 2006).

En tal sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar dos niveles de inclusión de levadura de vinazas como sustituto parcial de la harina de pescado en el alimento comercial utilizado en el alevinaje superintensivo de *Clarias gariepinus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron alevines de *Clarias gariepinus* (1,30 ± 0,01 g de peso inicial), los cuales fueron distribuidos en grupos de 70 en recipientes de fibra de vidrio con capacidad de 64 L (aproximadamente 1.000 peces/m<sup>3</sup>), correspondiendo 3 recipientes por tratamiento. Durante el bioensayo el flujo de agua se estandarizó en los recipientes a 0,2 L/min y se tomaban los valores de temperatura y concentración de oxígeno disuelto con un oxímetro Hanna.

La levadura de vinazas utilizada en este estudio fue adquirida en el Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) y su composición química se presenta en el Cuadro 1. Con esta levadura se ensayaron dos dietas experimentales que difirieron en la cantidad (10 y 20%) de inclusión como sustituto parcial de la harina de pescado en el alimento comercial (AC) utilizado en el alevinaje superintensivo de *Clarias sp.* (Cuadro 2).

Para la preparación de las dietas se molieron las harinas a 250  $\mu$ m en un molino de martillo, mezclándose en seco hasta su homogenización (10 min), luego se agregó agua (30% del peso seco) y se continuó el mezclado (10 min). Posteriormente, la mezcla se peletizó en un molino de carne Javar 32

con un disco de orificios de 3 mm. Los pellets fueron secados en una estufa con ventilación forzada a 55°C durante 48 horas.

El análisis químico de las dietas fue realizado según los métodos descritos por la AOAC (1995). La energía digestible (ED) se calculó utilizando 3,00 para carbohidratos (no leguminosa) y 2,00 (leguminosa), 4,25 proteína animal, 3,80 proteína vegetal y 8,00 kcal/g para lípidos, respectivamente (Pezzato *et al.*, 2001).

Dadas las diferencias de proteínas bruta entre las dietas experimentales, la tasa de adición de alimento fue calculada según el procedimiento descrito por Llanes *et al.* (2007), utilizando 7,50 g proteína bruta/100 g peso vivo como requerimiento de *Clarias gariepinus* (1,0 g de peso promedio), correspondiendo 15,67% del peso corporal/día para la dieta 1 (D1), 16,33% para la dieta 2 (D2) y 16,65% para la dieta 3 (D3), las cuales fueron suministradas en cuatro sub-raciones/día (8:30, 11:30, 14:00 y 16:30 h) durante 40 días. Cada 10 días se pesaban todos los peces para ajustar la ración.

Los indicadores nutricionales evaluados fueron peso medio final, ganancia diaria (peso final – peso inicial/tiempo de cultivo), eficiencia proteica (ganancia en peso/proteína suministrada), conversión alimentaria (alimento añadido /ganancia peso) y supervivencia (Numero de animales finales/ Numero de animales iniciales \* 100). A estos indicadores se les realizó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza y un análisis de varianza de clasificación simple. Las medias fueron comparadas por la prueba de comparación múltiple de Duncan por medio del paquete Statistica para Windows, versión 6.0 (2000).

Se realizó una valoración económica con los precios de las dietas experimentales brindados por el Departamento de Economía del Grupo Empresarial INDIPES (Ministerio de la Industria Pesquera) y las conversiones alimentarias obtenidas en este estudio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura y el oxígeno disuelto del agua de los recipientes oscilaron entre 24,5 - 26,0°C y 3,1 - 5,0 mg/L, respectivamente. El nivel de amonio fue monitoreado y mantenido en niveles bajos de 0,02 mg/L, a través del sifón y la circulación de agua. Estos valores están dentro de los parámetros ambientales

Cuadro 1. Composición química de la levadura de vinazas.

Indicador	Contenido
	%
Materia seca	91,89
Proteína bruta	45,03
Extracto etéreo	1,21
Fibra bruta	0,63

Cuadro 2. Composición porcentual y química de las dietas experimentales.

Ingrediente	Dieta <sup>†</sup>		
	D1	D2	D3
	----- % -----		
Harina de pescado	60	50	40
Levadura de vinazas	0	10	20
Harina de soya	15	15	18
Harina de trigo	19	19	16
Aceite vegetal	4	4	4
Premezcla de Vit-Min	2	2	2
Total	100	100	100
Proteína bruta	47,86	46,01	45,12
Extracto etéreo	9,35	8,89	8,01
Extracto libre de nitrógeno	18,02	21,09	23,34
Energía digestible (kcal/kg)	3.209	3.138	3.046

<sup>†</sup> D1: alimento comercial, D2: Sustitución de 10% y D3: Sustitución de 20%.

adecuados para un buen desarrollo de la especie según De Graaf y Janssen (1996).

La composición química de las dietas experimentales (Cuadro 2) indicó que fueron son isoprotéicas, pero presentaron valores superiores e iguales a 45% de proteína bruta que cubren los requerimientos de esta especie para estos cultivos de altas densidades (Vidotti *et al.*, 2000), por lo cual no se evaluaron valores superiores de levadura para no disminuir los contenidos de proteína dietética. Su aceptación fue buena y las cantidades de alimento suministrado eran consumidas rápidamente desde la primera semana.

El Cuadro 3 presenta el comportamiento de los alevines de *Clarias gariepinus* alimentados con las dietas experimentales durante 40 días. El análisis

estadístico mostró que el crecimiento (peso medio final y ganancia diaria), la conversión alimentaria, la eficiencia proteica y la tasa de supervivencia no difirieron estadísticamente ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos.

Los resultados alcanzados en este trabajo tienen puntos coincidentes con los realizados anteriormente por Toledo *et al.* (2000) y Millares *et al.* (2000), quienes al comparar varias dietas artificiales combinadas con alimento vivo (*Moina* spp) en larvas de esta misma especie, obtuvieron los mejores crecimientos y tasas de supervivencias con la dieta que contenía 50% de levadura de torula a partir de miel de caña. De igual forma, Olvera Novoa *et al.* (2002), evaluando el reemplazo de harina de carne por diferentes niveles (25 a 45%) de levadura de torula en larvas de tilapias (*Oreochromis mossambicus*), encontraron los

Cuadro 3. Parámetros productivos y supervivencia de *Clarias gariepinus* al ser alimentados con levadura de vinazas.

Indicadores	Dieta <sup>†</sup>		
	D1	D2	D3
Peso medio final, g	19,74 ± 4,21	19,58 ± 3,89	21,26 ± 4,93
Ganancia diaria, g/d	0,47 ± 0,07	0,46 ± 0,06	0,50 ± 0,07
Conversión alimentaria	1,43 ± 0,15	1,49 ± 0,11	1,29 ± 0,03
Eficiencia proteica	1,50 ± 0,13	1,43 ± 0,10	1,79 ± 0,04
Supervivencia, %	73,66 ± 0,06	74,66 ± 0,05	78,00 ± 0,06

<sup>†</sup> D1: alimento comercial, D2: Sustitución de 10% y D3: Sustitución de 20%.

crecimientos más altos y los mejores indicadores de utilización del alimento y proteína con 30 y 25% de inclusión, respectivamente. Estos autores reportaron que la aceptación del alimento y la supervivencia no fueron afectadas por los contenidos crecientes de levadura. Por el contrario, otros estudios han mostrado que la utilización de levadura de cervecerías *Saccharomyces cerevisiae* (Rumsey *et al.*, 1991) y proteínas unicelulares bacterianas (Perera *et al.*, 1995), por encima de 25% de inclusión disminuyó el crecimiento y la utilización del alimento en truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). También, Otávio de Almeida *et al.* (2003) reportaron que 15% podía ser el límite de inclusión de levadura de cerveza en dietas para tilapias sin causar un efecto adverso en el consumo diario, desempeño productivo y composición corporal.

Los bajos crecimientos en peces alimentados con altos niveles de levaduras han sido atribuidos a un desequilibrio de aminoácidos dietéticos, altos contenidos de ácidos nucleicos y la baja palatabilidad de las raciones (Otávio de Almeida *et al.*, 2003). Es indiscutible el uso de raciones nutricionalmente completas y balanceadas en los cultivos intensivos de peces cuando no hay posibilidad al uso del alimento natural o plancton. En estos casos la alimentación abarca del 60-70% de los costos totales de producción (Pezzato *et al.*, 2001), principalmente por que se necesitan raciones más proteicas que para otros monogástricos. Tradicionalmente, se han utilizado las harinas de origen animal por presentar altos contenidos de proteínas, un balance de aminoácidos adecuado con relación a las exigencias mínimas de los peces carnívoros y omnívoros y tener buena palatabilidad, pero hoy sus altos precios han limitado su utilización

en contraposición a los precios más accesibles de las proteínas de origen vegetal y unicelulares, que con las técnicas modernas de tratamientos se tornan más digeribles, lo cual pueden acabar por sustituir total o al menos parcialmente estas harinas de origen animal, garantizando la creación de una base alimentaria sostenible.

Las tasas de supervivencias alcanzadas en este estudio fueron relativamente altas (mayores de 70%) para esta etapa (alevinaje) y tipo de cultivo (superintensivo), teniendo en cuenta que la especie es predadora omnívora y oportunista coincidiendo con De Graaf y Janssen, (1996). Los peces alimentados con la dieta de 20% de levadura presentaron alta supervivencia (78%), pero no difirió significativamente ( $P > 0,05$ ) a los otros tratamientos (73 y 74%).

El Cuadro 4 muestra los costos para producir una tonelada de alevines de *Clarias* sp. con 20 g de peso promedio, donde se ahorra 20,2% de moneda libremente convertible (CUC), al sustituir 20% de harina de pescado, lo cual es evidente, por el precio de la levadura de vinazas (651,44 CUC/t) vs. la harina de pescado la cual fluctúa y es superior a los 1.100,00 CUC/t. Además, los valores avalan las perspectivas de usar un nuevo subproducto de la agroindustria azucarera (levadura de vinazas) como portador de proteínas y otros nutrientes en la dieta de estos peces, lo que abarata las inversiones de esta tecnología de cultivo superintensivo.

Los resultados obtenidos en este estudio revisten gran importancia, pues actualmente la fabricación de dietas para la acuicultura depende en gran medida de la harina de pescado. La progresiva escasez y altos precios de este insumo en el mercado internacional

Cuadro 4. Valoración económica del empleo de la levadura de vinazas.

Dietas†	Precio	Conversión alimentaria	Costo de alevines	Ahorro	
	CUC/t		CUC/t	CUC/t	%
D1	869,65	1,43	1.243,59	-	-
D2	824,79	1,49	1.228,93	14,66	1,24
D3	769,43	1,29	992,56	251,03	20,19

† D1: alimento comercial, D2: Sustitución de 10% y D3: Sustitución de 20%.

hace que las raciones comerciales de calidad dependan de soluciones locales para su sustitución, tanto en el aspecto nutricional como económico y en este caso se presenta la levadura de vinazas como una alternativa local que disminuye los costos de las raciones comerciales sin afectar los indicadores productivo del alevinaje de *Clarias* sp.

### CONCLUSIONES

La levadura de vinazas puede sustituir en 20% de la harina de pescado en el alimento comercial utilizado para el alevinaje de *Clarias gariepinus*, representando un ahorro de 20,2% por conceptos de alimentación.

### LITERATURA CITADA

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 15<sup>ta</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA.
- Cheng Z.J., R.W. Hardy y N.J. Huige. 2004. Apparent digestibility coefficients of nutrients in brewer's and rendered animal by-products for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)). *Aquacul. Res.*, 35: 1-9.
- De Graaf G. y H. Janssen. 1996. Artificial reproduction and pond rearing of African catfish, *Clarias gariepinus*, in sub-Saharan Africa. A Handbook. FAO Fish. Tech. Paper No. 362. Roma, Italia.
- Li P. y D.M. Gatlin. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquacul.*, 251(2): 141-152.
- Llanes J., J. Toledo y J. Lazo de la Vega. 2007. Tablas de composición de nutrientes y requerimientos de gramos proteína bruta / 100 g de peso vivo en *Clarias gariepinus*. *AcuaCuba*, 9(1): 5-7.
- Millares N., J. Toledo, Y. Hernández, J. M. Lazo de la Vega. 2000. Alimento artificial como alternativa de alimentación de larvas de *Clarias gariepinus*. *AcuaCuba*, 2(2): 38-45.
- Olvera Novoa, M.A., C.A. Martínez-Palacios y L. Olivera Castillo. 2002. Utilization of torula yeast (*Candida utilis*) as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) fry. *Aquacul. Nut.*, 8: 257-264.
- Otávio de Almeida Ozório R., R. Merighi Iftoda y J. Possebon Cyrino. 2003. Efeito de diferentes níveis dietéticos de levadura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o desempenho e a composição corporal da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertida sexualmente. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, 89-98. Disponible en línea en <http://www.revistaaquatic.com/civa2003/coms/completo.asp?cod=10>
- Perera W.M.K., C.G. Carter y D.F. Houlihan 1995. Feed consumption, growth, and growthefficiency of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) fed on diets containing a bacterial single-cell protein. *Brit. J. Nut.*, 73: 591-603.
- Pezzato L; N. Castagnolli y F. Rossi. 2001. Nutrición y Alimentación de Peces. Manual No. 295. Serie de Acuicultura. Centro de Producciones Técnicas. Vicosa, Brasil.

- Rumsey G.L., J.E. Kinsells, K.J. Shetty y S.G. Hughes. 1991. Effects of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Anin. Feed Sci. Tech.*, 33: 177-183.
- Saura G. 2006. Levadura torula, una alternativa al tratamiento de las vinazas de destilería. Disponible en línea en: <http://www.cengicana.org/Portal/SubOtrasAreas/Etanol/Presentaciones/ResidualesAlcoholST.pdf>
- Statistica. 2000. Statistica for Windows. Ver. 6.0. StatSoft Inc. Tulsa, EUA.
- Toledo J., Y. Hernández y J. Lazo de la Vega. 2000. Empleo de dietas artificiales en la alimentación de larvas de *Clarias gariepinus*. *AcuaCuba*, 2(2): 28-32.
- Vidotti M.R., J. Carneiro y E. Braga. 2000. Diferentes teores protéicos e de proteína de origem animal em dietas para o bagre africano, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) na fase inicial. *Acta Scient.*, 22(3): 717-723.

## Biodiversidade de polinizadores e biologia floral em cultura de berinjela (*Solanum melongena*)

Kleber A. Montemor e Darcelet T. Malerbo Souza\*

Departamento de Ciências Agrárias, Centro Universitário Moura Lacerda, Av. Dr.Oscar de Moura Lacerda, 1520, Jd Independência, 14076-510. Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. \*Correio eletrônico: darcelet@superig.com.br

### RESUMO

Este experimento foi conduzido em Ribeirão Preto, SP, Brasil, em 2006 e 2007 e teve como objetivo identificar os agentes polinizadores e o comportamento (frequência, constância, coleta de néctar e de pólen) desses insetos nas flores da cultura da berinjela (*Solanum melongena* L.). Para isso, observou-se a frequência dos insetos, nos primeiros 10 minutos em cada horário, das 7:00 às 18:00 h, com três repetições (dias distintos). Observou-se que não há um horário definido para a abertura das flores da berinjela. Os insetos visitantes das flores, em 2006, foram *Exomalopsis* sp. (29,9%), *Pseudaugochloropsis graminea* (23,9%), *Bombus atratus* (20,9%), *Oxaea flavescens* (19,1%) e *Trigona spinipes* (6,2%). Em 2007, foram *B. atratus* (38,6%), *P. graminea* (25,9%), *Exomalopsis* sp. (21,3%) e *O. flavescens* (14,2%). Todos esses insetos coletaram apenas pólen das flores e apenas *T. spinipes* não apresentou comportamento vibratório. *Exomalopsis* sp., *P. graminea* e *B. atratus* foram consideradas importantes polinizadores dessa espécie vegetal. A presença dessas abelhas aumentou a produção de berinjelas.

*Palavras chave:* comportamento de forrageamento, agentes polinizadores, polinização, berinjela, *Solanum melongena*

### Pollinators biodiversity and floral biology on eggplant crop (*Solanum melongena*)

### ABSTRACT

The present experiment was carried out at Ribeirão Preto, SP, Brazil, in 2006 and 2007 with the objective to identify the pollinators and the behavior (frequency, constancy, nectar, and pollen collection) of insects on flowers of eggplant crop (*Solanum melongena* L.). For this, there were recorded the frequency of the insects (counted during ten min, every hour) from 7:00 to 18:00 h with three replications (different days). The eggplant flowers did not show a specific time to open. *Exomalopsis* sp., *Pseudaugochloropsis graminea*, *Bombus atratus*, *Oxaea flavescens*, and *Trigona spinipes* were the visitors on egg plant flowers in 2006 (29.9, 23.9, 20.9, 19.1, and 6.2%, respectively) and *B. atratus*, *P. graminea*, *Exomalopsis* sp. e *O. flavescens* (38.6, 25.9, 21.3, and 14.2%, respectively) in 2007. The evaluated bees collected only pollen from flowers and only *T. spinipes* did not present a vibrate forage behavior. *Exomalopsis* sp., *P. graminea*, and *B. atratus* were considered important pollinators of this vegetable species. The presence of these bees increased eggplant production.

*Keywords:* forage behaviour, pollinators, pollination, eggplant, *Solanum melongena*

## INTRODUÇÃO

De acordo com Slaa *et al.* (2006), muitas culturas agrícolas dependem da polinização para frutificarem e produzirem frutos, sendo que para muitas destas culturas, os insetos são os principais agentes polinizadores. Tem sido estimado que cerca de 30% da alimentação humana é derivada de culturas polinizadas pelas abelhas (Kearns e Inouye, 1997).

Estimativas feitas em 1998, pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2004), revelaram que há no mundo uma perda de US \$ 54 bilhões devido a deficiência na polinização das plantas agrícolas. De acordo com Malerbo Souza *et al.* (2008), a perda da produtividade em áreas agrícolas devido a níveis inadequados de polinização tem se tornado um fenômeno mundial tão sério que levou a Convenção sobre Diversidade Biológica e a Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas a estabelecerem uma iniciativa internacional para conservação e uso sustentável de polinizadores.

A produtividade de culturas pode depender completamente da polinização para a produção de frutos e sementes. Existem muitas espécies de abelhas que contribuem para a polinização de culturas agrícolas, sendo que as mais conhecidas são as abelhas melíferas africanizadas (AMA), entretanto, elas não são as únicas nem os mais importantes polinizadores de culturas tropicais (Kremer *et al.*, 2002).

Apesar das abelhas *Apis mellifera* serem reconhecidas como importantes polinizadores (Free, 1993; Couto e Couto, 2006; Malerbo Souza *et al.*, 2008), é consenso entre muitos pesquisadores sua ineficiência como polinizadora em muitas espécies de solanáceas e outras plantas tropicais (Banda e Paxton, 1991; Cervancia e Bergonia, 1991, Abak *et al.*, 2000).

A berinjela, *Solanum melongena* L., é uma cultura de grande importância econômica e que se encontra em fase de expansão em muitos países do mundo, principalmente pelas notícias que atribuem propriedades medicinais aos seus frutos, na diminuição dos níveis de colesterol e pressão arterial. Devido ao grande número de variedades e cultivares existentes, há controvérsias em relação à necessidade do uso de polinizadores para a produção de frutos e da eficiência de determinadas espécies de abelhas como polinizadoras desta cultura. A família Solanácea

possui espécies que necessitam do polinizador para a remoção mecânica de uma maior quantidade de grãos de pólen, como é o caso da berinjela, cuja polinização é feita, normalmente, por abelhas do gênero *Bombus* que são capazes de vibrar as anteras da flor (buzz pollination) (Slaa *et al.*, 2006).

Por ser uma cultura importante e necessitar de polinizadores específicos, este trabalho teve como objetivo identificar os agentes polinizadores e o observar o comportamento (frequência, constância, coleta de néctar e pólen) desses insetos nas flores da berinjela nos diversos horários do dia, em dois anos consecutivos (2006 e 2007) em Ribeirão Preto, SP, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi conduzido na área experimental do Centro Universitário Moura Lacerda (Campus), no município de Ribeirão Preto (21°10'04"S e 47°46'23"O), SP, Brasil. A altitude do Centro é de 620 metros com clima subtropical temperado, temperatura média anual ao redor de 21°C e precipitação pluviométrica anual média de 1.500 mm.

O primeiro experimento foi instalado no mês de fevereiro de 2006 e o segundo em abril de 2007. A variedade de berinjela usada nos ensaios foi cultivar Nápoli. A área de plantio foi, aproximadamente 300 m<sup>2</sup>, sendo cinco linhas de 40 m, com espaçamento de 150 cm entre linhas e 100 cm entre plantas, para ambos os ensaios.

Foi avaliado o horário de abertura e de fechamento dos botões florais, através de observação direta, com quarenta repetições (quarenta botões florais). Para isso, os botões florais foram marcados com linhas coloridas, na fase de botão, prestes a abrir. Os botões foram acompanhados no decorrer do dia e o horário de murchamento e, posterior fechamento, foi observado.

Para se avaliar a porcentagem de frutificação, 100 botões florais, prestes a abrir, foram marcados e protegidos com armações de arame revestidas com tecido de náilon, para impedir a visita dos insetos, e 100 botões florais foram marcados com linhas coloridas e permaneceram descobertos, com livre acesso às visitas dos insetos, com três repetições (300 botões florais por ano). Assim que amadureceram, foram realizadas a contagem, pesagem e medição

dos frutos decorrentes dos botões florais cobertos e descobertos.

Foram coletados dois exemplares de cada uma das espécies de insetos visitantes da cultura. Esses insetos foram conservados em álcool 70%, devidamente etiquetados, e identificados por comparação em coleção entomológica.

Também foram avaliados a frequência das visitas e o tipo de coleta (néctar e/ou pólen) desses insetos, no decorrer do dia. Esses dados foram obtidos por contagem nos primeiros 10 min de cada horário, das 7:00 às 18:00 h, com cinco repetições (cinco dias distintos). Essa contagem foi realizada percorrendo-se as linhas da cultura, durante 10 min, em cada horário, anotando-se os insetos presentes nas flores e o que eles estavam coletando. O comportamento de forrageamento de cada espécie de inseto foi avaliado através de observações, no decorrer do dia, no período experimental. O número de insetos observados foi utilizado para estimar o número de insetos nas flores em uma hora.

A constância (C) desses insetos foi obtida por meio da fórmula  $C = (P \times 100)/N$ , onde P é o número de coletas contendo a espécie estudada e N é o número total de coletas efetuadas (Silveira Neto *et al.*, 1976).

Todos os dados foram analisados estatisticamente utilizando-se o programa ESTAT (UNESP, SF). Para a comparação de médias, quando necessária, se utilizou o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para analisar a frequência de visitação dos insetos às flores, no decorrer do dia, foi utilizada análise de regressão por polinômios ortogonais, obtendo-se assim equações adequadas aos padrões observados, nas condições do experimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro ensaio, a cultura foi instalada em maio de 2006 e possuía um sistema de irrigação por gotejamento. A florada teve início em junho e se estendeu até outubro de 2006. No segundo ensaio, a florada teve início em junho e se estendeu até outubro de 2007. Observou-se que não há um horário definido de abertura das flores, se abrindo no decorrer do dia.

Com relação ao tempo de abertura, as flores permaneceram abertas vários dias (3 d, 1 h, 48 min  $\pm$  20 min em 2006 e 3 d, 15 min  $\pm$  10 min em 2007). Após a fecundação da flor ocorre uma curvatura

acentuada do pedúnculo, para baixo, e as flores começavam a murchar. A partir desse momento, as flores não eram mais visitadas pelas abelhas. Segundo Free (1993), a deiscência da antera ocorre entre 6:00 e 11:00 h. Quaglotti (1979) e Rao (1980) verificaram que as flores se fecham ao final da tarde, mas tornam a abrir durante oito a 10 dias, permanecendo o pólen viável por aproximadamente três dias.

Com relação às espécies visitantes, apenas espécies de abelhas visitaram as flores da berinjela (Tabelas 1 e 2). Em 2006 (Tabela 1), as abelhas visitantes das flores da berinjela foram *Exomalopsis* sp. (29,9%), *Pseudaugochloropsis graminea* (23,9%), *Bombus atratus* (20,9%), *Oxaea flavescens* (19,1%) e *Trigona spinipes* (6,2%). Em 2007 (Tabela 2), novamente, apenas espécies de abelhas visitaram as flores da berinjela: *B. atratus* (38,6%), *P. graminea* (25,9%), *Exomalopsis* sp. (21,3%) e *O. flavescens* (14,2%). Neste ano, não foram observadas abelhas *T. spinipes* visitando as flores. Todas as abelhas observadas coletaram unicamente pólen e dentre elas apenas *T. spinipes* não coletava pólen utilizando vibração torácica, concordando com os dados obtidos por Moraes Filho (2001). Após 16:00 h, não houveram mais visitas dos insetos nas flores da berinjela.

A abelha *Exomalopsis* sp. pertence à família Anthophoridae e visitaram as flores das 7:00 às 15:00 h, aumentando a frequência até às 11:00 h, diminuindo em seguida, obedecendo a seguinte equação:  $Y = -28,85 + 6,52X - 0,30X^2$  ( $P < 0,01$ ,  $CV = 67,65$ ), onde Y é o número de abelhas e X é o horário do dia.

A abelha *P. graminea* pertence à família Halictidae e visitaram as flores das 9:00 às 16:00 h, aumentando sua frequência até às 12:00 h, diminuindo em seguida, de acordo com a seguinte equação:  $Y = -22,50 + 4,70X - 0,20X^2$  ( $P < 0,01$ ,  $CV = 72,30$ ), onde Y é o número de abelhas e X é o horário do dia.

A abelha *B. atratus* pertence à família Apidae e foram observadas visitando as flores da berinjela, para coleta de pólen, das 7:00 às 14:00 h, diminuindo sua frequência no decorrer do dia, seguindo a equação:  $Y = 13,05 - 0,79X$  ( $P < 0,01$ ,  $CV = 63,40$ ), onde Y é o número de abelhas *B. atratus* e X é o horário do dia.

A abelha *O. flavescens* pertence à família Andrenidae e visitou as flores da berinjela das 7:00 às 15:00 h, sendo sua presença facilmente ouvida pelo comportamento vibratório e pelo seu tamanho

Tabela 1: Frequência total dos insetos coletando pólen nas flores da berinjela (*Solanum melongena*), das 7:00 às 16:00 h, em Ribeirão Preto, SP, em 2006.

Horário, h	<i>Exomalopsis</i> sp.	<i>P. gramínea</i>	<i>B. atratus</i>	<i>O. flavescens</i>	<i>T. spinipes</i>
7:00	6	0	24	12	0
8:00	90	0	144	48	0
9:00	198	66	168	150	42
10:00	192	84	78	156	60
11:00	186	72	96	102	30
12:00	108	144	66	54	30
13:00	72	162	72	42	6
14:00	48	102	0	18	24
15:00	30	96	0	12	0
16:00	0	24	0	0	0
Total	930a†	750a	648ab	594ab	192b

† Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Tabela 2: Frequência total dos insetos coletando pólen nas flores da berinjela (*Solanum melongena*), das 7:00 às 16:00 h, em Ribeirão Preto, SP, em 2007.

Horário, h	<i>B. atratus</i>	<i>P. gramínea</i>	<i>Exomalopsis</i> sp.	<i>O. flavescens</i>
7:00	72	36	6	24
8:00	150	78	36	60
9:00	162	102	90	102
10:00	132	48	90	66
11:00	96	36	72	24
12:00	60	72	66	0
13:00	42	42	36	0
14:00	30	54	18	0
15:00	6	36	0	0
16:00	0	0	0	0
Total	750 a†	504 a	414 ab	276 b

† Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma linha, diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

médio. Sua frequência nas flores aumentou até às 10:00 diminuindo em seguida, obedecendo a seguinte equação:  $Y = -9,50 + 2,74X - 0,14X^2$  ( $P < 0,01$ ,  $CV = 93,17$ ), onde Y é o número de abelhas *O. flavescens* e X é o horário do dia.

A abelha *T. spinipes* pertence à família Apidae e foi observada apenas em 2006, das 9:00 às 14:00, visitando as flores para coleta de pólen, apresentando um pico de frequência às 10:00.

Uma outra espécie que foi observada nas flores foi *Eulaema nigrita*, entretanto, como nos dias de observação essa abelha ainda não estava visitando a cultura, essa espécie não foi incluída em nossas análises.

Free (1975) constatou que as flores da berinjela eram visitadas exclusivamente por *Exomalopsis pulchella*, uma espécie de abelha solitária. De acordo com Anais e Torregrossa (1978), *Exomalopsis* sp

também foi responsável pela polinização da berinjela em Guadalupe. Estas abelhas freqüentaram as flores das 6:00 às 16:30 h e a maior freqüência ficou entre 7:30 e 10:00 h.

Segundo Sterk *et al.* (1995), *B. terrestris* é bastante utilizada na Bélgica para a polinização de muitas culturas em estufa, dentre elas a berinjela. De acordo com Abak *et al.* (1997), as abelhas mamangavas têm sido largamente utilizadas desde 1988 como polinizadores de tomates, pimentas e berinjela, principalmente pela sua capacidade de forrageamento a baixas temperaturas e intensidade luminosa, condições típicas de estufas em muitos países como Holanda, Bélgica, França e Israel. Melhoramentos nas técnicas de criação dessas abelhas têm contribuído para seu crescente uso na polinização da berinjela, tomate, pimentas e melão, em estufas (Assada e Ono, 1997, Dasgan *et al.*, 1999).

Moraes Filho (2001) observou em Jaboticabal, SP, diferenças entre os insetos freqüentes nas flores da berinjela nos diferentes meses do ano. Em abril de 2000, esse autor observou apenas abelhas *T. spinipes* (92,7%) e *P. graminea* (7,3%). Em maio de 2000, as abelhas observadas foram *T. spinipes* (36%), *Exomalopsis* sp. (35%), *B. atratus* (23,1%), *P. graminea* (3,2%) e *E. nigrita* (2,7%).

De acordo com índice de constância, observou-se que as espécies *P. graminea*, *Exomalopsis* sp. e *B. atratus* foram espécies constantes nas flores da cultura da berinjela (80,0 75,0 e 71,7%, respectivamente). As abelhas *O. flavescens* (55,0%) e *T. spinipes* (43,3%) foram espécies acessórias nessas flores. Esses valores evidenciam que não só o comportamento de forrageamento é importante para uma espécie ser considerada um polinizador efetivo, a constância dessa espécie a determinada fonte de alimento também é um indício dessa efetividade.

Com relação à porcentagem de frutificação, em 2006, observou-se que das 100 flores marcadas que permaneceram descobertas, 40 frutificaram (40%) e das 100 flores que foram mantidas cobertas, impedindo a visita das abelhas, apenas 20 frutificaram (20%). Em 2007, as flores mantidas descobertas, com livre visita das abelhas, apresentaram 56% de frutificação. As flores mantidas cobertas, durante sua antese, apresentaram apenas 20% de frutificação. Esses dados demonstram um aumento de 36% no

número de frutos obtidos, com a presença das abelhas na cultura.

Esses resultados comprovam a importância da presença das diversas espécies de abelhas nas flores, podendo aumentar em 50% a produção de frutos da berinjela. Na Jamaica, Free (1975) realizou um experimento comparando a produção de frutos de berinjela cujas flores eram expostas ou não a visitas dos insetos e concluiu que em ambos os tratamentos, o vingamento dos frutos ficou em 38%, afirmando que a autopolinização apresentou produção satisfatória de frutos.

Comparando a produção de frutos de berinjela de oito cultivares plantados em estufa, expostos ou não a *A. mellifera*, Levin (1987) concluiu que a visita das abelhas em três dos oito cultivares resultou num pequeno aumento de frutos, com médias de 6,2 e 5,6 frutos por plantas, com e sem a presença de abelhas, respectivamente. Segundo o autor, em todos os cultivares testados com a presença da *A. mellifera*, houve um aumento médio no peso dos frutos de 158%, com variação de 42 a 620%. Embora, a pequena quantidade de pólen produzido e a ausência de néctar das flores da berinjela tenham reduzido a atratividade da planta para *A. mellifera*, em campo no Arizona, o autor recomenda a colocação de colméias para a polinização da cultura.

Na África, Amoako e Gyan (1991) avaliaram a polinização da *A. mellifera adansonii* para a produção de frutos em três espécies de Solanaceae. Nos trabalhos, os autores colocaram colônias de Apis dentro de áreas teladas com tomate, pimenta e berinjela, constatando baixo percentual de frutificação nas três culturas, com diferença significativa em relação às plantas livremente expostas a visita dos insetos. Apesar destes resultados, as áreas contendo *A. mellifera* apresentaram diferenças significativas no percentual de frutificação das três culturas, quando comparadas a áreas com plantas excluídas da visita dos insetos.

Segundo Eijnde (1994), a berinjela pode ser polinizada por *A. mellifera* em estufa, estimando a necessidade de cinco colônias por hectare. Para o autor, cinco colônias de *B. terrestris* não são suficientes para polinização em um hectare de estufa, necessitando-se de pelo menos dez colônias. Abak *et al.* (1995) realizaram experimento com berinjela cultivar Munica, em estufa, com colônias

de *B. terrestris* contendo aproximadamente 50 a 60 operárias. Parcelas controle foram cobertas para evitar a polinização pelas abelhas. Os autores concluíram que nas plantas polinizadas pelas abelhas houve um aumento médio de peso nos frutos de 23% em relação às parcelas controle. O número de frutos produzidos por metro cresceu em 22% e o número de sementes aumentou 62% quando comparada ao controle. Na Turquia, Abak *et al.* (2000) obtiveram frutos mais pesados e compridos com maior rendimento por metro em estufa, utilizando *B terrestris* em comparação com vibração artificial.

### CONCLUSÕES

A cultura da berinjela foi visitada por diversas espécies de abelhas. Pela sua frequência, constância e comportamento vibratório para coleta do pólen, as espécies *Exomalopsis* sp., *Pseudaugochloropsis gramínea* e *Bombus atratus* foram consideradas importantes agentes polinizadores da cultura da berinjela.

### LITERATURA CITADA

- Abak K., N. Sari, M. Paksoy, O. Kaftanoglu e H. Yeninar. 1995. Efficiency of bumble bees on the yield and quality of eggplant and tomato grown in unheated glasshouses. *Acta Hort.*, 412: 268-274.
- Abak K., H.Y. Dasgan, O. Ikiz, N. Uygun, M. Sayalan e O. Kaftacoglu. 1997. Pollen production and quality of pepper grown in unheated greenhouse during winter and the effects of bumble bees (*Bombus terrestris*) pollination on fruit yield and quality. *Acta Hort.*, 437: 303-307.
- Abak K., A.O. Ozdogan, H.Y. Dasgan, K. Derin e O. Kaftanoglu. 2000. Effectiveness of bumble bees as pollinators for eggplants grown in unheated greenhouses. *Acta Hort.*, 514: 197-203.
- Amoako J. e K.Y. Gyan. Insect pollination of three solanaceous vegetable crops in Ghana with special reference to the role of African honey bee (*Apis mellifera adansonii*) for fruit set. *Acta Hort.*, 288: 255-259.
- Anais G. e J.P. Torregrossa. 1978. Possible use of *Exomalopsis* species in pollination of solanaceous vegetable crops in Guadeloupe (French Antilles). *Proc. International Symposium on Pollination*, Maryland. EUA. pp.321-329.
- Assada S. e M. Ono. 1997. Tomato pollination with japonese native bumblebees (*Bombus* spp.). *Acta Hort.*, 437: 289-292.
- Banda H.J. e R.J. Paxton. 1991. Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Acta Hort.*, 288: 194-198.
- Cervancia C.R. e E.A. Bergonha. 1991. Insect pollination of cucumber (*Cucumis sativus*) in the Philippines. *Acta Hort.*, 288: 278-282.
- Couto R.H.N. e L.A. Couto. 2006. Apicultura: Manejo e Produtos. 3<sup>ra</sup> ed. FUNEP. Jaboticabal, Brasil.
- Dasgan H.Y., A.O. Ozdogan e K. Abak. 1999. Comparison of honeybees (*Apis mellifera* L.) and bumblebees (*Bombus terrestris*) as pollinators for melon (*Cucumis melo* L.) grown in greenhouses. *Acta Hort.*, 492: 131-134.
- Eijnde J-van-den. 1994. The pollination of aubergines (*Solanum melongena* L.) in glasshouses with honeybees (*Apis mellifera* L.) and bumblebees (*Bombus terrestris* L.). *Apidologie*, 25(5): 450-452.
- ESTAT. SF. Sistema de Análise Estatística. Dep. Ciências Exatas, FCAV/UNESP. Jaboticabal, Brasil.
- FAO. 2004. Conservation and management of pollinators for sustainable agriculture. The international response. *En* Freitas B.M. e J.O.P. Pereira (Eds.) *Solitary Bees: Conservation, Rearing and Management for Pollination*. Imprensa Universitária, Fortaleza, Brasil. pp. 19-25.
- Free J.B. 1975. The pollination of *Capsicum frutescens* L., *Capsicum annum* L. and *Solanum melongena* L. (Solanaceae) in Jamaica. *Tropic. Agric.*, 52: 275-279.
- Free J. B. 1993. *Insect Pollination of Honeybees*. 2<sup>da</sup> ed. Academic Press, New York, EUA.
- Kearns C.A. e D.W. Inouye. 1997. *Techniques for Pollination Biologists*, University Press of Colorado, Boulder, EUA.

- Kremer C., N.M. Williams e R.W. Thorp. 2002. Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 99(26): 16812-16816.
- Levin M.D. 1987. Honey bee pollination of egg plant (*Solanum melongena* L.). International Agricultural Congress, Warsaw, Polonia. pp. 344-348.
- Malerbo Souza D.T., V.A.A. Toledo e A.S. Pinto. 2008. Ecologia da Polinização. UNESP. Piracicaba, Brasil.
- Moraes Filho J.R. 2001. Polinização entomófila em berinjela (*Solanum melongela* L.) e coentro (*Coriandrum sativum* L.). Dissertação de mestrado em Zootecnia. Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, Brasil.
- Quaglotti L. 1979. Floral ecology of *Capsicum* and *Solanum melongena*. The biology and taxonomy of the Solonaceae. *Linnean Soc. Symposium Series*, 7: 399-419.
- Rao G.R. 1980. Floral biology of *Solanum melongena* L. *New Botany*, 7: 15-21.
- Silveira Neto S., O. Nakano, D. Barbin e N.A. Villa Nova. 1976. Manual de Ecologia dos Insetos. Agronômica Ceres. São Paulo, Brasil.
- Slaa E.J., L.A. Sánchez Chaves, K.S. Malagodi Braga e F.E. Hofstede. 2006. Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie*, 37: 293-315.
- Sterk G., K. Bolckmans, M. van de Veire, B. Sels e W. Stepman. 1995. Side-effects of the microbial insecticide PreFeRal (*Paecilomyces fumosoroseus*, strain Apopka) on *Bombus terrestris*. *Meded. Fac. Landbouwk. Toegepaste Biol. Wetens. Univ. Gent.*, 60: 719-724.

Zoo|ecnia  
ropical

ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical