



**Gobierno
Bolivariano
de Venezuela**

**Ministerio del Poder Popular
para la Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia tropical

Depósito Legal: pp. 198302AR214

ISSN: 0798 - 7269

AÑO 34 VOL 34 No. 2 2016



ISSN: 2542-3436
Dep. Legal: AR2017000076

ZOOTECNIA TROPICAL Es publicada para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción animal: bovinos, suinos, caprinos, ovinos, aves, especies piscícolas y otras, con el propósito de garantizar la producción de proteína de origen animal con fines alimentarios.
Correo electrónico: zootrop@inia.gov.ve
zootropi@gmail.com

Miembros Fundadores:

Claudio Chicco	Fonaiap Ceniap
Alberto Valle	Fonaiap Ceniap
Eduardo González	UCV-Agronomía
Omar Verde	UCV-Veterinaria
Omar García	Fonaiap Ceniap
Rafael Acosta	Fonaiap Guárico
Sylbert Labbe	Fonaiap Zulia
Urzulino Manrique	Fonaiap Monagas
Arnaldo Alvarado	Fonaiap Barinas

Comite Editorial

Luis Dickson	Editor Jefe
Belkys Vásquez	Editora Asistente
Yrama Ramírez	Editora
Ana Beatriz Briceño	Diagramación
Eva Candelo	Seguimiento

Editada por la Gerencia de Investigación e Innovación Tecnológica
Coordinación del Área de Gestión de la Información
Impresa en el Taller de Artes Gráficas del INIA. Maracay, Venezuela.
Tiraje: 500 ejemplares

Unidad de Distribución y Ventas de Publicaciones del INIA
Apartado postal 2103-A, Maracay 2101
Aragua, Venezuela
Precio Bs. 350,00
Correo electrónico: dyvpublicaciones@inia.gov.ve

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Juan Pablo Buenaño	Presidente
Giomar Blanco	Gerente General
Lucas Peña	Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica
Yenry Urrea	Gerente de Producción Social
María Fernanda Sandoval	Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editores Asociados

Gérman Portillo (LUZ)	Sección Fisiología y Reproducción
José Alió (ULEAM-Ecuador)	Sección Piscicultura y Acuicultura
Magaly Bracamonte (INIA)	Sección Sanidad
Oziel Montañez (UASLP)	Sección Nutrición
Luis Dickson (INIA)	Sección Genética
Judith Principal (UCLA)	Sección Apicultura

Consejo Asesor

Omar Verde	Venezuela
Juan Capote	España
Glafiro Torres	México
Manuel Milla	Venezuela
Bertha Chongo	Cuba
Siomara Martínez	Cuba
Miguel Batista	España
Carlos Becerril	México

Indización

C.A.B. Internacional	(U.K.)
Biosis Zoological Records	(USA)
Agroforestry Abstracts	(USA)
IICA- CIDIA	(Costa Rica)
Royal Tropic Institute	(Tropag & Rural, Holanda)
AGRIS	(FAO, Roma)
LATINDEX	(México)
IAMSLIC	(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)
Citefactor	(Canadá)

Se acepta el intercambio con otras revistas

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

ZOOTECNIA TROPICAL

Zootecnia Trop.

**Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas,
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura Productiva y Tierras
Maracay, Venezuela**

TABLA DE CONTENIDO Vol. 34 N° 2

Artículos Científicos

Pinto Ruíz R., Guevara Hernández F., Gómez Castro H., Hernández Sánchez D., Ley de Coss A. y Ortega Reyes L. Conducta ingestiva y ramoneo de bovinos apacentando Estrella Africana asociada con <i>Leucaena</i> y Guácima.....	99
Menéndez-Buxadera A., Verde O. y Rodríguez-Voigt A. Variación mensual de la producción de leche en mestizos Holstein, Pardo Suizo y Jersey de la zona alta de Mérida, Venezuela	107
Piña C. I., Lucero L., Simoncini M. S., Peterson G. y Tavella M. Perfil lipídico de la carne de yacarés overo alimentados con dietas enriquecidas con semillas de lino	119
Rivas-Nichorzon M., Alfaro-Escalona M., Silva-Acuña R. y Gómez-Piñeres E. Calidad bacteriológica y pH del agua en una unidad de producción porcina ubicada en el Rincón de Monagas, estado Monagas, Venezuela	127
Nascimento J. M., Gomes Alves Mariano E., Alcantara Faria B. K., Alves Vieira E., Castro Geraseev L. y Robson Duarte E. Atividade celulolíticas de fungos aislados de solo e de pastagens tropicais	135
Actividad celulolítica de los hongos aislados del suelo y pastos tropicales	135
Senior W., Cornejo-Rodríguez M. H., Tobar J., Ramírez-Muñoz M. R. y Márquez A. Metales pesados (cadmio, plomo, mercurio) y arsénico en pescados congelados de elevado consumo en el Ecuador.....	143
Benavente M., Principal J., Barrios C., Bianchi B. y Eguaras M. Modelo poblacional del ácaro <i>Varroa destructor</i> en colonias de <i>Apis mellifera</i>	155
Nota Técnica	
Ono F. H., Marcato S. M., Zancanela V. y de Oliveira Grieser D. Qualidade de ovos de codornas (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) sob diferentes condições de armazenamento e embalagens	163
Calidad del huevo de codornices (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) bajo diferentes condiciones de almacenamiento y tipo de embalaje	163
Instrucciones al autor	169

TABLE OF CONTENTS Vol. 34 N° 2**Scientific Articles**

Pinto Ruíz R., Guevara Hernández F., Gómez Castro H., Hernández Sánchez D., Ley de Coss A. and Ortega Reyes L. Feeding and forage behavior of cattle grazing on African stargrass associated with <i>Leucaena</i> and <i>Guacima</i>	99
Menéndez-Buxadera A., Verde O. and Rodríguez-Voigt A. Monthly variation in milk production from crossbred Holstein, Brown Swiss and Jersey in the hill zone of Merida, Venezuela.....	107
Piña C. I., Lucero L., Simoncini M. S., Peterson G. and Tavella M. Lipid profile of yacarés overo meat fed with diets enriched with flax seeds	119
Rivas-Nichorzon M., Alfaro-Escalona M., Silva-Acuña R. and Gómez-Piñeres E. Bacteriological quality and pH of water in a swine production unit located on the Rincón de Monagas, state Monagas, Venezuela	127
Nascimento J. M., Gomes Alves Mariano E., Alcantara Faria B. K., Alves Vieira E., Castro Geraseev L. and Robson Duarte E. Cellulolytic activity of fungi isolated from soil and tropical pasture	135
Senior W., Cornejo-Rodríguez M. H., Tobar J., Ramírez-Muñoz M. R. and Márquez A. Heavy metals (cadmium, lead, mercury) and arsenic in frozen fish of high consumption in Ecuador	143
Benavente M., Principal J., Barrios C., Bianchi B. and Eguaras M. Population model of the mite <i>Varroa destructor</i> in <i>Apis mellifera</i> colonies.....	155
Technical Note	
Ono F. H., Marcato S. M., Zancanela V. and de Oliveira Grieser D. Quality quail egg (<i>Coturnix coturnix japonica</i>) under different storage conditions and packaging	153
Instructions to the author	169

Conducta ingestiva y ramoneo de bovinos apacentando Estrella Africana asociada con *Leucaena* y Guácima

Feeding and forage behavior of cattle grazing on African stargrass associated with *Leucaena* and Guacima

René Pinto Ruíz*¹, Francisco Guevara Hernández¹, Heriberto Gómez Castro¹, David Hernández Sánchez², Alejandro Ley de Coss³ y Luís Ortega Reyes⁴.

¹Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Facultad de Ciencias Agronómicas. *Correo electrónico: pinto_ruiz@yahoo.com.mx. ²Colegio de Postgraduados (CP), Campus Montecillo. ³UNACH, Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV. ⁴Dirección General Adjunta de COTECOCA - Coordinación General de Ganadería, SAGARPA. México D.F.

RESUMEN

Con el objetivo de caracterizar la conducta ingestiva y ramoneo de bovinos apacentado estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) asociada con *Leucaena collinsii ssp collinsii* (B. & R.) y *Guazuma ulmifolia* Lamb se evaluaron dos tratamientos: 1) Pradera en monocultivo de pasto *C. nlemfuensis* (PGM) y 2) Pradera silvopastoril, integrada por *C. nlemfuensis* pero asociada con *L. collinsii* y *G. ulmifolia* (PSP). La conducta ingestiva se caracterizó midiendo el tiempo de pastoreo en cada estación de forrajeo (TPEF), el tiempo de movimiento entre estaciones de forrajeo (TMEF), el número de bocados por minuto (NB), el tamaño del bocado (TB) y la velocidad de consumo (VC). La caracterización del ramoneo se realizó mediante la observación de consumo de hoja u hoja-tallo, consumo basal o apical, tiempo de ramoneo y especie arbórea consumida. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los resultados indican que en términos de TPEF y TMEF, los bovinos pastorean el estrato basal de la misma manera tanto en la PGM como en la PSP. Sin embargo, en la PSP se obtuvo una mayor VC, producto del mayor TB en cada época del año. En cuanto a la evaluación del ramoneo, existieron diferencias en la preferencia de las especies leñosas así como en la elección de los componentes estructurales de las mismas (hoja-tallo).

Palabras clave: Pastoreo, búsqueda de alimento, sistemas silvopastoriles, *Leucaena*, *Guazuma*.

ABSTRACT

In order to characterize animal ingestive behavior and plant browse of cattle grazing on African stargrass (*Cynodon nlemfuensis*) associated with *Leucaena collinsii ssp collinsii* (B. & R.) and *Guazuma ulmifolia*, two treatments were evaluated: 1) Grassland of *C. nlemfuensis* in monoculture (PGM) and; 2) Silvopastoral field, composed of *C. nlemfuensis* in association with *L. collinsii* and *G. ulmifolia* (PSP). Ingestive behavior was characterized by measuring grazing time for each foraging site (TPEF), movement time among foraging sites (TMEF), number of mouthful per minute (NB), mouthful size (TB) and speed of consumption (VC). The characterization of plant browse was done by observation of consumption of leaf or leaf-stem, basal or apical consumption, time of plant browse and tree species consumed. The data were analyzed through a completely randomized experimental design. Results show that in terms of TPEF and TMEF, cattle graze the basal stratum in the same way in both PGM and PSP. However, in the PSP a greater VC was obtained, a product of a greater TB in each season of the year. Regarding the plant browse evaluation, differences in the preference of the woody species as well as for the choice of the structural components (leaf-stem) were found.

Keywords: Grazing, foraging, silvopastoral systems, *Leucaena*, *Guazuma*.

INTRODUCCIÓN

El comportamiento ingestivo de los animales hace referencia a la secuencia de actividades que realizan durante la obtención de nutrientes para su mantenimiento y productividad; siendo el tiempo de forrajeo y el tamaño de bocado los componentes mayormente modificados cuando los bovinos sufren alteraciones en la oferta de alimento (Suárez *et al.*, 2014) afectando con ello la capacidad del animal para obtener de manera efectiva y eficiente el forraje con el que puede maximizar su ingesta de nutrientes. Debido a esto, el comprender la dinámica de consumo de forraje es fundamental para el manejo de los sistemas de producción con base en el pastoreo (Stuth, 1991).

Este último refleja la importancia del estudio dirigido a la evaluación del comportamiento animal, pues aporta valiosa información y permite comprender mejor las causas que orientan las acciones de los animales; ya que ellos pueden variar su estrategia de pastoreo en respuesta a cambios en la fenología, estructura y disponibilidad de forraje.

Se han realizado diversos estudios dirigidos a la caracterización del comportamiento alimentario de bovinos mantenidos en pasturas en monocultivo, en ellos se ha identificado la importancia de la interacción entre los componentes del consumo con la estructura de la planta, lo que ha incrementado el conocimiento de cómo los animales pastan las gramíneas templadas y tropicales. Sin embargo, han sido escasas las investigaciones en pasturas con prácticas silvopastoriles. Es conocido que las condiciones ambientales y de alimentación en estos sistemas silvopastoriles son diferentes a las encontradas en pasturas con manejo tradicional, lo que podría determinar ajustes en la conducta alimentaria animal. Por otra parte, los mecanismos a través de los cuales los animales responden frente a las condiciones del manejo silvopastoril, así como a la adecuada evaluación de esta respuesta, permanecen desconocidos.

Se evidencia entonces la necesidad de realizar estudios para la difusión de información cuantitativa que permitan mejorar el manejo de la vegetación en estos sistemas. Así pues, con base a lo descrito en párrafos anteriores, se propone como objetivo de investigación,

caracterizar la conducta ingestiva y ramoneo de bovinos apacentando estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) en asociación con *Leucaena* (*Leucaena collinsii ssp collinsii* B. & R.) y Guácima (*Guazuma ulmifolia* Lamb) durante dos épocas del año.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del área de estudio

La evaluación se realizó dentro de las praderas establecidas de la estación experimental de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas, localizada en el municipio de Villaflores, al Oeste del estado de Chiapas, México, entre los 16°13'15" de latitud Norte y 93°16'07" longitud Oeste, a una altitud de 610 ms.n.m. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 24,3 °C y la precipitación promedio anual es de 1.209 mm, la cual ocurre principalmente en el verano (García, 1989).

Tratamientos y características de las praderas

Para la evaluación de la conducta ingestiva de bovinos, se evaluaron dos tratamientos: 1) Pradera en monocultivo establecida con pasto estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*) en el estrato herbáceo (PGM) que funcionó como tratamiento comparativo; 2) Pradera silvopastoril, integrada por el mismo pasto pero asociada con los árboles forrajeros *Leucaena* (*L. collinsii ssp collinsii* B. & R.) y Guácima (*G. ulmifolia* Lamb.), bajo la práctica silvopastoril denominada pastura en callejones (PSP). Esta última fue establecida en el año 2005 y sembrada bajo un marco de plantación de 3 x 1 m. La densidad de plantas es de 3.333 plantas por ha. Previo al inicio del trabajo, se realizó una poda de uniformización de la arbustiva, de tal forma que cuando los animales entraran a la pradera silvopastoril, las arbustivas presentarían una altura de ramoneo (1,84 m en promedio) considerada adecuada al tamaño de los bovinos dispuestos en el experimento. El crecimiento de ambas praderas fue sin el uso de riego y fertilizantes. Para el ajuste de la carga animal en cada tipo de pradera, se utilizaron cercos eléctricos y para evaluar el ramoneo, se utilizó únicamente la PSP.

Características de los animales empleados

Se utilizaron diez toretes por pradera. Todos con encaste cebú-suizo típico de la región, con un peso vivo promedio de $235 \pm 12,3$ kg. Seis de ellos provistos de cánulas ruminales (Bar Diamond®, Parm, Idhao, E.U.A.), utilizados para evaluar el tamaño de bocado y la velocidad de consumo (tres en cada pradera). Previo al inicio del experimento, todos los animales recibieron tratamiento para endoparásitos (Albendazole 10%, Pfizer®, 0,75 mL por cada 10 Kg PV) y ectoparásitos (Asuntol, Bayer®, 10 mL para 10 L de agua) así como también vitaminados (ADE, Bayer®, 4 mL animal⁻¹). Los animales fueron enumerados para facilitar su observación en campo, todos tuvieron acceso libre a fuentes de agua.

Período de evaluación

Las evaluaciones fueron realizadas en época de sequía y de lluvias del año 2014, la toma de datos se llevó a cabo durante los meses de marzo y junio, respectivamente.

VARIABLES EVALUADAS

La conducta ingestiva del pastoreo de los bovinos se caracterizó siguiendo la metodología propuesta por Ortega *et al.* (2009) tomando en consideración las variables: a) Tiempo de pastoreo por cada estación de forrajeo (TPEF), definiendo una estación de forrajeo a la acción del animal en la que se detiene, baja su cabeza e inicia el consumo de forraje; b) Tiempo de movimiento entre estaciones de forrajeo (TMEF), definido como el tiempo que transcurre desde que el animal levanta la cabeza e inicia la marcha hasta detenerse para la ingesta de alimento en otra estación de forrajeo; c) Número de bocados por minuto (NB), número de bocados que realiza un animal durante el TPEF, definiéndose al bocado como el sonido del rasgado que ocurre cuando el forraje es removido de la planta; d) Tamaño de bocado (TB), para calcular esta variable se realizó el siguiente procedimiento, al tercer día de muestreo se les vació el rumen a los animales canulados, posteriormente se dejaron pastorear por espacio de 45 minutos, considerando este tiempo como período representativo de pastoreo de los animales, seguidamente se volvió a vaciar el rumen para pesar y secar la muestra

colectada (60°C durante 48 h) y obtener así el consumo. El TB fue determinado como el peso seco de la muestra, dividida entre el número de bocados durante los 45 minutos. e) Velocidad de consumo (VC), para determinar esta variable se consideró el peso de la muestra seca del forraje consumido, obtenida anteriormente del rumen y dividida entre la duración del muestreo (45 minutos). Para la ejecución de las variables anteriores, los animales de cada tratamiento (n=10) fueron observados individualmente tres veces al día por cinco días consecutivos en cada época del año, según lo recomendado por Ortega *et al.* (2009).

La caracterización del ramoneo se realizó a través de las siguientes variables: a) Consumo de hoja u hoja-tallo, se contó el número de veces que el animal consumía, durante el ramoneo, ya sea hoja u hoja-tallo del árbol; b) Consumo basal o apical, se contó el número de veces que el animal consumía, durante el ramoneo, el tercio basal del tallo o bien, la guía de crecimiento vertical del tallo; c) Tiempo de ramoneo, el tiempo medido en segundos, pudo determinar que el animal empleaba para consumir el follaje de una especie arbórea y d) Especie arbórea consumida, se observó la preferencia en el consumo entre las dos especies existentes dentro de la pradera. La caracterización fue mediante la observación visual directa de cada animal (n=10) por cada 10 minutos según lo recomendado por Palma y Román (2008) durante un período de dos horas (8:00-10:00 am) por cinco días consecutivos en cada época del año.

Diseño experimental y análisis de datos

El análisis estadístico se realizó para cada época del año (sequía y lluvia). Con la finalidad de homogenizar las varianzas, los datos expresados como conteos (consumo de hoja-tallo, consumo basal o apical) fueron transformados en raíz cuadrada para su análisis. Para la caracterización de la conducta ingestiva, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza en un diseño experimental completamente al azar con dos tratamientos (tipo de pradera) y diez repeticiones por tratamiento (animales). Para el caso del ramoneo, se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos (componente arbóreo seleccionado, especie seleccionada y ubicación

de ramoneo) y diez animales, cada animal fue parte de una repetición. Todos los análisis fueron realizados utilizando los procedimientos del paquete estadístico SAS (SAS, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias significativas ($P>0,05$) entre tratamientos dentro de cada época del año, para la variable TMEF (Cuadro 1); la misma tendencia fue observada para la variable TPEF, lo que pudiera indicar que los bovinos pastorearon de la misma forma el estrato herbáceo en ambos tipos de praderas dentro de cada época del año.

Los resultados encontrados en PSP y PGM referentes al TMEF y TPEF en ambas épocas fueron superiores a los valores de 2 a 3 s y de 30 a 45 s, reportados por Pinto (2002) en bovinos pastoreando acahuales y praderas de gramíneas. Así como a los reportados por Castillo *et al.* (2006), quienes revelaron resultados de 2 a 3 s y de 59 a 63 s, respectivamente, y a los de Ortega *et al.* (2009) cuyos datos fluctuaron de 1 a 2 s para TMEF y de 28 a 54 s para TPEF. La disimilitud entre los diferentes trabajos podría estar asociada a la disponibilidad y calidad del forraje de las áreas de alimentación estudiadas (Hirata *et al.*, 2006).

Los datos del TMEF indican que los bovinos en la PSP emplearon el mismo tiempo en el proceso de búsqueda de una nueva estación de forrajeo dentro de cada época, que los animales

de la PGM; esto es importante porque dicha búsqueda, por lo general, ocupa entre el 20 a 30% del tiempo de pastoreo en áreas donde la vegetación tiene una distribución dispersa (Stuth, 1991).

Numéricamente, los valores fueron más altos para ambos tratamientos en la época seca, lo que podría sugerir que en esta época, los animales destinan mayor tiempo en el proceso de búsqueda de una nueva estación de forrajeo; aspecto probablemente vinculado a un mecanismo de ajuste asociado con las características de la pradera (Stuth, 1991), pues se conoce que los rumiantes en pastoreo desarrollan estrategias de forrajeo como respuesta al tipo de planta que pastorean, a los cambios en fenología de las plantas y a la disponibilidad de forraje (Broom, 2011).

Por otro lado, la ausencia de diferencias entre los tratamientos dentro de cada época del año para los valores de TPEF indica que los bovinos de la PSP permanecieron el mismo tiempo consumiendo forraje en cada estación de forrajeo que los animales de la PGM, lo que indica que en ambas praderas, el animal empleó tiempo similar para remover la mayor cantidad de forraje comestible. Lo anterior podría estar asociado a que las diferencias en disponibilidad de forraje comestible entre los dos tipos de pradera no fue marcada, ya que se ha reportado que el TPEF está estrechamente relacionado con la disponibilidad y calidad de forraje de esa área de alimentación (Ogura *et al.*, 2002). Otra respuesta

Cuadro 1. Conducta ingestiva de bovinos apacentando praderas de Estrella africana (*C. nlemfuensis*) en monocultivo y asociada con *L. collinsii* y *G. ulmifolia* en dos épocas del año.

Variables	Seca			Lluvias		
	Pradera Asociada	Pradera monocultivo	EEM	Pradera Asociada	Pradera monocultivo	EEM
TMEF, s ⁻¹	7,21 ^a	7,48 ^a	0,85	4,77 ^a	5,64 ^a	0,27
TPEF, s ⁻¹	60,75 ^a	62,28 ^a	0,19	64,86 ^a	66,70 ^a	0,76
NB, boc min ⁻¹	19,00 ^b	24,00 ^a	0,00	19,00 ^b	24,00 ^a	0,00
TB, g boc ⁻¹	0,32 ^a	0,25 ^b	0,00	0,34 ^a	0,17 ^b	0,01
VC, g MS ⁻¹ min ⁻¹	7,76 ^a	4,76 ^b	0,13	6,45 ^a	4,25 ^b	0,08

Medias en la misma fila dentro de cada época con letras distintas difieren estadísticamente Tukey, $P<0,05$). EEM: Error estándar de la media; TMEF= Tiempo de movimiento entre estaciones de forrajeo; TPEF= Tiempo de pastoreo por cada estación de forrajeo; NB= Número de bocados por minuto; TB= Tamaño de bocado; VC= Velocidad de consumo.

podría estar relacionada a la adecuación de la carga animal en cada pradera. Se aprecia que numéricamente, los valores fueron más bajos, en ambos tratamientos durante la época seca, lo que ha sido reportado en otros trabajos de Ortega *et al.* 2009.

Al respecto, se sabe que cuando por efectos climáticos, la disponibilidad de forraje baja, el TPEF declina también (Hussain y Jan 2009).

Con relación a la variable NB, se aprecian diferencias altamente significativas ($P < 0,002$), destacando un mayor número de bocados por unidad de tiempo en los animales que pastorearon la PGM en ambas épocas del año en comparación a los animales en la PSP. Los valores encontrados para ambos tratamientos y en ambas épocas del año, se encuentran en el límite inferior de los rangos reportados para ganado bovino por diversos trabajos oscilando entre 20 a 66 bocados por minuto (Ortega *et al.*, 2009; Patiño *et al.*, 2010), pero similares a los datos reportados por Pinto (2002) en animales pastoreando vegetación natural (19,5 boc min⁻¹).

El mayor valor de NB ($P < 0,002$) encontrados en la PGM en ambas épocas del año puede estar asociado con el menor peso de bocado encontrado. Esta relación negativa entre el número y peso de bocado ha sido reportado por otros autores (Chacón y Stobbs, 1976; Hodgson, 1981; Penning *et al.*, 1991). En efecto, cuando el peso de bocado incrementa, se requiere una mayor proporción de movimientos de la mandíbula para masticar y acondicionar el forraje seleccionado, por consiguiente, el número de bocados puede ser reducido (Tarazona *et al.*, 2012). En este trabajo, las diferencias de NB a favor del PGM no son de consideración, ya que en el PSP se obtuvo valores de TB mayores, variable que es la más importante en la determinación del forraje consumido en el corto plazo. Ello significa que el consumo de forraje no se ve afectado en la PSP.

Para la variable TB se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) a favor de los animales pastoreando la PSP en ambas épocas del año. Los valores encontrados del TB para ambos tratamientos, se encuentran cercanos a los rangos reportados para ganado bovino por diversos trabajos que oscilan entre los 0,33 y 0,44 g MS boc⁻¹ (Gibb *et al.*, 1998;

Ortega *et al.*, 2009). No obstante, Pinto (2002), encontró resultados más elevados en animales pastoreando vegetación natural y potreros de gramíneas durante la época de lluvia (0,80 y 0,90 g MS boc⁻¹, respectivamente).

Se ha reportado que tanto el NB como el TB son sensibles a los cambios en las características de la pastura tales como altura del forraje, densidad o cantidad de éste (Alonso *et al.*, 2012).

La ingesta diaria de forraje en animales en pastoreo es el resultado del producto del tiempo de pastoreo por velocidad de consumo, compuesta esta velocidad por el número de bocados y el peso individual del bocado (Gordon, 1995). De estos, los gramos por bocado tienen el mayor efecto sobre la velocidad de consumo (Stuth, 1991). Con base a lo anterior, se puede asumir que el mayor tamaño de bocado cosechado por los bovinos en la PSP favoreció la mayor VC ($P < 0,05$) encontrada en la misma pradera en cada época del año. Los valores obtenidos en este trabajo son menores a los reportados por Ortega *et al.* (2009) cuyos rangos fueron de 0,14 a 0,19 g MS boc⁻¹.

El ramoneo como acción de ingestión no habitual de los bovinos, es una actividad que requiere un mayor esfuerzo y atención por parte de los animales, por estar encima del estrato habitual de ingestión de esta especie. Con relación al componente arbóreo seleccionado en la dieta (hoja-tallo); en el cuadro 2, se observa que para la época seca no existieron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$). La falta de diferencias, podría responder a que los animales consumen indistintamente hojas o tallos suculentos de las leñosas, producto de la baja calidad del forraje basal. Para la época de lluvias, los animales consumieron más hojas que hoja-tallo ($P < 0,05$) como parte principal de su dieta arbórea. Bajo condiciones de suficiencia de forraje basal, las hojas, tanto en brotes como ya formadas y caídas, constituyen la parte más consumida por los animales, debido a su calidad y succulencia (Hernández *et al.*, 2008).

Con respecto a la preferencia por la especie arbustiva (Cuadro 2), se observa que los animales fueron selectivos dentro de ambas épocas, registrando que el animal prefirió mayormente *G. ulmifolia* en la época seca y *L. Collinsii* en la época de lluvia ($P < 0,05$), aspecto bastante

Cuadro 2. Caracterización del ramoneo de bovinos apacentando una pradera de *C. nlemfuensis* asociada con *G. ulmifolia* y *L. collinsii* en dos épocas del año.

Época	Componente de la Dieta		EEM	Preferencia de Especie		EEM	Ubicación del Ramoneo		EEM
	Solo hoja	Hoja + tallo		<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Leucaena collinsii</i>		Basal	Apical	
Seca	9,00 ^a	8,00 ^a	0,05	10,00 ^a	5,00 ^b	0,08	3,6 ^a	4,80 ^a	0,33
Lluvias	8,83 ^a	3,20 ^b	0,01	4,60 ^b	7,40 ^a	0,00	5,6 ^a	3,80 ^a	0,11

Medias en la misma fila pero con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, $P < 0.05$)

significativo para la selección de las especies a establecer en un sistema silvopastoril. Lo que podría estar asociada al hecho de que en la época seca, debido a la falta de humedad, *L. collinsii*, especie considerada de retención foliar media (40-60%) (Argel y Pérez, 2008), perdió parte de su follaje, por lo que el bovino recurrió al ramoneo mayor de *G. ulmifolia*. Contrariamente, en lluvias, la preferencia por *L. collinsii* podría explicarse por la alta calidad y palatabilidad de su follaje (Pinto *et al.*, 2010).

Pocos son los trabajos que se han realizado sobre la preferencia arbórea de animales en pastoreo. No obstante, algunos autores han reportado la preferencia del género *Leucaena* (García *et al.*, 2008; Toral e Iglesias, 2008), mientras que Sosa *et al.* (2004) mencionan al género *Guazuma* como la más preferida. Es probable que además de la relación entre la aceptabilidad y la calidad nutritiva de la especie, ésta diferenciación pueda relacionarse con estímulos sensoriales; a la visión, el gusto o el olfato del animal (Toral e Iglesias, 2008). Por lo que se plantea que la comprensión de los factores físicos y químicos que influyen en la selección de las plantas arbustivas ayudaría a la identificación de recursos forrajeros promisorios.

Otro aspecto significativo fue la ubicación del ramoneo de los bovinos ya que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) dentro de cada época del año, no hubo un comportamiento particular que dañara los brotes tiernos o yemas terminales que pudiera retardar el crecimiento de la planta. De las evidencias encontradas en este trabajo todo pudiera coincidir con una investigación sobre la incidencia de ramoneo del Guanaco (*Lama guanicoe*) realizada por Pulido *et al.* (2000).

Se presume entonces, que el animal así como emplea el mismo tiempo de ramoneo y la misma altura para esta acción; no es selectivo mientras ramonea de un área específica del tallo.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que en términos de TMEF y TPEF, los bovinos pastorean el estrato basal de la misma manera en ambos tipos de pasturas, sin embargo, en la PSP se obtuvo una mayor velocidad de consumo, producto del mayor tamaño de bocado en cada época del año, lo que se considera como el factor más importante para no limitar el consumo de forraje a corto plazo.

En cuanto al ramoneo, existieron diferencias en la preferencia de las especies leñosas así como en la elección de los componentes estructurales de las hojas-tallos, lo que es útil para decidir la introducción de especies.

LITERATURA CITADA

- Alonso, J. T. Ruiz, G. Achang, L. D. T. Santos, R. A. Sampaio A. 2012. Producción de biomasa y comportamiento animal en pastoreo con *Tithonia diversifolia* a diferentes distancias de plantación. *Livestock Research for Rural Development*, vol 24(9) no.160 Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd24/9/lazo24160.htm> [Oct. 11, 2017].
- Argel, M., J. Pedro, G. Pérez. 2008. Adaptation of new species of *Leucaena* in Costa Rica, Central America. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Regional Office at IICA Disponible en línea: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/72063> [Jul. 7, 2015].

- Avendaño, J., C. Ovalle y M. Ramírez 2003. Caracterización de los componentes vegetales consumidos por ovinos y bovinos en plantas de Tagasaste (*Chamaecytisus proliferus* ssp *palmensis*). *Agricultura Técnica*. 63(1)110-124.
- Broom, D. M. 2011. A history of animal welfare science. *Acta Biotheor.* 59(2):121-37.
- Castillo, H., P. Rivas, R. Ortega y H. López 2006. Comportamiento Ingestivo de Ovinos Apacentando Praderas Mixtas y en Monocultivo. *Boletín técnico*. Centro Experimental, Mocochá, Centro de Investigación Regional del Sureste, 23 p.
- Chacón, E., T. H. Stobbs.1976. Influence of progressive defoliation of a grass sward on the eating behaviour of cattle. *Australian Journal Agricultural Research*, 27:709-727.
- García, D., M. G. Medina, L. Cova. 2008. Preferencia de vacunos por el follaje de doce especies con potencial para sistemas agrosilvopastoriles en el Estado Trujillo, Venezuela. *Pastos y Forrajes*, 313 (3)255-270.
- García, E. 1981. *Modificación al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. 3 ed. Universidad Nacional Autónoma de México, 98 p.
- Gibb, J., C. A. Huckle, R. and Nuthall. 1998. Effect of time of day on grazing behaviour and intake rate by lactating dairy cows. *Grass and Forage Science*, 53:41-46.
- Gordon, I. J. 1995. Animal-based techniques for grazing ecology research. *Small Ruminant Research*, 16:(3)203-214.
- Hernández, H. J. E., F. Guerra, O. A. Villarreal Espino-Barros, J. C. Camacho, C. E. Juárez. 2008. Caracterización taxonómica del estrato arbóreo-arbustivo y sus partes vegetativas preferidas por el ganado caprino en la región mixteca poblana. In: XXXIII JORNADAS CIENTÍFICAS Y XII INTERNACIONALES DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OVINOTECNIA Y CAPRINOTECNIA, 2008. Andalucía. Anais, España: Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, pp. 245-249.
- Hirata, M., E. Kanemaru and M. Tobisa. 2006. Patch choice by cattle grazing tropical grass swards: a preliminary study. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 97:134-144.
- Hodgson, J. 1981. Variations in the surface characteristics of the sward and the short-term rate of herbage intake by calves and lambs. *Grass and Forage Sci.* 36:49-57.
- Hussain, F. and D. M. Jan. 2009. Seasonal availability, palatability and animal preferences of forage plants in harboi arid range land, kalat, Pakistan. *Pak J Bot*; 41(2):539-554.
- Ogura, S., H. Hasewaga and M. Mirata. 2002. Effects of herbage mass and herbage quality on spatially heterogeneous grazing by cattle in a bahia grass (*Paspalum notatum*) pasture. *Tropical Grassland*, 36:172-179.
- Ortega, R. L., J. Castillo y F. Rivas. 2009. Conducta ingestiva de bovinos Cebú adultos en leucaena manejada a dos alturas diferentes. *Técnica Pecuaria de México*, 47(2):125-134.
- Palma, J. M. y L. Román. 2008. Cambios en la conducta ingestiva de los ovinos al modificar la altura inicial de pastoreo de *Leucaena leucocephala*. *Zootecnia Trop*; 26:371-374.
- Patiño, R. L. Botero, J. Castillo y F. Arrieta. 2010. Desempeño y comportamiento ingestivo de novillas de levante recibiendo un suplemento mineral adicionado con fuentes energéticas y proteicas en un sistema silvopastoril. *Livestock Research for Rural Development*, vol. 22(5)2010 no.101. Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd22/5/pati22101.htm> [Ago. 13, 2015].
- Penning, P. D., A. J. Parson y R. J. Orr. 1991. Intake and behaviour responses by sheep to changes in sward characteristics under continuous stocking. *Grass and Forage Science*, 46:15-28.
- Pinto, R. 2002. Árboles y arbustos con potencial forrajero del valle central de Chiapas. Tesis Ph. D. Mérida Yucatán, México. Facultad

- de Medicina Veterinaria y Zootecnia Unidad de Posgrado e Investigación. 233 p.
- Pinto-Ruiz, R., D. Hernández, H. Gómez, M. A. Cobos, R. Quiroga y D. Pezo. 2010. Árboles forrajeros de tres regiones ganaderas de Chiapas, México: usos y características nutricionales. *Universidad y Ciência* 26:19-31.
- Pulido, F. J. B. Díaz y G. Martínez. 2000. Incidencia del ramoneo del Guanaco (*Lamaguanicoe Müller*) sobre la regeneración temprana en bosques de Lengua (*Nothofagus pumilio*) de tierra del fuego, Argentina. *Investigación Agrícola en Sistemas de Recursos Forrajeros*, 9(2)381-394.
- SAS. 1994. User's guide. 4th ed. Statistical Analysis Institute. Inc. North Carolina. USA. 470 p.
- Sosa, R. E. R. D. Pérez y R. L. Ortega. 2004. Evaluación del potencial forrajero de árboles y arbustos tropicales para la alimentación de ovinos. *Técnica Pecuaria de México*, 42(2)129-144.
- Stuth, J. W. 1991. Foraging Behavior. In: Heitschmidt, R. K; Stuth, J. W. (Eds) *Grazing management: An ecological perspective*. 1. ed. Oregon: Timber Press; p.65-84.
- Suárez, E., S. Reza, I. Pastrana, V. Patiño, F. García, H. Cuadrado, M. Espinosa y E. Díaz. 2014. Comportamiento ingestivo diurno de bovinos de ceba en *Brachiaria* híbrido Mulato II, *Corpoica* *Cienc. Tecnol. Agropecu*; 15(1):15-23
- Tarazona, A. M, M. C. Ceballos, J. F. Naranjo y C. A. Cuartas. 2012. Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.* 25:473-487.
- Toral, O. y J. Iglesias. 2008. Selectividad de especies arbóreas potencialmente útiles para sistemas de producción ganaderos. *Zootecnia Trop*; 26:(3)197-200.

Variación mensual de la producción de leche en mestizos Holstein, Pardo Suizo y Jersey de la zona alta de Mérida, Venezuela

Monthly variation in milk production from crossbred Holstein, Brown Swiss and Jersey in the hill zone of Merida, Venezuela

Alberto Menéndez-Buxadera^{1*}, Omar Verde² y Abelardo Rodríguez-Voigt³

¹Universidad Técnica de Manabí. Facultad de Zootecnia Portoviejo, Ecuador. ²Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay, Venezuela. ³Empresa Genética Tropical, Caracas, Venezuela. *Correo electrónico: ambuxadera@yahoo.com

RESUMEN

A fin de estimar con mayor precisión las variaciones de la producción de leche durante la lactancia, se evaluaron 112 241 producciones mensuales expresadas en kg/día (TD) provenientes de 5 712 vacas del estado Mérida, Venezuela, con números de partos 1 – 6 aproximadamente y grupos genéticos predominantes como Holstein (H), Jersey (J) y Pardo Suizo (PS). Se consideraron también efectos de grupo contemporáneo (GC) como combinación de finca, año y mes de parto; Número de Parto (NP), Semana de Lactancia (DIM, 1 a 49), Grupo Genético (GA) e interacción DIM x GA sobre TD, mediante modelos lineales de efecto fijo, Repetibilidad (R) y Regresión Aleatoria (RA), para evaluar TD, estimar componentes de covarianza y utilizarlos en programas de selección. Los niveles de producción fueron 4 506, 3 482 y 4 098 kg por lactancia para H, J y PS respectivamente, con incrementos en los promedios lácteos a lo largo de los años y con una superioridad de 1,2 kg x día para las pariciones entre Junio y Agosto con máxima producción a la 6 o 7 semana. Los estimados globales de R fueron $0,312 \pm 0,01$ y $0,245 \pm 0,01$ para H y J respectivamente, con fluctuaciones durante la lactancia, señalan la presencia de interacción dentro de animales entre las diferentes semanas, lo que implicaría que mejores animales en una etapa temprana de producción no son los mejores al final. El análisis de componente principal de la matriz de RA señala que es posible identificar animales con diferentes curvas de lactancia.

Palabras clave: producción animal, lactancia, registro de leche, covarianza.

ABSTRACT

In order to a more accurately evaluation in variations of milk production, during lactation, 112 241 monthly milk productions, expressed in kilograms per day (TD) were analyzed. These records belong to 5 712 cows, with parities between 1 - 6, or more, and genetic groups predominantly Holstein (H), Jersey (J) or Brown swiss (PS), located in the state of Merida, Venezuela. The effects of contemporary group (CG) like combination of farm, year and month of parturition, Parity (NP), Lactation Week (DIM, 1-49), Genetic group (GA) and the interaction between DIM with GA on TD were evaluated by linear fixed effect model, repeatability (R) and random regression models, in order to evaluate TD variation and estimate covariance for its use in breeding programs. The results indicate production levels by lactation of 4 506, 3 482 and 4 098 kg for H, J and PS respectively, an increase in milk production over the years, superiority of 1.2 kg/day for calving between June and August and a peak of maximum output at 6 or 7 week. The overall R estimates were 0.312 ± 0.01 and 0.245 ± 0.01 for H and J respectively. However, the analyses showed fluctuations for this parameter throughout lactation, indicating the presence of interaction within animals between different weeks, implying the possibility that the best animals at an early stage of production are not the best at the end of it. The results of principal component analysis of random regression matrix indicate that it is possible to identify animals with different lactation curves.

Key words: animal production, lactation, milk recording, covariance.

Recibido: 12/01/16 Aprobado: 24/10/17

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción conocidos como doble propósito (leche y carne) se han empleado en Venezuela durante mucho tiempo, utilizando bovinos producto de cruces entre Criollo, Zebú, Holstein, Pardo Suizo, Jersey, Jamaica Hope entre otros; con resultados satisfactorios (Ortega *et al.*, 2007; Urdaneta, 2009). Es así como, desde hace algunos años se ha trabajado con un genotipo racial denominado Carora, muy adaptado a las condiciones agroecológicas de Venezuela. Estos animales se consideran del tipo *Bos taurus* y consisten en una combinación de genes con predominancia de Criollo y Pardo Suizo. Una breve descripción general sobre la creación y caracterización productiva es presentada por Tullo *et al.* (2014). Este ganado está presente en diferentes regiones del país y a pesar de que son relativamente poco numerosos, constituye un potencial de importancia para los planes de producción animal.

Además de los cruces generadores de poblaciones bovinas heterogéneas y de las experiencias con el ganado Carora mencionadas en el párrafo anterior, debe indicarse una tercera experiencia más integral, que inició en 1970 con la Asociación de Ganaderos de la Zona Alta de Mérida (AGZAM) concretándose oficialmente en 1971 y, posteriormente, en 1996, mediante proyectos interdisciplinarios e interinstitucionales con la participación de técnicos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), la Universidad de Los Andes (ULA), la Universidad Central de Venezuela (UCV), la Universidad del Zulia (LUZ) así como la participación de las Asociaciones de Productores y la empresa Genética Tropical.

El propósito fue desarrollar un programa de mejora con animales puros y cruzados de Holstein, Pardo Suizo y Jersey, adaptado a pequeñas unidades de producción situadas en la Zona Alta del Estado Mérida. En este sentido y con el fin de apoyar el progreso del proyecto, se desarrolló un Sistema Computarizado de Control de Producción (SCCP), para crear una base de datos y aplicar un proceso sostenido de selección (Rodríguez-Voigt y Verde, 2002).

Los primeros análisis fenotípicos generales presentados por los autores previamente citados, indicaron varios niveles de producción

y un potencial reproductivo superior de todos los grupos de animales respecto a los promedios nacionales, donde particularmente los animales mestizos de Holstein presentaron el mejor comportamiento. Los mismos autores señalan que estos primeros resultados crean las condiciones para establecer programas de evaluación y selección de hembras con los mejores niveles productivos, así como la posibilidad de evaluación del comportamiento de los diferentes grupos raciales de una determinada zona. Como consecuencia de este trabajo sostenido en el tiempo, actualmente se dispone de una base de datos bastante voluminosa que puede ser objeto de un análisis más detallado.

Por otra parte, durante mucho tiempo se han empleado los resultados de la producción láctea acumulada en la lactancia (LT) para expresar el potencial productivo del animal. Sin embargo, LT se estima como función de los controles mensuales, conocidos como Test Day (TD), realizados a cada animal, asumiendo la no existencia de variaciones individuales en la forma de la curva de lactancia. Este enfoque podría sesgar los resultados, y no justifica el empleo de un solo valor fenotípico (LT) cuando están disponibles los TD que le dieron origen. Esta tendencia puede explicarse debido a las limitaciones previas en cuanto a la capacidad de cómputo y de programas eficientes para tratar grandes volúmenes de datos. Sin embargo, los avances tecnológicos de computación y algoritmos altamente eficientes permiten cambiar esta perspectiva, mediante el uso de modelos longitudinales (Schaeffer, 2004).

Con base a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estimar las causas de variación de la producción mensual en cada lactancia para tres grupos genéticos predominantes tales como Holstein (H), Jersey (J) y Pardo Suizo (PS), haciendo énfasis en los componentes de covarianza a lo largo de la lactancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se dispuso de una copia de la base de datos existente en SCCP con 135 162 registros individuales de producción de leche mensual (TD), colectados entre Abril de 1997 a Febrero

de 2013, en 71 fincas situadas en la zona alta del Estado Mérida, Venezuela.

Se eliminaron los registros de aquellos rebaños con menos de 60 TD, así como los resultados individuales de la producción de leche fuera del rango de $\pm 3,3$ desviaciones estándar. Los días de lactancia se agruparon en semanas (DIM), eliminándose aquellos TD con DIM > 49. La edición de los datos permitió detectar la existencia de 16 grupos raciales diferentes, producto fundamentalmente, de combinaciones de las razas Holstein, Pardo Suizo, Carora, Cebú, Criollo y Jersey. Con la finalidad de realizar una evaluación más apropiada, se procedió a efectuar una selección de estos genotipos en tres grupos de acuerdo a la raza predominante en cada animal, de la siguiente manera:

Tipo Holstein, animales con 50% o más de genes de Holstein.

Tipo Jersey, animales con 50% o más de genes de Jersey.

Tipo Pardo, animales con 50% o más de genes de Pardo Suizo.

Otros genotipos, como animales cruzados de Carora y desconocidos fueron eliminados por constituir grupos con muy pocas observaciones.

Finalmente, quedó disponible un total de 112 241 TD provenientes de 5 712 vacas, con número de partos entre 1 y 6 aproximadamente, distribuidos en 66 rebaños de los cuales existían al menos 2 de los 3 tipos de animales conformados

previamente. El Cuadro 1 presenta algunos indicadores generales.

La información disponible permitió identificar que estas vacas eran hijas de 841 sementales de composición genética muy disímil, usados tanto en monta directa como en inseminación artificial. A partir de esta información, se pudiera inferir una adecuada conexión entre las fincas. Sin embargo, un detallado examen de edición indicó múltiples inconsistencias, de manera que se estimó más adecuado no considerar este efecto.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se aplicaron varios modelos; en primer lugar, se utilizaron modelos lineales de efectos fijos en los datos de TD, donde se tomó en consideración: grupo contemporáneo GC_i (combinación de finca, año y mes de parto, con $i = 3\ 792$ niveles); números de partos (NP_j , con $j = 1... 6$ o más partos); semanas de lactancia (DIM_k , con $k = 1...49$); Tipo Genético del animal (GA_l , con $l = 1, 2$ y 3) y la Interacción entre DIM y GA (I_{kl}). La variable dependiente fue el TD expresado en kg/día. Los resultados de este modelo se emplearon para representar la respuesta de la producción diaria en los tres tipos de animales a lo largo de varios efectos ambientales.

Para la estimación de los componentes de covarianza, se utilizaron solamente los datos correspondientes a los animales tipo Holstein

Cuadro 1. Indicadores generales de la población estudiada.

	Tipo genético		
	Holstein	Jersey	Pardo Suizo
N° de animales	4 551	827	334
N° de controles mensuales (TD)	88 160	18 260	5 821
N° de Lactancias	10 596	2 229	725
N° de fincas*	66	42	37
Producción promedio leche total-Kg**	4 506 \pm 2 430	3 482 \pm 1 590	4 098 \pm 1 715
Producción promedio leche día-Kg**	17,8 \pm 6,9	14,7 \pm 5,1	16,8 \pm 5,2
Duración promedio lactancia-días**	309 \pm 91	297 \pm 81	295 \pm 83

*Hay 42 fincas con animales Holstein y Jersey; 36 con Holstein y P. Suizo y 25 con P. Suizo y Jersey.

**Promedio \pm desviación estándar.

y Jersey debido a la disposición de un mayor número de observaciones (Cuadro 1). Inicialmente se aplicaron modelos de R, en los cuales se asume una correlación igual a la unidad entre pares de registros en el mismo animal, así como varianzas homogéneas, lo que, por lo general, no se cumple, recomendándose en esos casos aplicar modelos de RA (Mrode, 2005). La aplicación de estos modelos para estudiar los registros mensuales de producción de leche fue propuesta por Ptak y Schaeffer (1993), lo que es conocido como modelo Test Day; éste fue el análisis utilizado en este estudio, aplicando dos modelos:

$$y_i = Xb + \sum_{r=0}^3 \beta \lambda_{kr} + Z_1 a_{m:GA1} + Z_2 a_{m:GA2} + I_n e \text{ Modelo TD}$$

$$y_i = Xb + \sum_{r=0}^3 \beta \lambda_{kr} + \sum_{r=0}^2 \lambda_{kr1} a_{m:GA1} + \sum_{r=0}^2 \lambda_{kr2} a_{m:GA2} + I_n e \text{ Modelo RA}$$

Donde b es un vector de efectos fijos definidos previamente (GC_i ; NP_j ; GA_k , DIM_k e I_n), $a_{m:GA}$ y representa los efectos aleatorios del animal que produce el TD intra GA (1=tipo Holstein y 2=tipo Jersey), el cual representa la varianza individual total generado tanto por su composición genética total (efectos aditivos y no aditivos) como por efectos ambientales de carácter permanente. Las matrices X ; Z_1 ; Z_2 e I son matrices de incidencia que conectan los efectos fijos y aleatorios con la variable dependiente.

En el procedimiento TD la forma de la curva de lactancia se modeló utilizando una covariable fija (β) mediante un polinomio de Legendre (λ_k) de orden $r=3$ en el cual se asume que no hay variaciones en la forma de respuesta de y_i a lo largo de la trayectoria de DIM_k ($k=1, 2, \dots, 49$ semanas). Por el contrario en el modelo RA se considera la existencia de una desviación aleatoria debida a variaciones individuales del animal intra GA ($a_{m:GA}$), con respecto a la curva de lactancia de la población modelada en β ; en este caso las matrices Z_1 y Z_2 del modelo TD son sustituidas por los correspondientes coeficientes de un polinomio de Legendre (λ_{k1} y λ_{k2}) los cuales tienen el mismo nivel de k^{th} semanas pero con orden $r=3$ y $r=2$ para animales tipo Holstein y Jersey respectivamente.

La razón de aplicar diferentes niveles estuvo en la no convergencia observada en análisis previos con $r=3$ en los datos provenientes de los animales Jersey.

En estos modelos se asume que:

$$y \sim N [0, (\sigma_y^2 = I_{GA1} \sigma_a^2 + I_{GA2} \sigma_a^2 + I_N \sigma_e^2)] \text{ Modelo TD}$$

$$y_{K:GA} \sim N [0, (\sigma_y^2 = \lambda_{k1} * [K_{GA1}]_{4 \times 4} * \lambda'_{k1} + \lambda_{k2} * [K_{GA2}]_{3 \times 3} * \lambda'_{k2} + I_N \sigma_e^2)] \text{ Modelo RA}$$

Los términos KG_{A1} y KG_{A2} son matrices cuadradas de coeficientes de RA cuyos elementos son las varianzas del intercepto y de los coeficientes lineales, cuadrático y cúbico así como las covarianzas entre los mismos. Para el tipo de animal Jersey, KG_{A2} es una matriz de 3×3 donde el coeficiente cúbico no está incluido. En estas formulaciones del modelo TD los elementos σ_a^2 , σ_a^2 y σ_e^2 representan las varianzas totales debidas al animal tipo Holstein, Jersey y residual respectivamente. Los componentes de covarianza y el valor del potencial productivo total (VPP) se estiman directamente de la solución del modelo TD multiplicado por la duración de la lactancia a la que se desea expresar los resultados.

Para el modelo RA es necesario un procedimiento adicional propuesto por Jamrozik y Schaeffer (1997), donde los componentes de varianza para los animales Holstein (GA1) y Jersey (GA2) se obtienen por:

$$\sigma_a^2 m_{GA1} = \lambda_{k1} K_{GA1} \lambda'_{k1}$$

$$\sigma_a^2 m_{GA2} = \lambda_{k2} K_{GA2} \lambda'_{k2}$$

Los estimados de R para cada k^{th} semana de lactancia (R_k) se obtienen mediante:

$$R_{GA1} = \frac{\lambda_{k1} K_{GA1} \lambda'_{k1}}{\lambda_{k1} K_{GA1} \lambda'_{k1} + e_i^2} \text{ para animal tipo Holstein}$$

$$R_{GA2} = \frac{\lambda_{k2} K_{GA2} \lambda'_{k2}}{\lambda_{k2} K_{GA2} \lambda'_{k2} + e_i^2} \text{ para animal tipo Jersey}$$

Así mismo, las correlaciones totales entre TD a diferentes k^{th} semanas de la lactancia (r_{kij}) se obtienen por:

$$r_{k1ij} = \frac{\lambda_{k1} K_{GA1} \lambda'_{k1}}{\sqrt{\lambda_{k1,i} K_{GA1} \lambda'_{k1,i} * \lambda_{k1,j} K_{GA1} \lambda'_{k1,j}}} \text{ para animal tipo Holstein}$$

$$r_{k2ij} = \frac{\lambda_{k2,i} K_{GA2} \lambda'_{k2,i}}{\sqrt{\lambda_{k2,i} K_{GA2} \lambda'_{k2,i} * \lambda_{k2,j} K_{GA2} \lambda'_{k2,j}}} \text{ para animal tipo Jersey}$$

Los numeradores de r_{k1ij} y r_{k2ij} corresponden con las covarianzas entre los efectos del animal en las semanas i y j para tipo Holstein y Jersey respectivamente.

Mientras que los VPP para el m^{th} éximo animal en la k^{th} semana de lactancia se estiman según:

$$VPP_k^i = \lambda_k^i a_m$$

Donde el vector a_m contiene las soluciones de la RA para los efectos del m^{th} animal y λ_k son los coeficientes del polinomio de Legendre del orden r considerado, el cual varía según el tipo animal. Con este procedimiento se dispondrá de estimaciones del VPP para la producción de leche en cada semana de lactancia. Los VPP para las producciones acumuladas a 240 días de lactancia (semana 34) se obtienen por:

$$VPP_{34} = 7 * \sum_{i=1}^{34} VPP_i$$

Con este procedimiento se estiman los VPP según el modelo TD, los cuales se compararon con los estimados según el modelo RA para la producción de leche acumulada a 240 días. Con los resultados obtenidos se seleccionaron los mejores 200 animales según VPP_{34} en Holstein y los mejores 150 en Jersey y se representó la evolución de VPP a lo largo de la trayectoria de la lactancia.

Todo el procedimiento estadístico se realizó con el software ASREML 3.0 (Gilmour *et al.*, 2009). El modelo RA es más complejo y requiere de mayor tiempo de análisis, sin embargo, puede proporcionar información importante y beneficiosa para el programa de mejora en la población donde se utilice. Las matrices K_{GA1} y K_{GA2} fueron sometidas a un análisis de componentes principales con la finalidad

de identificar posibles cambios de forma de respuesta de la producción láctea a lo largo de la lactancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, los niveles de producción de leche diaria y total por lactancia de este trabajo (Cuadro 1), se sitúan en niveles muy superiores a trabajos previos revisados por Verde *et al.* (2002) para este tipo de ganado en condiciones comerciales, así como a los observados en animales mestizos similares a los de este estudio, mantenidos en una estación experimental de La Universidad del Zulia (Chirinos y Márquez, 2007). Durante el periodo de tiempo representado en esta base de datos, los tres tipos animales manifestaron un incremento en la producción de leche (Figura 1), especialmente a partir del 2003. Tendencias opuestas han sido presentadas por Pérez y Gómez (2005) en animales Pardo Suizo y por Rodríguez y Martínez (2010), con animales mestizos de primera y segunda lactancia. Los animales del tipo Holstein presentan un mayor volumen de producción respecto a los Pardo Suizo y Jersey, en correspondencia con los resultados presentados por Zambrano *et al.* (2013) y Ríos-Utrera *et al.* (2015). En términos relativos, la tendencia de incremento de los animales Jersey fue muy superior al Holstein entre 2003 y 2012. El comportamiento del Pardo Suizo fue estable en este mismo periodo, aunque este tipo de animal está representado

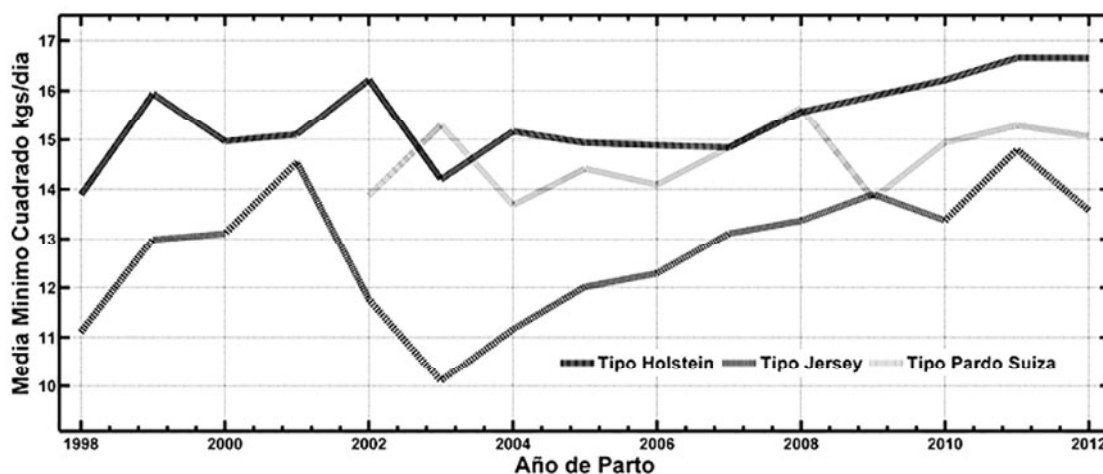


Figura 1. Evolución de la producción diaria de leche en función del año de parto.

por pocas observaciones. Todas las referencias previamente citadas se basan en resultados obtenidos en Venezuela, lo cual corrobora lo acertado de los propósitos planteados por Rodríguez-Voigt y Verde (2002) para el inicio de este proyecto.

Un resultado que se debe resaltar es el efecto del mes de parto sobre la producción de leche (Figura 2). Se mantiene la superioridad de los animales tipo Holstein, el patrón general indica que los animales que paren entre Junio y Agosto producen 1,2 kg adicionales por día de lactancia en Holstein y Jersey, respecto a los animales cuyos partos ocurren a inicios del año. Tendencias muy similares con animales mestizos

en el estado Trujillo han sido presentadas por Pino *et al.* (2009).

Este efecto del mes de parto puede representar un aumento de alrededor del 8% en la lactancia total (kg). Sin embargo, a pesar de su potencial beneficio, la alternativa de aplicar una estrategia de época de partos en ganado lechero no ha sido muy utilizada en el trópico Latinoamericano.

En relación a la producción de leche diaria a lo largo de la lactancia no se han logrado obtener referencias sobre animales mestizos lecheros en Venezuela. Sin embargo, la forma de la curva estimada en el presente trabajo (Figura 3) es semejante a la descrita por el Departamento de Producción e Industria Animal del Decanato

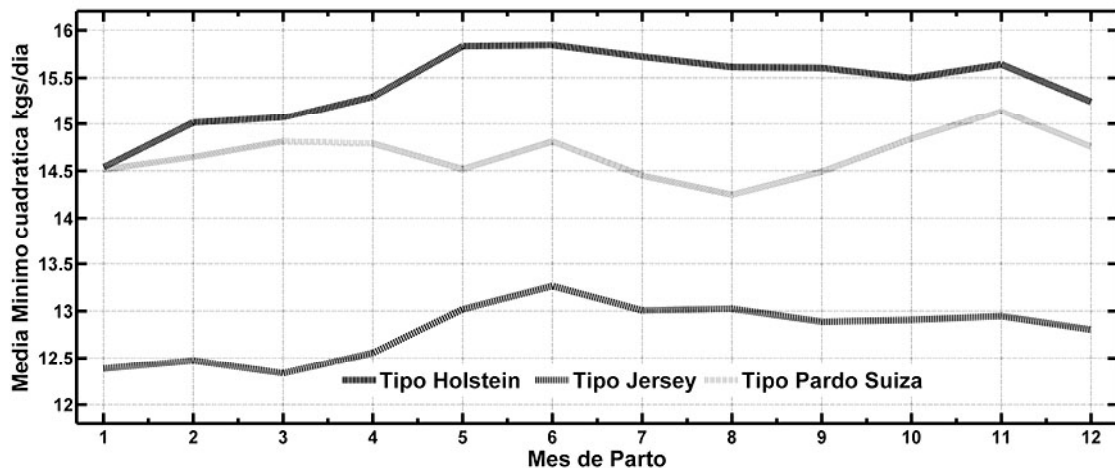


Figura 2. Efecto del mes de parto sobre la producción diaria de leche en animales mestizos.

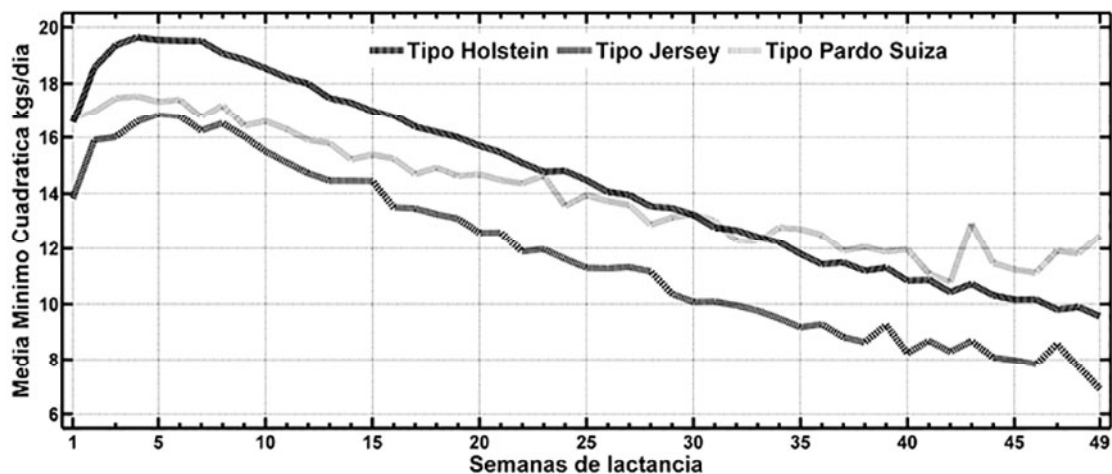


Figura 3. Forma de la curva de lactancia de animales mestizos de Holstein, Pardo Suizo y Jersey en condiciones comerciales de Venezuela.

de Ciencias Veterinarias de la Universidad "Lisandro Alvarado", así como a la reportada por Segura y Osorio (2002).

Los animales tipo Holstein y Jersey presentan la misma forma de la curva, con un pico máximo a las 6 - 7 semanas y posteriormente una fase de decaimiento paulatino. Los resultados del Pardo Suizo son algo diferentes, no obstante, debe recordarse que estos animales están representados por muy pocas observaciones. En el contexto de este trabajo, el objetivo no es el de estimar o discutir la más adecuada fórmula de la curva de la lactancia, sino mostrar la misma en términos de la población de datos, ya que es la que se asume constante en los procedimientos clásicos de evaluación de los animales para un proceso de selección. El riesgo de este enfoque fue evaluado mediante los modelos descritos en la sección Materiales y Métodos, los resultados se presentarán seguidamente considerando solo los datos de Holstein y Jersey.

Estimación de parámetros y evaluación de animales

El análisis realizado según el modelo TD proporcionó resultados de R de $R=0,312 \pm 0,01$ y $R=0,245 \pm 0,01$ para animales tipo Holstein y Jersey respectivamente. Estos valores están en correspondencia con los estimados por Román *et al.* (2000) en ganado Jersey de la Florida ($R=0,34$) y Rios - Utrera *et al.* (2012) en ganado Pardo Suizo y Holstein en México ($R=0,40$ en ambas razas). Por otro lado, también existe

coherencia con los resultados disponibles en Venezuela con animales mestizos muy similares a los empleados en este estudio: $R=0,42$ en Pérez y Gómez (2005); $R=0,24$ en Chirinos y Márquez (2007), mientras que Tullo *et al.* (2014) presentan valores de R que oscilan entre 0,30 y 0,56 en ganado Carora. De acuerdo a la similitud entre los resultados de este estudio y las referencias citadas, se puede concluir que estos parámetros son los que corresponden a esta población de animales mestizos en las condiciones de Venezuela. Sin embargo, su utilización práctica debe enmarcarse en el contexto del significado de este parámetro.

La repetibilidad es un indicador que mide el grado de asociación entre medidas sucesivas del mismo rasgo en el mismo animal. En R se combinan las varianzas debida a componentes genéticos aditivos y no aditivos, así como aquellas debido a variaciones ambientales de carácter permanente. En otras palabras, explican esa proporción las diferencias totales observadas entre los niveles productivos de los animales. En tales definiciones se asume a priori igual varianza entre todos los registros y que la correlación genética es igual a la unidad entre pares de registros. En la práctica esto no se cumple (Mrode, 2005), aunque sus resultados pueden ayudar en el trabajo diario del criador para reemplazar los animales.

En la Figura 4, se presenta la evolución de la R a lo largo de las semanas de lactancia, estimado según el modelo RA. Los resultados para ambos

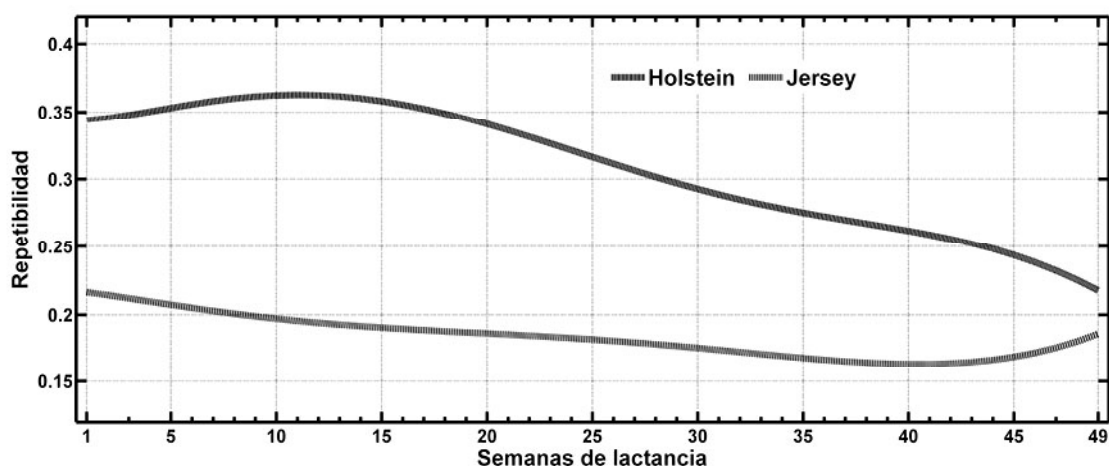


Figura 4. Evolución de la repetibilidad en producción de leche semanal en animales mestizos de Holstein y Jersey según un modelo de Regresión Aleatoria.

tipos de animales muestran que los valores de R no son constantes a lo largo de la escala de la lactancia. Similar tendencia fue publicada por Tullo *et al.* (2014) en ganado Carora de Venezuela y Santellano-Estrada *et al.* (2011) en ganado Criollo de México. Los resultados de los animales tipo Holstein son superiores a Jersey aunque esta última es más homogénea. En promedio general, los valores de R se asemejan a los presentados por el modelo TD.

Las correlaciones entre los TD de cada tipo animal a lo largo de las 49 semanas de lactancia se presentan en las Figuras 5 (tipo Holstein) y 6 (tipo Jersey).

En general, el patrón fue el mismo para ambos tipos de animales, con correlaciones cercanas a la unidad entre semanas adyacentes; disminuyen en la medida que se incrementa la diferencia en tiempo entre dos medidas de TD. Este tipo de tendencia ya ha sido publicada en un gran número de artículos relacionados con el uso de los modelos de RA con información de TD y no se estima necesario más argumentos (Schaeffer, 2004). Según estos resultados es evidente que los mejores animales en una etapa temprana de lactancia pueden no ser los mejores al final de la misma. En otras palabras, existe interacción entre animales en diferentes puntos de la lactancia. Esta sugerencia y la

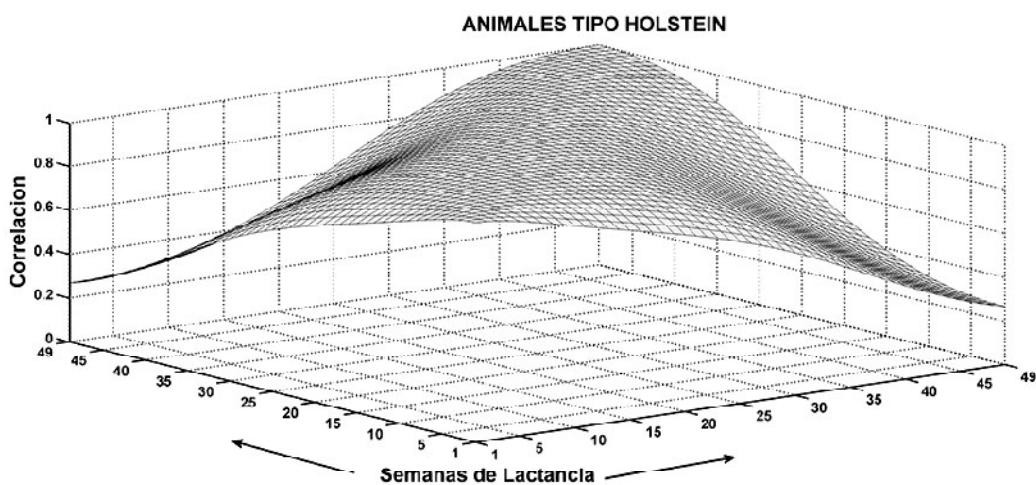


Figura 5. Correlaciones totales entre los TD de animales tipo Holstein registrados a diferentes semanas de lactancia-Modelo RA.

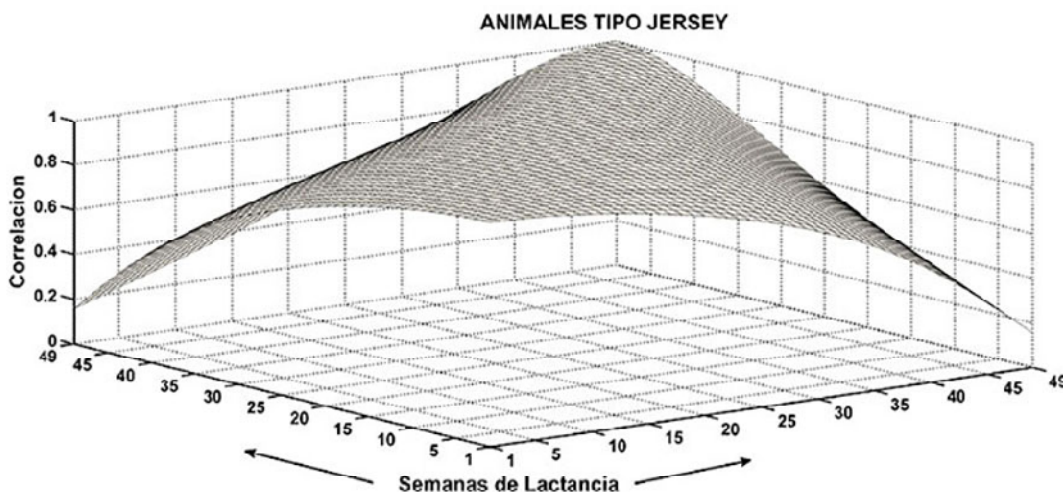


Figura 6. Correlaciones totales entre los TD de animales tipo Jersey registrados a diferentes semanas de lactancia-Modelo RA.

previa sobre el valor no homogéneo de R a lo largo de la lactancia, corroboran los puntos de vista expresados por Mrode (2005) indicados previamente.

Las matrices de coeficientes de RA fueron sometidas a un análisis de componentes principales (ACP). Los resultados se presentan en la Cuadro 2. Los dos primeros componentes principales (CP) explicaron el 96,7% de la varianza total en Holstein y 98,7% en Jersey. Por definición de ACP, el coeficiente del primer componente principal (CP1) es conocido como vector de talla, mientras que el segundo (CP2) vector de forma, ambos están incorrelacionados. Los vectores de CP1 son responsables de la mayor parte de la varianza total con 76,1% y 82,2% en Holstein y Jersey respectivamente, de manera que si se favorece la elección de animales ya que según este vector se incrementarán o decrecerán los niveles de TD en toda la trayectoria de la lactancia. Se observa que el primer coeficiente de CP1 son los de mayor efecto y están unidos al intercepto o nivel general de VPP. En ACP la diferencia de signos en los mismos (ver los coeficientes de Holstein y Jersey) no son de importancia, lo determinante es su magnitud. Por su parte, el CP2 contrasta con el primero y representa entre el 16,5% a 20,6%, magnitud nada despreciable. Los coeficientes de este vector propio señalan un mayor efecto del segundo, ligado al término lineal y que se traduce con cambios en la forma de la evolución de VPP a lo largo de la lactancia.

Según los resultados del ACP, existen posibilidades para identificar animales con diferentes curvas de lactancia. No obstante, a los efectos prácticos, las sociedades de criadores están más interesadas en la lactancia total acumulada, la cual es una función de la sumatoria de los TD en el tiempo. Este enfoque fue examinado de acuerdo a los resultados de los modelos de TD y RA siguiendo la metodología presentada en la sección Materiales y Métodos y se estimaron los VPP a 240 días de lactancia (semana 34) para cada tipo de animal y se correlacionaron los resultados de ambos modelos. Al mismo tiempo, se seleccionaron los mejores 200 animales en Holstein y 150 en Jersey y se examinó la evolución de los VPP de cada grupo de animales a lo largo de la lactancia. Los resultados se presentan en las Figuras 7 y 8.

Nuevamente los resultados fueron muy similares en Holstein y Jersey. Existe una amplia variación entre VPP lo que puede indicar un margen para un futuro trabajo de mejora. No obstante, hay que tomar en cuenta que estas son variaciones totales entre los animales. Las relaciones entre ambas estimaciones de VPP (parte superior central de las Figuras 7 y 8) fueron cercanas a 0,870, existiendo muy poco margen de cambios de orden de merito cuando se utiliza modelos TD o RA. Se puede observar que las relaciones son casi perfectas, excepto en los extremos. Si los criadores usan los mejores animales (indicados en un círculo rojo en ambas figuras) para

Cuadro 2. Coeficientes de los valores propios de las matrices de los coeficientes de regresión aleatoria en animales Holstein (4 vectores) y Jersey (3 vectores).

	Animales tipo Holstein				Animales tipo Jersey		
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP1	CP2	CP3
Intercepto	0,9867	0,1303	0,0899	0,0373	-0,9964	0,0724	0,0434
Lineal	-0,1242	0,9787	-0,1065	0,1241	0,0671	0,9912	-0,1141
Cuadrático	-0,1041	0,0477	0,9387	0,3253	0,0513	0,1108	0,9925
Cúbico	0,0133	-0,1514	-0,3154	0,9367	no	no	no
Var Explicada	76,111	20,554	3,026	0,310	82,216	16,524	1,259
% Var Acumulada		96,66	99,06	100		98,74	100

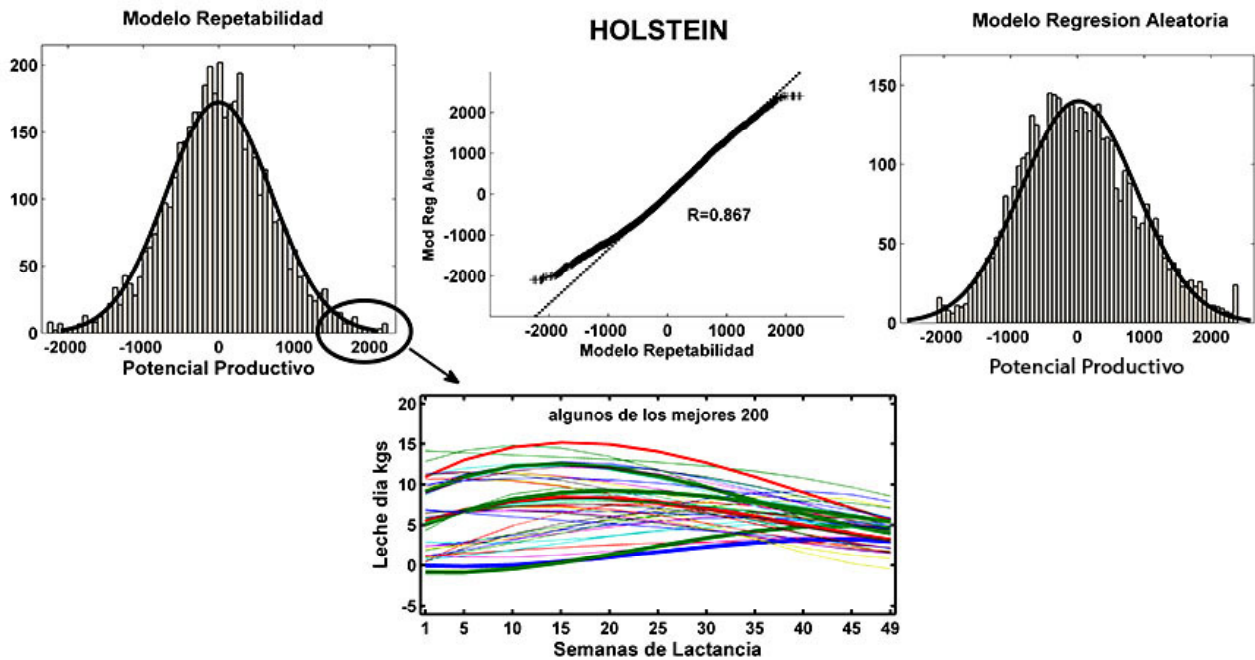


Figura 7. Distribución de frecuencia de los VPP para lactancia acumulada a 240 días de animales tipo Holstein según modelo TD y RA, correlación entre ambos y evolución de los VPP de los mismos animales en cada semana de lactancia.

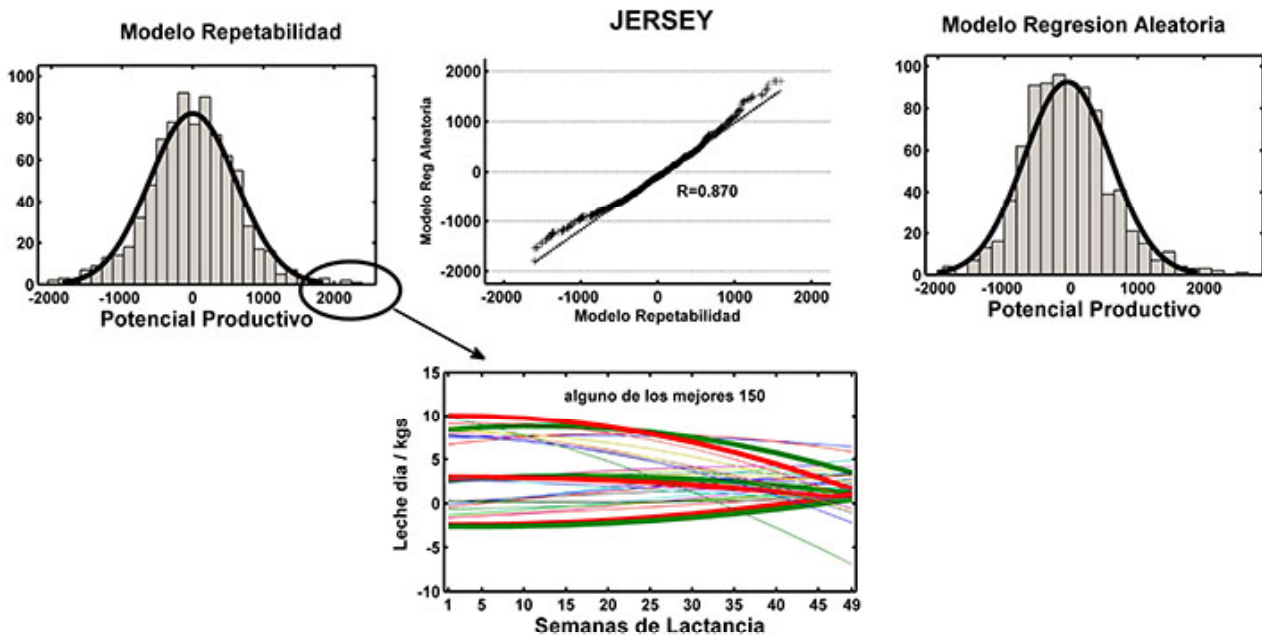


Figura 8. Distribución de frecuencia de los VPP para lactancia acumulada a 240 días de animales tipo Jersey según modelo TD y RA, correlación entre ambos y evolución de los VPP de los mismos animales en cada semana de lactancia.

reemplazo con base a producción acumulada, se pierde una información muy valiosa en la forma de la curva de lactancia (parte central inferior) que puede ser de mucha utilidad para los propósitos de mayor productividad. Estas diferentes formas de lactancia son el resultado de lo expuesto previamente en los resultados del ACP.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio son superiores al diagnóstico productivo previo realizado por la Asociación de Ganaderos de la Zona Alta de Mérida y demuestran lo acertado de los propósitos del proyecto original desarrollado por la colaboración entre el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas con varias universidades, la asociación de productores y la empresa Genética Tropical. Los animales mestizos de Holstein y Jersey manifiestan una importante variabilidad en su potencial productivo y los parámetros de repetibilidad estimados permiten, no solo identificar los mejores animales en cada finca, sino poder mostrar las diferentes formas de curva de lactancia, lo que será de utilidad para que el criador seleccione aquellos animales que se adapten mejor a su sistema. En este sentido, los modelos de Regresión Aleatoria han demostrado ser más eficientes para esos propósitos.

RECOMENDACIONES

Para desarrollar un programa de selección y mejora en la población estudiada se sugiere mayor énfasis en lo concerniente a la disponibilidad de sistemas de controles productivos así como en la información de los antecesores de cada animal. Estas acciones pueden ser alternativas viables y de bajo costo, para mejorar los niveles productivos.

LITERATURA CITADA

Chirinos, Z., O. Márquez. 2007. Parámetros genéticos para caracteres de producción de leche en vacas mestizas tropicales. Disponible en línea: http://acteon.webs.upv.es/CONGRESOS/AIDA%202007/Chirinos_et_al_.pdf [Dic. 18, 2015].

Gilmour, A. R., B. J. Gogel, B. R. Cullis and R. Thompson. 2009. ASReml User Guide Release 3.0, VSN International, Hemel Hempstead, UK.

Jamrozik, J. and Schaeffer, L. R. 1997. Estimates of genetic parameters for a test day model with random regressions for yield traits of first lactation Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 80:762-770.

Mrode, R. A., 2005. Linear models for the prediction of animal breeding values. Second edition, CABI Publishing. 344 p.

Ortega, E. L., R. W. Ward and C. O. Andrew. 2007. Technical efficiency of the Dual-Purpose Cattle System in Venezuela. *Journal of Agricultural and Applied Economics* 39(3)719-733.

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. *Revista Científica FCV-LUZ / Vol. XV, N° 2*, 141-147.

Pino, T., G. Martínez, R. Galíndez, M. Castejón y A. Tovar. 2009. Efecto del grupo racial y algunos factores no genéticos sobre la producción de leche e intervalo entre partos en vacas doble propósito. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV*, 50(2)93-104.

Ptak, E. and L. R. Schaeffer. 1993. Use of test day yields for genetic evaluation of dairy sires and cows. *Livest. Prod. Sci.* 34:23-34.

Ríos-Utrera, A., R. Calderón-Robles, J. Reyes, J. Galavíz-Rodríguez, V. Vega-Murillo and J. Lagunes-Lagunes. 2012. Genetic Analysis of Milk Yield of Holstein and Brown Swiss Cows under Intensive Grazing in Subtropical Conditions. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXII, N° 6*, 545-552.

Ríos-Utrera, A., R. Calderón-Robles, J. Reyes, V. Galavíz-Rodríguez, E. Vega-Murillo y J. Lagunes-Lagunes. 2015. Correlaciones genéticas entre días abiertos con producción de leche y peso metabólico en vacas Holstein y Pardo Suiza. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXV, N° 1*, 51 – 56.

- Rodríguez-Voigt, A. y O. Verde. 2002. Aspectos productivos y reproductivos de rebaños doble propósito en diferentes regiones agroecológicas de Venezuela. Capítulo VI. **En:** Avances de la Ganadería de Doble Propósito. González-Stagnaro, C; Madrid-Bury, N; Soto Bellos, E (eds.). Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data S.A; Maracaibo, Venezuela.
- Rodríguez, Y. y G. Martínez. 2010. Efecto de edad al primer parto, grupo racial y algunos factores ambientales en la producción de leche y el primer intervalo entre partos en vacas doble propósito. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV*, 51(2):79-91.
- Roman, R., C. J. Wilcox y F. G. Martin. 2000. Estimates of repeatability and heritability of productive and reproductive traits in a herd of Jersey cattle. *Genetics and Molecular Biology*, 23(1)113-119.
- Santellano-Estrada, E., C. M. Becerril-Pérez, Y. Mei-Chang, D. I. Gianola, G. Torres-Hernández, R. Ramírez-Valverde, J. Domínguez-Vivieros and A. Rosendo-Ponce. 2011. Characterization of lactation and genetic evaluation of tropical milking Criollo cattle using a random regression model. *Agrociencia* 45:165-175
- Segura, J. C. and M. M. Osorio. 2002. Choice of phenotypic (co)variances structure for test day records in *Bos taurus x Bos indicus* cows under a dual-purpose cattle system. *Livestock Research for Rural Development* 14 (1), Paper No 10.
- Schaeffer, L. R. 2004. Application of random regression models in animal breeding. *Livestock Production Science* 86:35-45
- Tullo, E., S. Biffani, C. Maltecca and R. Rizzi. 2014. Genetic parameters for milk yield and persistency in Carora dairy cattle breed using random regression model. *Italian Journal Animal Science* vol.13:825-829.
- Universidad Centroccidental 'Lisandro Alvarado'. LA CURVA DE LACTANCIA. Departamento de Producción e Industria Animal, Decanato de Ciencias Veterinarias, UCLA, 17 páginas. Disponible en línea: <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/Produccion/produccionleche.htm> [Dic. 18, 2015].
- Urdaneta, F. 2009. Mejoramiento de la eficiencia productiva de los sistemas de ganadería bovina de doble propósito (*taurus-indicus*). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, Vol. 17, No, 3-4, Julio-Diciembre: 109-120
- Verde, O., A. Rodríguez-Voigt, W. Berbín, M. E. Rodríguez, E. Sandoval, O. Márquez, D. Urbano, C. Dávila, P. Moreno, J. Villalobos, S. Pereira y T. Arias. 2002. Aspectos productivos y reproductivos de rebaños doble propósito en diferentes regiones agroecológicas de Venezuela. **En:** III Curso Internacional de Ganadería de Doble Propósito. XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, Valera 22 al 26 de Octubre, ULA-Trujillo, 1-12.
- Zambrano, R., H. Santos, R. Contreras, A. Moreno y Z. Chirinos. 2013. Características productivas de un rebaño mestizo bovino doble propósito comercial en Venezuela. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 3:15-19.

Lipid profile of yacarés overo meat fed with diets enriched with flax seeds

Perfil lipídico de la carne de yacarés overo alimentados con dietas enriquecidas con semillas de lino

Carlos I. Piña^{1,2,3}, Leandro Lucero⁴, Melina S. Simoncini^{*1,2}, Graciela Peterson⁵, Marcelo Tavella^{5,6}

^{1*}Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción (CICYTTP) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ²Universidad Nacional del Litoral (UNL). Ministerio de Aguas, Servicios Públicos y Medio Ambiente. ³Universidad Autónoma de Entre Ríos. Facultad de Ciencias y Tecnologías. ⁴Instituto de Agrobiotecnología del Litoral CONICET-UNL. Facultad de Ciencias Agrarias. ⁵Universidad Nacional de La Plata UNLP. Programa de Prevención del Infarto en Argentina (PROPIA). Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. ⁶Instituto de Investigaciones Bioquímicas La Plata (INIBIOLP) - UNLP - CONICET. Argentina. *Correo electrónico: melinasimoncini22@yahoo.com.ar

ABSTRACT

Diet influences fatty acid composition in meat of monogastric animals; increasing essential fatty acids in meats would improve its nutritional quality for human consumption. The objective of this research is to estimate meat lipid profile of commercial purpose raised caimans, and evaluate the effect addition of flax seed to the diet, on the meat n-3 fatty acids concentration. Caimans were randomly assigned to three treatments: Control diet (CD), control diet plus 10% whole flax seed (B), control diet plus 10% mashed flax seed (C). Diet composition affected fatty acid profiles in the meat, and differences were more evident between CD and C groups. Caiman meat presents a healthy fatty acid profile for human consumption and an ideal ratio n-6 / n-3. Addition of mashed flaxseeds to diet improves caiman meat qualities, by reducing the concentration of saturated fatty acids, and increasing concentration of oleic, and alpha-linolenic fatty acids.

Key words: *Caiman latirostris*; fatty acids; α -linolenic acid; crocodile farming.

RESUMEN

La dieta influye en la composición de los ácidos grasos de la carne de los animales monogástricos; el incremento del contenido de ácidos grasos en las carnes para consumo humano, mejoraría su calidad nutricional. El objetivo de esta investigación es estimar el perfil lipídico de la carne de caimanes cultivados con fines comerciales, y evaluar el efecto de la adición de semillas de lino a la dieta, sobre la concentración de ácidos grasos n-3 de la carne. Los caimanes fueron asignados aleatoriamente a tres tratamientos: Dieta control (DC), dieta control con 10% de semillas de lino enteras (B), dieta control con 10% de semillas de lino molidas (C). La composición de la dieta afectó los perfiles de ácidos grasos en la carne, y las diferencias fueron más evidentes entre los grupos DC y C. La carne de caimán presenta un perfil de ácidos grasos saludable para el consumo humano y una proporción ideal entre n-6 / n-3. La adición de semillas de lino molidas mejora la calidad de la carne de caimán, reduciendo la concentración de ácidos grasos saturados, e incrementando la concentración de ácidos grasos oleicos y α -linolénicos.

Palabras clave: *Caiman latirostris*; ácidos grasos; ácido α -linolénico; cría de cocodrilos.

INTRODUCTION

In the province of Santa Fe (Argentina), Proyecto Yacaré (Province government/MUPCN) has been working since 1990 in the conservation and sustainable use of the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) through ranching. Today the program is producing caiman leather for industries and meat for human consumption (Larriera and Imhof 2006; Larriera *et al.*, 2008).

In recent years, the number of publications concerning experimental diets and their influence on fatty acid composition has increased considerably. Most of them show that fatty acid deposition in the different tissues is affected by the lipid profile of food (Al-Souti *et al.*, 2012; Fernandes *et al.*, 2012). The general trend is that the most represented fatty acid in the diet, will be the more abundant in the tissues of the feed animals (Caldironi and Manes 2006; Depetris *et al.*, 2003; Maroof Bahurmiz and Wing-Keong 2007; Realini *et al.*, 2004).

In order to improve nutritional quality for humans, reducing chances to develop arteriosclerotic illness, some recent researchs have been focusing on increasing essential fatty acids in many species that are regularly consumed by humans (Justi *et al.*, 2003; Moloney *et al.*, 2012; Visentainer *et al.*, 2005). Basal fatty acid composition in crocodilians has been studied previously (Huchzermeyer 2003; Lance *et al.*, 2001; Vicente-Neto *et al.*, 2010), indicating that crocodiles tend to have levels of fatty acids that are ideal for human consumption. Because caimans are monogastric animals, there is some evidence that diet influences its meat composition. This has not been tested previously and also should depend on the species under study.

A healthy diet for humans should include low concentrations of saturated fatty acids and be rich on mono- and poli-unsaturated ones (Calañas-Continente and Bellido 2006; De Caterina *et al.*, 2006; Harris 2006). Food modification for human consumption is a valid strategy to obtain a diet that reaches such conditions, in order to improve population health (De Lorgeril *et al.*, 1999). Considering that non-communicable diseases represent the major impact to the public health of developed countries, and it is growing fast in undeveloped ones (Tavella and Peterson 2000),

and assuming it would be possible to prevent those illnesses with some changes in food. The goals of the present work are to know lipid profile of commercially-raised caimans and to evaluate if the addition of flaxseed into the diet improves n-3 fatty acids concentration in the meat. It is also evaluated if there are differences in the ability to incorporate fatty acids from flaxseeds, in the case they are mashed or whole, since crocodilians are carnivorous.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

All procedures with animals followed the ethical research standards, established by Proyecto Yacaré/SENASA. The animals were sacrificed at slaughterhouses participating in the meat production programs (approved by SENASA – establishment slaughter N°4081).

We use twenty-seven individuals about two years old of *C. latirostris*, 95cm in total length and four kg body mass in average, from three different nests (nine individuals each), provided by Proyecto Yacaré program of sustainable use. Three caimans from each nest were randomly assigned to three nutritional treatments.

Control Diet (CD) which consisted in regular food, was based in crushed chicken heads and a balanced supplement. Diet B had CD + 10% whole flaxseed, and finally, diet C had CD + 10% mashed flaxseed. For this last diet, flaxseeds were mashed just before feeding, in order to prevent oxidation. Animals received the food *ad libitum*, six times a week on a daily basis, from Monday through Saturday.

The experiment began on January 11th 2005, and finished on February 15th 2005, when the animals were sacrificed. Animals were fed the last time on February 14th. During the experiment five individuals escaped from the enclosures; due to this, a final number of 22 animals was analyzed: nine belonging to the control group (27 samples), seven to the whole flaxseed fed group (21 samples), and six to the mashed flaxseed fed group (18 samples). From each carcass two meat samples from arms (*M. Tricipitis branchii*), legs (*M. Quadriceps femoris*) and tail (*M. Ilioischio-caudalis*) were taken for the chemical analysis 24h post-mortem. Macroscopic fat was

removed previously to analyze the fatty acid composition of meat. Samples were covered with polypropylene film and aluminum foil, frozen and stored at -18°C until their analysis. Each meat sample was crushed, thus producing a homogeneous mass before chemical analysis.

Chemical analysis

The chemical analysis consisted of the determination of fatty acids composition using a gas-liquid chromatography technique. All solvents and reagents were of analytical grade and 99% purity standards of fatty acid methyl esters were purchased from NuCheck Prep, Inc (Minnesota, USA). Total lipids were extracted with chloroform: methanol (2:1 v/v) using Folch's technique (Folch *et al.*, 1957), then, a partition was made with the 20% v/v water of the resulting extract, which was completely dried in a N_2 current.

In a second step, cholesterol and other non saponifiable compounds were separated by saponification by 10% KOH/methanol for 45 minutes. The remnant of the saponification process was acidified with concentrated HCl and free fatty acids were extracted three times with petroleum ether and, after vaporizing until dry. This free fatty acid were transformed into methyl esters by using 10% BF_3 /methanol at 80°C for 45 minutes. A nitrogen atmosphere was kept during the entire procedure. Methyl esters were extracted with hexane and analyzed using a Hewlett-Packard 6890 gas chromatography instrument. The fatty acid composition was obtained with a 50m capillary column (0.25mm inside diameter, CPSil 88, Chrompack, The Netherlands). Retention times of each of the fatty acids were compared to those of commercial standards. Chromatographic conditions were as follows: injection temperature - 250°C , flame ionization detector (FID) temperature - 250°C , initial temperature - 185°C , initial time - 3 min, final temperature - 230°C , rate - $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$, with nitrogen as carrying gas, pressure of 19 psi and a split ratio of 70/1. Gas-liquid chromatography (GLC) peak areas for methyl esters were not corrected for losses of procedure and response to the detector of flame ionization, and were considered as directly proportional to the percentages in weight.

Statistical analyses

Data were analyzed using Kruskal Wallis. The grouping variable was food treatment and the response variable was fatty acid concentration, expressed as g% of total fatty acid present in the sample. On the data base, each value was the average of two measurements. Statistical analyses were done using InfoStat (2017) for Windows.

RESULTS AND DISCUSSION

All the animals increased their body masses during the experiment. However, individuals from the three treatments had similar body masses at the end ($4.4 \pm 0.8\text{kg}$ control, $3.9 \pm 0.5\text{kg}$ whole flaxseeds, and $3.4 \pm 0.9\text{kg}$ mashed flaxseeds; $P > 0.05$). Fatty acids composition of food affected fatty acid profiles of caiman meat (Table 1), being more evident differences between control and mashed flaxseeds group. Diets with masched flaxseeds reduced SFA contents, and increased the unsaturated fatty acids contents ($P < 0.05$); differences were found in saturated fatty acids (SFA), 16:1 n-7 (palmitoleic acid), 18:1 n-9 (oleic acid), and 18:3 n-3 (alpha linolenic acid).

Previous studies made in caiman *latirostris* fed with beef (Secretary of agriculture, livestock, fishing and food, 2007), showed 41.4% of SFA in meat. Results of the present work show lower concentrations of SFA, considering regular food ($35.71 \pm 1.39\%$), and reduced SFA contents with the addition of mashed flaxseed diet ($30.70 \pm 1.35\%$). Yacare caiman meat presented similar values of SFA than those of our control treatment (35.1% Vicente-Neto *et al.*, 2010), but higher than meat from animals fed by a diet including mashed flaxseed. Caiman meat showed lower concentrations of SFA than beef and pork, but higher than chicken or freshwater fish pirá-pitá (*Brycon orbignyanus*, Table 2). Addition of mashed flaxseeds improved SFA quality in caimans, making it equal to chicken meat. Low concentration of SFA is an advantage for caiman meat consumers, since SFA have a negative impact in human health (Mensink and Katan 1992).

Concentrations of 18:1 trans fatty acid in beef, pork and chicken determined in other studies were higher than values found in *C. latirostris* in this work. On the other hand, in *B. orbignyanus*,

Table 1. Fatty acids profile in Caiman latirostris meat fed with diets enriched with flax seed

Fatty acids	(Control diet) (n=27)	B diet (n=21)	C diet (n=18)	Differences
SFA	35.71 ± 1.39	32.21±0.45	30.70±1.35	P=0.0429
18:1 trans	0.75 ± 0.05	0.91±0.07	0.92±0.05	P=0.0290
16:1 n-7	1.71 ± 0.12	2.21±0.27	2.38±0.24	P=0.0322
18:1 n-9	23.68 ± 0.89	26.31±0.92	27.75±1.08	P=0.0124
Total n-6	29.96 ± 1.09	31.69±0.97	32.15±0.81	None
18:2 n-6	23.21 ±0.73	25.26±0.53	26.19±0.94	None
20:4 n-6	6.75±0.53	6.42±0.71	5.96±0.60	None
Total n-3	6.62±0.36	5.97±0.38	6.19±0.38	None
18:3 n-3	1.45±0.14	1.56±0.06	2.17±0.10	P=0.0001
20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3	5.17±0.39	4.46±0.41	4.02±0.42	None
n-6/n-3	4.69±0.16	6.10±0.76	5.69±0.60	None

SFA= Saturated Fatty Acids. Results are expressed as mean ± S.E. Differences are significant when P values are less 0.05 for diet treatment.

this fatty acid was not detected (Table 2). Excluding, pirá-pitá meat, concentrations of 18:1 trans fatty acid found in caimans were lower than half of the value found in pork, and almost ten times lower than those found in beef.

Similarly, contents of 18:1 n-9 cis fatty acid (oleic acid) in caiman meat were lower than in other meats used for comparison (Table 2), but were similar to *C. yacare* (Vicente-Neto *et al.*, 2010). Addition of flaxseed increased oleic acid concentration from 23.7 ± 0.89 to 27.75% ± 1.08. This could influence health of consumers, since consumption of this acid reduces cholesterol in blood, thus reducing ischemic origin coronary illness frequency (Dilzer and Park 2012; Erener *et al.*, 2007; Molendi-Coste *et al.*, 2011).

Concentrations of n-6 fatty acids (linoleic 18:2 n-6 + arachidonic 20:4 n-6) in caiman meat were higher than all values appearing for animal meats used for human consumption (Table 2), including *C. yacare* (24% Vicente-Neto *et al.*, 2010). As shown in trans fatty acids, variations in diet did not change n-6 fatty acids concentration. Comparatively, in caimans fed with the control diet, concentrations of linoleic acid were higher than in the other meats (Table

2). This is a beneficial aspect for consumers, since it is an essential fatty acid and there is lot of evidence of its blood cholesterol reducing effects (Phillipson *et al.*, 1985). Diets enriched with flaxseeds produced a significant increment in the concentration of this fatty acids, improving its beneficial effects (Mapiye *et al.*, 2013; Morel *et al.*, 2013), and results showed that even higher levels were obtained with mashed flaxseeds diet, suggesting that the crushing of the seeds facilitate its absorption and assimilation.

Fatty acids of the n-3 family (represented by alpha linolenic acid (18:3 n-3) + eicosapentaenoic acid 20:5 n-3 (EPA) + docosapentaenoic acid 22:5 n-3 (DPA) + docosahexaenoic acid 22:6 n-3 (DHA)) in the intramuscular caiman meat, were two to almost ten times higher than in the other species (Table 2). In this study, caimans fed with the control diet showed a concentration of alpha linolenic acid (18:3 n-3) higher than in the other meat products (Table 2). Animals fed on the diet with mashed flaxseed presented a higher concentration of alpha-linolenic acid than caimans fed on the other diets (Table 1). The increase of this fatty acid in caiman meat can be explained by the fact that flaxseeds have high

Table 2. Comparison between fatty acid profiles found in *Caiman latirostris* meat (control diet) and other meat of local human consumption.

Fatty acids	Caiman meat (Control diet)	Beef fat (*)	Pork fat(*)	Chicken fat(*)	Pira-pitá meat(**)
SFA	35.71±1.39	49.2±1.97	36.1±1.05	29.1±0.79	33.73±0.24
18:1 trans	0.75± 0.05	6.87±0.39	1.62±0.17	2.18±0.68	ND
16:1 n-7	1.71±0.12	3.18±0.39	2.81±0.17	6.02±0.46	3.5±0.09
18:1 n-9	23.68±0.89	32.08±1.66	40.73±0.55	36.37±0.96	39.74±0.28
Total n-6	29.96±1.09	2.9±0.49	14±0.45	21.5±1.36	15.46±0.12
18:2 n-6	23.21±0.73	2.4±0.34	13±0.4	20.4±1.44	13.77±0.46
20:4 n-6	6.75±0.53	0.40±0.13	0.35±0.08	0.49±0.12	1.06±0.03
Total n-3	6.62±0.36	1.2±0.23	0.71±0.08	1.4±0.23	2.42±0.01
18:3 n-3	1.45±0.14	0.81±0.12	0.56±0.02	1.23±0.22	1.02±0.02
20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3	5.17±0.39	0.39±0.09	0.09±0.01	0.12±0.02	1.28±0.07
n-6/n-3	4.69±0.16	2.36 (2.86/1.21)	19.70 (13.99/0.71)	15.79 (21.48/1.36)	6.38±0.07

SFA= Saturated Fatty Acids. Results are expressed as mean ± S.E. Fatty acid composition of each lipid class is expressed as percentage of the total fatty acid present. ND: No detected.

(*) Baylin *et al.* 2007. (**) Moreira *et al.* 2001

contents of alpha-linolenic acid (about 50 – 60% Ayerza and Coates 2011; Taha *et al.*, 2012).

In humans, consumption of high levels of alpha-linolenic acid, such as in “Mediterranean diet”, produces reduction in 50 to 70% of cardiovascular risk, and maintains protective effects up to four years after suffering the first heart attack (De Lorgeril *et al.*, 1999; Calañas-Continente and Bellido 2006; Urpi-Sarda *et al.*, 2012). Alpha-linolenic acid also serves as the precursor of other long chain acids of n-3 series such as DHA and EPA (Simopoulos 1991; Orton *et al.*, 2008; Molendi-Coste *et al.*, 2011), which are also beneficial for human health.

Long chain n-3 fatty acids (20:5 n-3 (EPA) + 22:5 n-3 (DPA) +22:6 n-3 (DHA)) concentrations in caiman meat, were approximately four times higher than the concentrations found in other meats (Table 2). The origin of these fatty acids is probably neural tissues contained in the chicken mashed heads, basis in the diet of this animal (Surai and Sparks 2000). EPA and DHA were associated with benefits such as prevention of cardiovascular illness (Calañas-Continente and Bellido 2006; Jensen *et al.*, 2007), some types of cancer (Trombetta *et al.*, 2007), and

in development of visual and nervous tissue in children (Jensen *et al.*, 2007). Apparently DHA is important for mental development and general health (Shirai *et al.*, 2004; Orton *et al.*, 2008).

Caimans did not increase total n-3 fatty acids when mashed flaxseeds were added to the diet, in comparison to whole grain feed fed animals. This could be the result of a reduced ability to synthesize polyunsaturated fatty acids using alpha-linolenic acid as a precursor. Many researchers have mentioned that the n-6 / n-3 ratio should be around five (Moreira *et al.*, 2001; Coronado Herrera *et al.*, 2006). This was approximately the value found in caiman meat (4.69 ± 0.16). Freshwater fish (pirá-pitá) contains similar values of 6.4 ± 0.07 (15.5 / 2.4; Moreira *et al.*, 2001), but beef [2.4 (2.9 / 1.2)], chicken [15.8 (21.5 / 1.4)] and pork [19.7 (14 / 0.7)] have extreme values of this ratio (Baylin *et al.*, 2007). Wild caiman (*C. yacare*) meat had values of 6.4, but those from captivity had a higher ratio (10.9; Vicente-Neto *et al.*, 2010), indicating that caiman, in general, tend to produce a balanced relation between n-6 / n-3 fatty acids, but some diets in captivity could modify that ratio (Al-Souti *et al.*, 2012).

Caiman meat (as other crocodylians) is a product that is increasing in acceptance in the world food market. Currently there is a proper supply of meat from many management plans from Argentina, Bolivia, Brazil and USA in the Americas. Added to its palatability, it exhibits other nutritional benefits when compared to other meat products found in the market (soft water fish, beef, chicken, and pork). Considering all the results of this research, the improvement of benefits for human health in caimans meat, obtained with the addition of mashed flaxseed in diet should be noted. There is also a commercial exploitation of wild crocodylian in some countries such as Australia and United States of America. That meat is in some way attractive for the market because it is game meat, but also should present a higher proportion of poly-unsaturated fatty acids (PUFA, about 6%) compared to captive animals (Vicente-Neto *et al.*, 2010).

Caiman meat presents a healthy fatty acid profile for human consumption. It is characterized by low saturated fatty acid content and high levels of unsaturated fatty acids, including essential fatty acids such as linoleic (18:2 n-6) alpha-linolenic (18:3 n-3), and respective derivatives: ARA-arachidonic acid of n-6 family, EPA and DHA of the n-3 family. Caiman meat also presents an ideal relationship between n-6 / n-3. Fatty acid profile observed in caiman, is as good quality meat, compared to other products of regular human consumption (pirá-pitá, fish, chicken, beef, or pork).

Addition of mashed flaxseeds during a short time, like one month to the regular diet, improves the qualities of caiman meat, by reducing concentration of saturated fatty acids, and increasing concentration of oleic, and alpha-linolenic acids.

ACKNOWLEDGMENT

We thank all the crew of Proyecto Yacaré who helped during the experiment. Daniel Aguilar helped with the interpretation of results, and Mark Merchant helped with English revision and comments on the manuscript. This is the contribution #88 from Proyecto Yacaré. This study was partially supported by PFIP 2008, PICT 2014 N 2212 and PICT 2014 N 2138, PROPIA, and Proyecto Yacaré (Min. Prod./MUPCN), Santa Fe, Argentina.

REFERENCE

- Al-Souti, A., J. Al-Sabahi, B. Soussi and S. Goddard. 2012. The effects of fish oil-enriched diets on growth, feed conversion and fatty acid content of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. *Food Chem.* 133:723-727.
- Ayerza, R. and W. Coates. 2011. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Ind. Crop. Prod.* 34:1366-1371.
- Baylin, A., X. Siles, A. Donovan-Palmer, X. Fernández and H. Campos. 2007. Fatty acid composition of Costa Rica foods including trans fatty acid content. *J. Food Compos. Anal.* 20:182-192.
- Calañas-Continente, A. J. y D. Bellido. 2006. Bases científicas de una alimentación saludable. *Rev. Med. Univ. Navarra* 50:7-14.
- Caldironi, H. A. and M. E. Manes. 2006. Proximate composition, fatty acids and cholesterol content of meat cuts from tegu lizard *Tupinambis merianae* J. *Food Comp. Anal.* 19:711-714.
- Coronado Herrera, M., S. R. Vega, Y. León, B. Gutiérrez Tolentino y G. Díaz González. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: Nutrición, Bioquímica y Salud. *Rev.* 25:72-79.
- De Caterina, R., A. Zampolli, S. Del Turco, R. Madonna and M. Massaro. 2006. Nutritional mechanisms that influence cardiovascular disease. *J. Clin. Nutr.* 83:421-427.
- De Lorgeril, M., P. Salen, J. L. Martin, I. Monjaud, J. Delaye and N. Mamelle. 1999. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction, Final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 99:779-785.
- Depetris, G. J., F. J. Santini, E. Pavan, E. L. Villarreal, D. H. Rearte y N. A. Pensel. 2003. Efecto del grano de maíz alto en aceite en el sistema de engorde a corral: 3- Perfil de ácidos grasos de la carne. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 23:60-61.
- Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, C. y W. Robledo.

2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Grupo InfoStat FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en línea: <http://www.infosat.com.ar> [Abr. 22, 2016].
- Dilzer, A. and Y. Park. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Crit. Rev. Food Sci.* 52:488-513.
- Erener, G., N. Ocak and A. V. Garipoglu. 2007. The influence of dietary hazelnut kernel oil on the performance and fatty acid composition of broilers. *J. Sci. Food Agr.* 87:689-693.
- Fernández, T. J. R., R. C. Alves, T. Souza, J. M. G. Silva, M. Castro-Cunha, L. M. P. Valente and M. B. P. P. Oliveira. 2012. Lipid content and fatty acid profile of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles as affected by feed containing different amounts of plant protein sources. *Food Chem.* 134:1337-1342.
- Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
- Harris, W. S. 2006. The omega-6/omega-3 ratio and cardiovascular disease risk: uses and abuses. *Curr. Atheroscler. Rep.* 8:453-459.
- Huchzermeyer, F. W. 2003. Crocodiles: Biology, Husbandry and Diseases. CABI Publishing, Wallingford.
- Jensen, K. N., C. Jacobsen and H. H. Nielsen. 2007. Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.) influence of time and place of catch on n-3 PUFA content. *J. Sci. Food Agr.* 87:710-718.
- Justi, K. C., C. Hayashi, J. V. Visentainer, N. E. Souza and M. Matsushita. 2003. The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. *Food Chem.* 80:489-493.
- Lance, V. A., S. A. Morici, R. M. Elsey, E. D. Lund and A. R. Place. 2001. Hyperlipidemia and reproductive failure in captive-reared alligators: vitamin E, vitamin A, plasma lipids, fatty acids, and steroid hormones. *Comp. Biochem. and Phys. part B.* 128:285-294.
- Larriera, A. y A. Imhof. 2006. Proyecto Yacaré. Cosecha de huevos para la cría en granjas del género *Caiman* en la Argentina. In: M. L. Bolkovic y D. Ramadori (Eds.) Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable, Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. Buenos Aires, Argentina. pp. 51-64.
- Larriera, A., A. Imhof y P. Siroski. 2008. Estado actual de los programas de conservación y manejo del género *Caiman* en Argentina. In: J. Castroviejo, J. Ayarzagüena y A. Velasco (Eds.). Contribución al Conocimiento del género *Caiman* de Sudamérica, Publicación Asociación Amigos de Doñana 18. Sevilla, España. pp. 141-180.
- Mapiye, C., J. L. Aalhus, T. D. Turner, D. C. Rolland, J. A. Basarab, V. S. Baron, T. A. McAllister, H. C. Block, B. Uttaro, O. Lopez-Campos, S. D. Proctor and M. E. R. Dugan. 2013. Effects of feeding flaxseed or sunflower-seed in high-forage diets on beef production, quality and fatty acid composition. *Meat Sci.* 95:98-109.
- Maroof, Bahurmiz, O. and N. Wing-Keong. 2007. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.*, raised from stocking to marketable size. *Aquaculture* 262:382-392.
- Mensink, R. P. and M. B. Katan. 1992. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta- analysis of 27 trials. *Arterioscl. Throm.Vas. Biol.* 12:911-919.
- Molendi-Coste, V., I. Legry and A. Leclercq. 2011. Why and how meet n-3 PUFA dietary recommendations? *Gastroenterol. Res. Pract.* 2011:1-11.
- Maloney, A. P., C. Kennedy, F. Noci, F. J. Monahan and J. P. Kerry. 2012. Lipid and colour stability of *M. longissimus* muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. *Meat Sci.* 92:1-7.
- Moreira, A. B., J. V. Visentainer, N. E. Souza and M. Matsushita. 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of three brazilian

- Brycon* freshwater fishes. J. Food Compos. Anal. 14:565-574.
- Morel, P. C. H., J. Leong, W. G. M. Nuijten, R. W. Purchas and B. H. P. Wilkinson. 2013. Effect of lipid type on growth performance, meat quality and the content of long chain n-3 fatty acids in pork meat. Meat Sci. 95:151-159.
- Orton, H. D., N. J. Szabo, M. Clare-Salzler and J. M. Norris. 2008. Comparison between omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid intakes as assessed by a food frequency questionnaire and erythrocyte membrane fatty acid composition in young children. Eur. J. Clin. Nutr. 62:733-738.
- Phillipson, B. E., W. E. Connor, W. S. Harris and D. R. Illingworth. 1985. Reduction of plasma lipids, lipoproteins, and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. New Engl. J. Med. 312:1210-1216.
- Realini, C. E., S. K. Duckett, G. W. Brito, M. Dalla Rizza and D. De Mattos. 2004. Effects of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of uruguayan beef. Meat Sci. 66:567-577.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. 2007. Análisis de producciones animales alternativas con potencial de desarrollo inmediato y mediato en la República Argentina. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Buenos Aires, Argentina.
- Shirai, N., H. Suzuki and R. Shimizu. 2004. Effect of rabu sea snake *Laticauda semifasciata* oil intake on maze-learning ability in mice. Fisheries Sci. 70:314-318.
- Simopoulos, A. P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 54:(03)438-63.
- Surai, P. F. and N. H. C. Sparks. 2000. Tissue-specific fatty acid and alpha-tocopherol profiles in male chickens depending on dietary tuna oil and vitamin E provision. Poultry Sci. 79:1132-1142.
- Taha, A. Y., A. H. Metherel and K. D. Stark. 2012. Comparative analysis of standardized and common modifications of methods for lipid extraction for the determination of fatty acids. Food Chem. 134:427-433.
- Tavella, M. y G. Peterson. 2000. El Aceite de Girasol de Alto Oleico y la Prevención de la Aterosclerosis. Convenio DowAgro Sciences Argentina y la Universidad de La Plata, La Plata, Argentina.
- Trombetta, A., M. Maggiora, G. Martinasso, P. Cotogni, R. A. Canuto and G. Muzio, G. 2007. Arachidonic and docosahexaenoic acids reduce the growth of A549 human lung-tumor cells increasing lipid peroxidation and PPARs. Chem-Biol. Interact. 165:239-250.
- Urpi-Sarda, M., R. Casas, G. Chiva-Blanch, E. S. Romero-Mamani, P. Valderas-Martínez, S. Arranz, C. Andres-Lacueva, R. Llorach, A. Medina-Remón, R. M. Lamuela-Raventos and R. Estruch. 2012. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. Pharmacol. Res. 65:577-583.
- Vicente-Neto, J., M. C. Bressan, P. Bitencourt Faria, J. Oliveira e Vieira, M. das G. Cardoso, M. B. de Abreu Glória and L. Telo da Gama. 2010. Fatty acid profiles in meat from *Caiman yacare* (*Caiman crocodilus yacare*) raised in the wild or in captivity. Meat Sci. 85:752-758.
- Visentainer, J. V., N. E. de Souza, M. Makoto, C. Hayashi and M. R. B. Franco. 2005. Influence of diets enriched with flaxseed oil on the α -linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Food Chem. 90:557-560.

Calidad bacteriológica y pH del agua en una unidad de producción porcina ubicada en el Rincón de Monagas, estado Monagas, Venezuela

Bacteriological quality and pH of water in a swine production unit located on the Rincón de Monagas, state Monagas, Venezuela

Magalys Rivas-Nichorzon^{1*}, Mayra Alfaro-Escalona², Ramón Silva-Acuña³, Ely Gómez-Piñeres¹

Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Escuela de Zootecnia, ¹Departamento de Biología y Sanidad Animal, *Correo electrónico: mrivas@udo.edu.ve. ²Departamento de Producción e Industrial Animal, ³Programa de Maestría de Agricultura Tropical. Maturín, estado Monagas.

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la calidad bacteriológica y pH del agua en una unidad de producción porcina ubicada en el Rincón de Monagas, municipio Maturín, estado Monagas, se procedió a la recolección de muestras de agua provenientes tanto del pozo perforado como de los bebederos de las diferentes áreas de producción de la granja. Luego se cuantificaron aerobios mesófilos, coliformes totales, fecales, *E. coli* y se determinó la presencia de *Pseudomona* ssp. El agua del pozo profundo no presentó contaminación microbiana de coliformes totales, fecales ni *E. coli*; sin embargo, el pH medido se encontró por debajo de los límites permisibles. Los contajes de estos grupos microbianos se encontraron elevados en el agua de los bebederos ubicados en las diferentes áreas de producción, evidenciando el incremento de los microorganismos durante el recorrido del agua a través de las tuberías y bebederos. No se evidenció la presencia de *Pseudomona* ssp. en el agua de la unidad de producción porcina. No obstante, es necesario el control microbiológico cada seis meses del agua para consumo de los cerdos y así tomar medidas correctivas que permitan disminuir los grupos microbianos que tienen impacto sobre los parámetros zootécnicos.

Palabras clave: Calidad del agua, microbiología, bacterias, coliformes, granja.

ABSTRACT

With the objective in evaluating chemical and bacteriological quality of water in a pig production unit, located on El rincón de Monagas, municipality of Maturín, Monagas state, Venezuela, we proceeded to collect water samples from both, the well drilled and the drinking troughs from different production areas of the farm. After that, we quantified aerobic mesophiles, total coliforms, fecal *E. coli* and the presence of *Pseudomonas* sp. Deep well water did not provide microbial contamination: total coliforms, fecal coliforms and *E. coli*; however, the pH was below allowable limits. Microbiological analysis of water, in different production areas, gave elevated counts of the mentioned microbial groups, and they increase in the tour of the pipeline and ready pig drinkers. There was no presence of *Pseudomonas* sp. in water of the pig production unit. Microbiological monitoring every six months, and corrective actions to reduce microbial groups that impact zootechnical parameters, are very necessary.

Key words: Water quality, microbiology, bacteria, coliforms, farm.

INTRODUCCIÓN

La calidad del agua es un componente importante en la producción porcina así como, la genética y la reproducción o sanidad de los animales, debido a que el agua sirve como agente transmisor de patógenos implicados en diarreas, metritis, abortos naturales y abscesos; además de afectar la ganancia de peso y conversión alimenticia, es necesario la importancia de verificar su inocuidad y realizar su control rutinario cada seis meses para constatar los niveles de bacterias totales, coliformes totales, fecales y propiedades fisicoquímicas (Pinelli *et al.*, 2004; ICA, 2011).

Los criterios de calidad dependen fundamentalmente del uso que se le vaya a dar, ya sea para el consumo humano, para actividades agropecuarias, de recreación, para procesos industriales, para disposición en fuentes de agua o como receptor de líquidos residuales (Guevara, 1996; Decreto N° 883, 1995). El agua apta para el consumo puede verse afectada cuando ocurre contaminación microbiológica o química del sistema de distribución, de depósitos de almacenamiento e interconexiones, así como su manipulación y vandalismo. Desde el punto de vista microbiológico el agua contaminada representa un gran riesgo al consumidor, los excrementos humanos o animales pueden ser fuente de patógenos como bacterias, virus, protozoos y helmintos (OMS, 2006).

El diagnóstico de estos microorganismos, requiere estudios de laboratorios especializados y representa varios días de análisis a costos elevados. Como alternativa a estos inconvenientes, se ha propuesto el uso de indicadores microbianos que puedan ser identificados mediante el empleo de métodos sencillos, rápidos y económicos (Arcos *et al.*, 2005). Los principales indicadores para la evaluación de la calidad bacteriológica del agua son los coliformes fecales, organismos provenientes de las heces de los animales de sangre caliente (Henry y Heinke, 1999). De estos coliformes, los de mayor interés son la *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*, las cuales son capaces de crecer a temperaturas elevadas, entre 44,5 a 45 °C (Frazier y Westoff, 1993).

Otro microorganismo de interés es el denominado *Pseudomonas*, el cual es un patógeno oportunista; su presencia en aguas

de consumo puede estar ligada al uso de ciertos materiales no metálicos que favorece su crecimiento en el interior de las conducciones de agua potable (Marín, 2003). Esta bacteria es causante de un amplio rango de infecciones (Valiente y González, 2003). En las cerdas esta bacteria se ha identificado como agente etiológico de las descargas vulvares (Gómez *et al.*, 2011).

Lo descrito en párrafos anteriores, orienta el foco de atención hacia el estudio de los parámetros de calidad bacteriológica del agua destinada al consumo de los animales en granjas porcinas. En este sentido, Quiles y Hevia (2003) señalan que debe ser lo más cercana a cero debido al gran impacto que estos grupos microbianos tienen sobre los parámetros zootécnicos. Kopp *et al.* (2015) evaluaron la calidad del agua para consumo de los cerdos en cinco granjas de producción, evidenciando altos valores de coliformes totales, incluso *Escherichia coli*. No obstante, aún persiste la baja disponibilidad de información que permita conocer los parámetros de calidad del agua utilizada para el consumo de los animales, y la utilizada para las labores de limpieza que se realizan en las granjas porcinas.

Basado en lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la calidad bacteriológica y pH del agua en una unidad de producción porcina, ubicada en el municipio Maturín, estado Monagas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

La presente investigación se ejecutó durante el periodo comprendido entre los meses de febrero y marzo de 2014 en una unidad de producción porcina ubicada en el Rincón de Monagas, municipio Maturín estado Monagas. Localizada geográficamente en las coordenadas 9° 41' de LN y 63° 04' de LO, con altitud de 16 m.s.n.m, temperatura media anual de 26 °C y 87% de humedad relativa. Dentro de la zona de vida se describe como mesa llana; la finca cuenta con animales de mestizaje Landrace, Yorkshire y Pietrain.

Recolección de las muestras de agua

Las muestras de agua fueron obtenidas de los siguientes puntos: 1. Salida del pozo

profundo, 2. Superficie del tanque elevado que surte a las áreas de maternidad, iniciación, crecimiento y engorde. Del mismo modo se obtuvieron muestras de agua de la salida de los bebederos tipo chupón de las siguientes áreas de producción: 1. Maternidad; 2. Lechones lactantes; 3. Cerdos en iniciación; 4. Cerdos en crecimiento-engorde y 5. Cerdos reproductores (hembras gestantes y verracos).

Se recolectaron tres muestras de agua en botellas de vidrio estériles con capacidad de 150 mL en cada punto, para los análisis microbiológicos y pH. El traslado de las muestras, se realizó en cavas portátiles con hielo, para su posterior procesamiento en el laboratorio, en un lapso de tiempo que no superó las 6 horas desde la toma de muestra, con el fin de evitar que la población real de bacterias presentes se alterara (COVENIN, 1994).

Determinación pH y pruebas microbiológicas

El pH fue medido por triplicado con ayuda de un potenciómetro. Para las pruebas microbiológicas se prepararon las muestras de acuerdo a lo descrito en la norma (COVENIN, 1989), cuyo procedimiento brevemente se describe: de la muestra de agua pura se trasvaso 1mL a un tubo con 9mL de agua peptonada al 0,1%, de esta manera se obtuvo la dilución 1:10. El procedimiento se repitió a partir de esta dilución, para preparar las diluciones 1:100 y 1:1000 respectivamente. Se obtuvo entonces, la muestra pura y tres diluciones de ella: 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} .

Para el recuento de colonias de bacterias aerobias mesófilas en placas de Petri, se colocó 1mL de cada dilución en cajas de Petri por triplicado. Se añadió 15mL de agar nutritivo y se incubaron a $32\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 24 - 48 horas, los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL, COVENIN, 1987).

Seguidamente, para la determinación de coliformes totales, fecales, y *E. coli*; se realizó en primer lugar una prueba presuntiva, la cual consistió en la inoculación de 1mL de la muestras así como, de sus diluciones en tres tubos con caldo lauril sulfato triptosa, se sometió a incubación a $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 24h, y se verificó la positividad por presencia de gas y turbidez. A

partir de los tubos positivos, se realizó la prueba confirmatoria la cual consistió en transferir una asada a tubos con Caldo lactosa bilis verde brillante (CLBVB), se incubó a $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 24 - 48h. De los tubos positivos CLBVB, se sembró una asada en caldo para enriquecimiento de coliformes (EC), se incubaron a $45\text{ °C} \pm 0,2\text{ °C}$ durante 24h. Por último, se determinó *Escherichia coli* aislando de los tubos positivos de EC una asada en placas con agar Levine (EMB), se incubó por $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ por 24 - 48h, y de las colonias características se le realizaron las pruebas IMViC. Los resultados se expresaron en Número más Probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* por mililitro de agua (COVENIN, 1996).

La determinación de *Pseudomona* ssp., se realizó mediante el método a profundidad, con agar Cetrimide, incubación a 35 °C durante 24 - 48h. La positividad de la prueba se verificó por el crecimiento de colonias en el medio, evidenciadas por la emisión de fluorescencia en presencia de luz UV (APHA, 1995).

Diseño del experimento y análisis estadístico

El diseño utilizado fue el completamente al azar, conformado por siete tratamientos, cada uno de ellos estuvo representado por los diferentes puntos de la toma de muestras, con tres repeticiones. La determinación de *Pseudomona* ssp., se realizó través de un análisis cualitativo por la confirmación de la presencia de las colonias características fluorescentes. Las variables correspondientes a bacterias aerobias mesófilas, pH, coliformes totales, fecales y *E. coli* fueron examinadas por análisis de varianza y los valores promedios comparados por la prueba de Tukey a 5% de probabilidad, mediante el uso del paquete estadístico Info Stat versión 2017 (Di Renzio *et al.*, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$) para las variables bacterias aerobias mesófilas y pH. En el Cuadro 1, se muestra el contenido de bacterias aerobias mesófilas (BAM) en los diferentes tratamientos; el mayor promedio se obtuvo en el agua proveniente de los bebederos del área de maternidad, comparado con el resto de los

tratamientos. No se observaron diferencias significativas en el contenido de BAM entre los tratamientos correspondientes al área de lechones lactantes, iniciación, crecimiento, engorde y tanque elevado. Finalmente, el menor valor correspondió para el agua del pozo profundo, el cual surte a toda la unidad de producción con 2,67 UFC/mL de agua.

A pesar de que el agua del pozo profundo contiene bajos recuentos de BAM, estos resultados sugieren que durante el recorrido del agua por las tuberías y bebederos de las diferentes instalaciones de la granja, se produjo un posible contacto con agentes contaminantes, lo que incrementó estas poblaciones bacterianas. Al respecto, Bontempo y Savoini (2011) indicaron que realizar el control de la calidad microbiológica únicamente en la fuente de agua no es suficiente, por lo que también debe efectuarse este control en los diferentes puntos del circuito del agua potable. El agua resultó ser de alta calidad en la fuente pero no a lo largo de la tubería quizás por la contaminación microbiana existente en los chupetes de los bebederos.

Situación similar fue reportada por Aldás (2004) en una investigación en la que se analizó el agua de una unidad porcina. En esta unidad, se detectaron rangos entre 10 a 55 UFC/mL de agua. En secciones como la cisterna y el galpón de cría-engorde los rangos se ubicaron entre 36

- 46 y 210 - 245 UFC/mL respectivamente, lo que indica la contaminación del agua por aerobios mesófilos durante su recorrido desde la cisterna hasta los lugares de consumo.

En cuanto al pH, se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el agua proveniente del área de maternidad y el agua procedente del pozo profundo, con valores de 6,52 y 6,15 respectivamente (Cuadro 1). A excepción del agua proveniente de los bebederos del área de maternidad, los promedios obtenidos en esta investigación se encuentran por debajo de los límites establecidos por la norma 1431 (COVENIN, 1982) para agua potable, la cual establece un rango entre 6,5 - 8,5.

Se ha reportado niveles de pH de 9,5 para el agua de pozos profundos (Valenzuela *et al.*, 2012), valor superior al obtenido en esta investigación. Contrariamente Valderrama *et al.* (2010) han detectado promedios de pH ligeramente ácidos, ubicados entre 5 y 6,1, valores menores a los obtenidos en el presente trabajo. En este estudio, se realizó un análisis de correlación entre las concentraciones bacterianas y el pH; sin embargo, no se observó correlación positiva significativa ($r = 0,53$).

En el Cuadro 2, se refleja el NMP por mL de agua, para coliformes totales (CT), fecales (CF) y *E. coli* en los diferentes puntos de muestreo. Las poblaciones de CT, CF y *E. coli* presentes en el agua del área de maternidad fueron

Cuadro 1. Recuento de bacterias aerobias mesófilas (BAM) y valores pH en los diferentes puntos de muestreo de la unidad porcina.

Puntos de muestreo	Bacterias aerobios mesófilos UFC/mL	pH
Maternidad	6360,00 ^a	6,52 ^a
Lechones lactantes	3750,00 ^b	6,43 ^{ab}
Cerdos de iniciación	3098,33 ^b	6,37 ^{ab}
Crecimiento-engorde	2355,00 ^{bc}	6,47 ^{ab}
Tanque elevado	1616,67 ^{bcd}	6,27 ^{ab}
Reproductores	222,67 ^{cd}	6,45 ^{ab}
Pozo profundo	2,67 ^d	6,15 ^b

Letras diferentes en una misma columna indican grupos estadísticamente diferentes ($P < 0,05$).

Cuadro 2. Número más probable (NMP) de coliformes totales (CT), fecales (CF) y *Escherichia coli*, en los diferentes puntos de muestreo en la unidad de producción porcina ubicada el Rincón de Monagas, estado Monagas, Venezuela.

Puntos de muestreo	Coliformes totales NMP/mL	Coliformes fecales NMP/mL	<i>Escherichia coli</i> NMP/mL
Maternidad	4,3 ^a	4,3 ^a	4,3 ^a
Lechones lactantes	2,1 ^{bc}	2,1 ^{bc}	2,1 ^b
Cerdos de iniciación	1,5 ^{cd}	1,5 ^{cd}	1,5 ^c
Crecimiento-engorde	2,3 ^b	2,3 ^b	0,9 ^d
Tanque elevado	0,9 ^d	0,9 ^d	0,9 ^d
Reproductores	0 ^e	0 ^e	0 ^e
Pozo profundo	0 ^e	0 ^e	0 ^e

Letras diferentes en una misma columna indican grupos estadísticamente diferentes (P<0,05).

mayores (P<0,05) comparadas con el resto de las áreas muestreadas; mientras que en el agua del pozo profundo y área de reproductores no se detectaron estas poblaciones bacterianas.

El incremento del número de microorganismos en el agua del área de maternidad puede ser atribuida a varios factores; en primer lugar, al mayor tiempo de permanencia del agua en el sistema de tuberías debido a la baja frecuencia de consumo por parte de las cerdas lactantes, en segundo lugar, a las condiciones de este sistema de tuberías ya que el mismo es el de mayor antigüedad en la granja, por último, posibles deficiencias en las prácticas de manejo en cuanto a la limpieza de los tanques, tuberías y bebederos de la granja (Kopp *et al.*, 2015).

La formación de biopelículas puede ser también un factor desencadenante del deterioro del agua. Al respecto, Rejas (2013) señala que el crecimiento de bacterias en el sistema de redes de agua produce una disminución de la calidad del agua, aumento de su turbidez y afectación de los estándares de calidad microbiológica, lo que a su vez aumenta la posibilidad de infecciones en los animales que puedan tener acceso a esta agua como bebida.

Las poblaciones reportadas de CT y CF en el agua de las áreas de maternidad, lechones, iniciación, crecimiento y engorde, y tanque elevado, estuvieron dentro del rango permitido de acuerdo al Decreto N° 883 (1995), que

establece un límite máximo de 50 NMP/mL para CT y 10 NMP/mL para CF, en aguas destinadas a uso pecuario; la norma no establece valores para *E. coli*. Aunque el decreto es tolerante para CT y CF, es indispensable que el agua para el consumo de los cerdos no presente ningún contenido de estos microorganismos.

En lo que respecta al contenido de coliformes y *E. coli* del pozo profundo, se pudo evidenciar que la calidad bacteriológica del agua se encuentra dentro de los límites permisibles para agua potable según la norma 1431 (COVENIN, 1982). Los problemas de contaminación de aguas provenientes de pozos podrían estar asociados a deficiencias en la construcción y el manejo de las perforaciones o bien a la existencia de corrales y lagunas en las cercanías de los pozos (Bettera *et al.*, 2011).

Estudios realizados por Valenzuela *et al.* (2012), concuerdan con esta afirmación, al evidenciar valores máximos de 4839 NMP coliformes totales/mL y 1043 NMP de *E. coli*/100mL, durante la evaluación de la calidad microbiológica del agua de pozos en zonas agrícolas-ganaderas en el centro sur de Chile. Así mismo, Valderrama *et al.* (2010), detectaron CT y CF en el agua de tres pozos, indicando la filtración de bacterias provenientes de descargas de aguas residuales al suelo y al incumplimiento en la protección y construcción de pozos.

Similarmente, Robles *et al.* (2013) reportaron diferentes concentraciones de coliformes totales y fecales en ocho pozos de agua potable del acuífero Tepalcingo-Axochiapan, México, durante la evaluación de calidad del agua. De acuerdo al autor, esto pudo ser ocasionado por la falta de servicios sanitarios y el drenaje en algunas zonas.

Los resultados obtenidos en la presente investigación difieren de los valores presentados por los autores mencionados en párrafos anteriores; estos datos permiten catalogar el agua procedente del pozo profundo como aceptable desde el punto de vista microbiológico, lo cual podría deberse a la ubicación de este pozo, ya que se encuentra alejado de las instalaciones y lagunas de oxidación, lo que evita cualquier tipo de contaminación microbiana.

No obstante, al estudiar la infraestructura disponible en la granja, se pudo observar que el agua se surte desde el pozo profundo hacia el tanque elevado y de allí es enviada a las diferentes áreas de la granja; igualmente se constató que el tanque receptor carece de cubierta protectora, lo que pudiera facilitar su contaminación. Esta condición podría influir en el crecimiento bacteriano a lo largo del sistema de conducción del agua a los bebederos.

En cuanto al área de reproductores, los resultados del presente estudio evidenciaron la no contaminación por coliformes; esto podría explicarse por un nuevo sistema de tanque elevado y tuberías de aguas blancas, procedente del pozo profundo, colocado en esa zona de la granja.

Finalmente, en la investigación no se observó la presencia de *Pseudomona ssp.*, en ninguna de las áreas de la granja muestreadas. De acuerdo a la norma 1431 (COVENIN, 1982), este germen no debería estar presente en las fuentes de agua potable para consumo humano y animal.

CONCLUSIONES

La calidad bacteriológica del agua del pozo fue adecuada según la norma COVENIN 1431- 82; mientras que se detectaron elevados valores de coliformes totales, fecales y *E. coli*, en las diferentes áreas de producción, con excepción del área de reproductores. En relación al pH,

sus valores estuvieron dentro de los límites permisibles, excepto para el área de maternidad. Así mismo, no se evidenció la presencia de *Pseudomona ssp.* en el agua de la granja porcina.

LITERATURA CITADA

- Aldás, A. 2004. Estudio de la calidad del agua para uso zootécnico en porcinos: evaluación del impacto ambiental y biorremediación. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador. 157 p. Disponible en línea: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1890/1/17T0691.pdf> [Sep. 06, 2004].
- APHA, (American Public Health Association). 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th Ed, APHA, Washington D.C.8 p.
- Arcos, M., S. Ávila, S. Estupiñan, y A. Gómez, 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. Nova-Publicación Científica. 3(4):69-79.
- Bettera, S., S. Dieser, C. Vissio, G. Geuna, C. Dias, A. Larriesta, L. Odierno, y C. Frigerio, 2011. Calidad microbiológica del agua utilizada en los establecimientos lecheros de la zona de Villa María (Córdoba). Rev. Argentina de Microbiología. 43:111-114.
- Bontempo, V. y G. Savoini, 2011. Calidad de agua para cerdos. Revista Agroindustria. 119:24-26.
- Covenin, (Comisión Venezolana de Normas Industriales).1982. Agua potable envasada. Requisitos. Primera revisión. 1431-82. Fondonorma, Caracas, Venezuela. 13 p.
- Covenin, (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1996. Alimentos. Determinación del número más probable de coliformes totales, fecales y *E. coli*. Primera revisión. 1104-96. Fondonorma, Caracas, Venezuela. 15 p.
- Covenin, (Comisión Venezolana de Normas Industriales).1987. Alimentos. Método del recuento de bacterias aerobias en placas de Petri. Segunda revisión. 902-87. Fondonorma, Caracas, Venezuela. 12 p.

- Covenin, (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1989. Alimentos. Preparación e identificación de muestras para el análisis microbiológico. Primera revisión. 1126-89. Fondonorma, Caracas, Venezuela. 11 p.
- Covenin, (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1994. Agua potable. Toma de muestras. Primera revisión. 2614-89. Fondonorma, Caracas, Venezuela. 11 p.
- Decreto N° 883. 1995. Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de agua y vertidos o efluentes líquidos. Gaceta Oficial N° 5.021 extraordinario del 18 de diciembre de 1995 de la República de Venezuela Caracas. 25 p.
- Di Rienzo, J., F. Casanoves, M. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. Robledo, 2017. INFOSTAT versión 2017. Grupo Infostat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en línea: <http://www.infostat.com.ar> [Abr. 22, 2017].
- Frazier, W. y D. Westhoff, 1993. Microbiología de los Alimentos. 4ta ed. Acribia. Zaragoza, España. 681 p.
- Gómez, J., B. Huerta, I. Luque, A. Maldonado, R. Astorga y C. Tarradas, 2011. Eficacia de las medidas de bioseguridad en el control de microorganismos asociados a endometritis porcinas. Estudio preliminar. Arch. Med. Vet. 43:191-197.
- Guevara, J, 1996. Control de calidad del agua. Métodos de análisis para la evaluación de la calidad del agua. OPS/CEPIS. Lima, Perú. 33 p.
- Henry, J. y G. Heinke, 1999. Ingeniería ambiental. Prentice-Hall. México, México. 618 p.
- ICA, (Instituto Colombiano Agropecuario). 2011. Las buenas prácticas en producción porcícola. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá, Colombia. 22 p.
- Kopp, S., M. Pérez, S. García y S. Patiño, 2015. Calidad microbiológica estacional del agua de bebida para cerdos: Análisis comparativo en establecimientos porcinos de la zona núcleo de la provincia de Córdoba. Revista SNS. 9:15-20.
- Marín, R. 2003. Físicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas. Ediciones Díaz de Santos S, A. Madrid, España. 336 p.
- OMS. (Organización Mundial de la Salud). 2006. Guías para la calidad del agua. 3era ed. Vol. 1. 408 p.
- Pinelli, A., E. Acevedo, J. Hernández, R. Belmar, y A. Beltrán. 2004. Manual de buenas prácticas en granjas porcícolas. Senasica, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. México D. F., México. 85 p.
- Quiles, A y M. Hevia, 2003. La importancia de la calidad del agua en la cría de cerdos. Porcino ibérico. (23) pp. 44-49.
- Rejas, L. 2013. Formación de las biopelículas en redes de agua de bebida. SIRIVS. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria. 8 p. Disponible en línea: http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_rejas_biopeliculas.pdf [Feb. 05, 2016].
- Robles, E., E. Ramírez, A. Durán, M. Martínez y M. González, 2013. Calidad bacteriológica y físicoquímica del agua del Acuífero Tepalcingo-Axochiapan, Morelos, México. Av. Cien. Ing. 4(1):19-28.
- Valderrama, R., E. Ramírez, R. Ayala, A. Duran, M. Sáinz, M. Martínez, B. Martínez y M. González, 2010. Calidad del agua de tres pozos de la zona centro del acuífero Cuautla-Yautepec, Morelos, México. BIOCYT. 3(11):159-175.
- Valenzuela, E., R. Godoy, L. Almonacid, y M. Barrientos, 2012. Calidad microbiológica del agua en área agrícola-ganadera del centro sur de Chile y su posible implicancia en la salud humana. Rev. Chilena Infectol. 29(6):628-634.
- Valiente, C y J. González. 2003. Calidad microbiológica del agua subterránea en el Valle central de Costa Rica 1997-2002. En: Reynolds, J. Manejo integrado de aguas subterráneas. Un reto para el futuro. EUNED. San José, Costa Rica. 77-88 p.

Atividade celulolíticas de fungos isolados de solo e de pastagens tropicais

Cellulolytic activity of fungi isolated from soil and tropical pasture

Actividad celulolítica de los hongos aislados del suelo y pastos tropicales

Jaqueline Maria Nascimento, Emanuely Gomes Alves Mariano, Brenda Karoline Alcantara Faria, Edvaldo Alves Vieira, Luciana Castro Geraseev e Eduardo Robson Duarte*

Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.
*Correio eletrônico: duarvet@hotmail.com

RESUMO

Pastagens cultivadas representam a base da alimentação de ruminantes em regiões tropicais. No entanto, por falta de manejo adequado apresentam níveis elevados de carboidratos estruturais lignificados que reduzem a digestibilidade. Objetivou-se avaliar a atividade celulolítica de fungos micelianos isolados de solo e de pastagens, na estação de seca. Foram avaliados 14 isolados de fungos micelianos provenientes do solo e cinco isolados de pastagens. Fragmentos de colônia foram inoculados no centro de placas de Petri contendo meio C com celulose em triplicata. As leituras de halos de colônias e de halos de degradação foram realizadas após 24, 48 e 72 horas de incubação, utilizando-se vermelho congo. Com o microcultivo, verificou-se que todos os isolados apresentaram características compatíveis com as do gênero *Aspergillus*. Os índices de atividade celulolítica (IAC) foram similares entre isolados de fungos das pastagens e dos solos. Entretanto, constatou-se que esses índices foram significativamente maiores para o tempo de 72 horas de incubação em relação aos demais tempos testados. Nove isolados apresentaram IAC superior a dois, demonstrando maior habilidade de degradação desse carboidrato. Os fungos isolados do solo e das pastagens apresentaram resultados satisfatórios quanto à atividade de celulase, apresentando potencial para aditivos microbianos na alimentação de ruminantes e para a produção industrial dessa enzima.

Palavras-Chave: *Aspergillus* sp., celulases, *Brachiaria* spp., semiárido.

Recibido: 07/03/16 Aprobado: 22/11/17

ABSTRACT

Cultivated pastures represent the staple diet of ruminants in tropical regions. However, in inadequate managements has high levels of lignified structural carbohydrates, which reduce their digestibility. This study aimed to evaluate the cellulolytic activity of mycelial fungi isolated from soil or pastures during dry season. Fourteen isolates from soil and five of grass were evaluated and colony fragments were inoculated at center of Petri plates containing agar C with cellulose, in triplicate. The diameters of fungi colonies and degradation halos were verified after 24, 48 and 72 hours of incubation, using Congo red. After microculture tests, all the isolates were compatible with *Aspergillus* genus. The indices of cellulolytic activity (ICA) of fungi isolated from pasture and soil were similar. Nevertheless these indices were higher for the 72h of incubation than other evaluated periods. Nine isolates showed (ICA) ≥ 2 , indicating better ability to cellulose degradation. These fungi isolates from soil and pastures showed satisfactory results to cellulase activity, with potential for microbial additives in ruminant feed and for industrial production of this enzyme.

Keywords: *Aspergillus* sp., cellulases, *Brachiaria* spp., semiarid.

RESUMEN

Los pastos cultivados representan la dieta básica de los rumiantes en las regiones tropicales. Sin embargo, por manejo inadecuado muestran altos niveles de carbohidratos estructurales lignificados, que dificulta su digestibilidad. En esta investigación el objetivo fue evaluar la actividad celulolítica de hongos filamentosos aislados del suelo o pastos durante la estación seca. Catorce aislamientos de suelo y cinco de pastos fueron evaluados. Fragmentos de colonias fueron inoculados en el centro de las placas de Petri que contiene medio C con celulosa, en triplicado. Estos procedimientos fueron realizados con tres repeticiones. Las lecturas de los diámetros de las colonias y de los halos de degradación se realizaron después de 24, 48 y 72 horas de incubación, utilizando rojo Congo. Después de las pruebas de microcultivo, los aislados fueron compatibles con el género *Aspergillus*. Los índices de actividad celulolítica (IAC) de los hongos aislados de los pastos y del suelo no mostraron diferencias estadísticas. Sin embargo, los IAC fueron mayores para las 72h de incubación, en comparación con otros periodos evaluados. Nueve aislados mostraron (ICA) ≥ 2 , lo que indica mejor capacidad de degradación de la celulosa. Los hongos aislados del suelo y pastos mostraron resultados satisfactorios para los ICA(s), con potencial para aditivos microbianos en la alimentación de rumiantes y para la producción industrial de esta enzima.

Palabras clave: *Aspergillus* spp., celulosas, *Brachiaria* spp., semiárido.

INTRODUÇÃO

A pecuária é atualmente uma das principais atividades econômicas de países tropicais, com a maior parte do rebanho criado a pasto (Soares *et al.*, 2010). As plantas que constituem as pastagens tropicais são exóticas e pertencem principalmente aos gêneros *Brachiaria*, *Panicum*, *Pennisetum*, por apresentarem maior capacidade de suporte e rápida rebrota nos períodos chuvosos, características imprescindíveis para eficiência nos sistemas de produção a pasto (Do Valle *et al.*, 2009). Essas pastagens produzem grande quantidade de massa seca. Entretanto, um dos problemas que interferem negativamente é sazonalidade,

devido a condições de baixa umidade durante a estação seca do ano (Barbosa e Santos, 2008).

O diferimento de pastagens é uma alternativa de manejo para minimizar a estacionalidade de pastagens, auxiliando na manutenção da alimentação dos animais na época da seca com baixos custos (Santos *et al.*, 2009). Contudo, a maior limitação das forragens nesse período é o baixo valor nutritivo e a baixa digestibilidade devido ao elevado teor de lignina, celulose e hemicelulose, além de outras frações indigestíveis, como cutícula e sílica, que reduzem o desempenho animal (Santos *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2015).

Pesquisas têm indicado que o tratamento com aditivos microbianos na alimentação de bovinos poderia favorecer a degradação de paredes celulares vegetais lignificadas promovendo melhor aproveitamento desses alimentos, reduzindo os custos de produção nesse período (Facchini *et al.*, 2011; Almeida *et al.*, 2014). Alguns fungos com a capacidade de hidrolisar a celulose promovem a desestruturação da parede celular vegetal e dessa forma os polissacarídeos são convertidos em açúcares, que são mais fáceis de serem digeridos, melhorando a absorção de nutrientes (Aguar e Ferraz, 2011; Auer *et al.*, 2014).

Pouco se conhece sobre a caracterização e o potencial de fungos de áreas de pastagens tropicais com potencial de degradação da parede celular vegetal. Fungos com elevada capacidade de degradação de celulose poderiam contribuir para elaboração de produtos que poderiam melhorar a digestibilidade de pastagens lignificadas. Nesta pesquisa, avaliou-se a atividade celulolítica de fungos micelianos provenientes de solo e de pastagens tropicais no período de seca de região semiárida.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na região de Montes Claros, Norte de Minas Gerais (longitude de 43°53'W, latitude de 16°43'S e 650m de altitude). O clima do local, pela classificação de *Koppen*, é do tipo tropical de Savana (Aw), sendo o verão curto chuvoso e um longo período seco com média anual de 24,2°C e precipitação média anual de 1029 mm.

As amostras de solo e de pastagens compostas pelas espécies, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Panicum maximum* cv. Tanzania e *Brachiaria mutica* foram coletadas na estação de seca entre os meses de agosto a novembro dos anos de 2012 e 2013. Em cada piquete, subamostras foram obtidas em locais aleatórios e equidistantes, coletando-se 10 subamostras com aproximadamente 10 gramas. Essas amostras foram homogeneizadas e retirou-se uma amostra composta de 30 gramas para representar cada piquete das quatro fazendas avaliadas (Tabela 1). Amostras de solo foram coletadas com o auxílio de uma espátula estéril, sendo compostas por material retirados na camada superficial do solo, a aproximadamente 5cm de profundidade. As amostras de capim foram retiradas das touceiras que continham folhas secas e as folhas foram coletadas com o auxílio de uma tesoura estéril. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e transportadas para análises micológicas.

As diluições decimais seriadas de dez amostras de solo e dez de pastagens foram realizadas em tubos que continham 9 mL de solução salina estéril. As amostras diluídas foram

homogeneizadas durante 3 minutos em vortex e inoculou-se 100 µL em placas de Petri estéreis contendo meio C (celulose microcristalina a 1%; sulfato de amônio a 0,5%; sulfato de magnésio hepta-hidratado a 0,05% e ágar-ágar a 2%) e distribuídos de forma homogênea com o auxílio de *swab* (Almeida *et al.*, 2012). As placas foram incubadas na posição invertida em estufa BOD a 37 °C e monitoradas, observando crescimento de colônias fúngicas por até 21 dias (Lacaz *et al.*, 2002).

Para a identificação dos fungos micelianos obtidos, foi utilizada a técnica de microcultivo (Lacaz *et al.*, 1998). As características morfológicas, evidenciadas ao microscópio óptico foram comparadas àquelas descritas para fungos de interesse biotecnológico e médico-veterinário (Lacaz *et al.*, 2002).

Foram avaliados 14 isolados de fungos micelianos provenientes do solo e cinco isolados de pastagens. Após crescimento exponencial, fragmentos de colônia foram inoculados no centro de placas de Petri (90 x 90 mm) contendo 15 mL de meio C, em triplicata. As placas foram incubadas em estufa BOD a 37 °C. As leituras de halos de colônias e de halos de degradação foram realizadas após 24, 48 e 72 horas

Tabela 1. Caracterização dos piquetes de pastagens em fazendas do Norte de Minas Gerais, avaliadas nesta pesquisa.

Fazendas	Piquete	Pastagens		Solo	
		Subamostras	Amostras	Subamostras	Amostras
1	Vacas	10	1	10	1
	Ovinos	10	1	10	1
	Vacas secas	10	1	10	1
2	Vacas leiteiras c/ bezerro	10	1	10	1
	Vacas leiteiras c/ bezerro	10	1	10	1
3	Vacas leiteiras 1	10	1	10	1
	Vacas leiteiras 2	10	1	10	1
	Vacas de corte c/ bezerras	10	1	10	1
4	Vacas de corte c/ bezerras	10	1	10	1
	Vacas de corte Solteiras	10	1	10	1
Total			10		10

conforme metodologia adaptada de Teather e Wood (1982).

Ao final de cada tempo foi adicionado às placas 10 mL de solução de vermelho congo (1 mg mL^{-1}), durante 15 minutos. Em seguida, as placas foram lavadas com solução 1M de NaCl, por três vezes, logo após foram mensurados os halos claros que se formaram no meio, indicando a degradação de celulose e o diâmetro das colônias com o auxílio de paquímetro (Mitutoyo®). Os índices de atividade celulolítica (IAC) foram calculados pela razão entre diâmetro de halo de hidrólise da celulose e diâmetro de halo da colônia que foram avaliados em cada tempo (Silva *et al.*, 2007).

Para comparar o IAC nos diferentes tempos de incubação dos microrganismos avaliados utilizou-se os testes não paramétrico de Kruskal–Wallis e de Wilcoxon. Para realização de ambos os testes foi utilizado o pacote estatístico SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (2007), considerando-se 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de dez amostras do solo e dez amostras das folhas das pastagens, verificou-se o crescimento de fungos micelianos para 50% e 25% delas, respectivamente. Os 14 isolados do solo e os cinco da pastagem apresentaram características micromorfológicas compatíveis com o gênero *Aspergillus*.

O diâmetro das colônias de fungos isolados de solo ou de pastagens apresentou diferença significativa para os tempos testados. Não se verificou diferença entre IAC dos fungos avaliados nos períodos de 24 e 48 horas de incubação. Entretanto, para 72 horas de incubação, a média de IAC foi significativamente maior (Tabela 2). *Aspergillus* spp. isolados de pastagens e de solo não apresentaram diferenças estatísticas entre os IAC para os diferentes períodos avaliados (teste de Wilcoxon $P > 0,05$).

As atividades celulolíticas observadas nesta pesquisa para *Aspergillus* spp. foram próximas daquelas observadas para fungos isolados do rúmen de bovinos leiteiros, alimentados com forrageiras tropicais. Entretanto os autores verificaram que valores de IAC com 24 horas de

incubação foram inferiores aos demais tempos avaliados (Almeida *et al.*, 2014)

O fungo ICA 006 proveniente de pastagens apresentou, para o tempo de 48 horas, IAC igual a 3,31. Os isolados ICA 002, ICA 007 e ICA 019 provenientes do solo das pastagens apresentaram os maiores IAC observados para o tempo de 72 horas (Tabela 2). Esses fungos seriam selecionados, uma vez que indicaram bom potencial para degradação de celulose microcristalina. A utilização do teste de vermelho congo para análise de atividade celulolítica se mostra eficiente para indicação de halo de degradação, tendo em vista que alguns fungos, embora apresentem menor produção de biomassa, podem apresentar elevado potencial de produção enzimática (Silva *et al.*, 2015).

Segundo Carvalho e Pires (2008) a digestibilidade das forrageiras está diretamente relacionada com sua composição bromatológica e histológica, ou seja, a composição nutricional bem como estrutural e de formação dos tecidos da planta. A qualidade da forrageira reduz à medida que a planta se desenvolve, e essa etapa frequentemente coincide com o início do período da seca em regiões tropicais (Hoffmann *et al.* 2014).

Brito *et al.* (2003) ressalta ainda que essa digestibilidade está relacionada também com diferentes porcentagens e tipos de tecido da planta, com seus órgãos já formados e idade que se encontra, justamente pelo aumento de teores dos carboidratos estruturais a medida que ela cresce e se desenvolve, dessa forma é possível uma classificação de acordo com o nível nutricional entre espécies e cultivares de diferentes tipos de forrageiras para uso na alimentação animal.

O aumento da população no rúmen de microrganismos decompositores de celulose em outros carboidratos mais facilmente digestíveis pelos animais auxiliaria no maior aproveitamento dos alimentos ofertados no período de seca, mantendo a produtividade dos animais sem grandes elevações nos custos, procurando dessa forma manter a produção viável economicamente.

Em outra pesquisa, foram avaliados isolados de fungos celulolíticos de acículas de *Pinus taeda* em decomposição, da região de Três Barras,

Tabela 2. Medianas do índice de atividade celulolítica (IAC) de fungos do gênero *Aspergillus* provenientes de solo e de pastagens após o cultivo em meio contendo celulose microcristalina (1%), com 24, 48 e 72 h de incubação.

Isolados	24 horas		48 horas		72 horas	
	Colônia (mm)	IAC	Colônia (mm)	IAC	Colônia (mm)	IAC
Isolados de solo de pastagem						
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 001	11,0	1,95*	15,5	1,74*	15,0	1,97*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 002	13,5	1,33*	17,5	1,48*	15,5	2,48*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 003	14,0	1,75*	16,0	2,19*	16,0	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 004	12,5	1,52*	12,5	1,00	12,5	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 005	8,5	1,94*	12,5	2,12*	15,0	2,3*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 007	18,0	1,05*	18,0	1,61*	19,5	2,23*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 009	15,5	1,16*	18,0	1,03*	18,0	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 012	23,0	1,00	23,0	1,43*	23,0	1,89*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 015	14,0	1,39*	16,0	1,43*	16,0	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 016	17,5	1,26*	17,5	1,86*	20,5	2,12*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 018	14,0	1,57*	14,0	1,00	15,5	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 019	22,5	1,29*	22,5	1,2*	34,5	3,71*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 020	13,0	2,23*	13,0	1,00	13,0	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 021	15,0	1,37*	19,5	1,41*	19,5	2,15*
Medianas	15,3	1,46 ^b	17,8	1,59 ^b	17,7	2,36 ^a
Isolados de pastagens tropicais						
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 006	9,5	1,21*	9,5	3,31*	15,5	2,64*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 010	17,0	1,35*	17,0	1,61*	17,5	2,11*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 011	14,0	1,75*	14,0	1,00	14,0	1,00
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 013	0,0	0,00	13,0	2,08*	20,0	2,10*
<i>Aspergillus</i> ICA/UFMG - 014	15,5	1,45*	16,5	1,67*	16,5	1,00
Medianas	11,2	1,15 ^b	13,17	1,17 ^b	17,7	2,28 ^a

Medianas seguidas de letras minúsculas diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste de *Kruskal-Wallis* ($P < 0,05$). *Indica índice de atividade celulolítica maior que um. IAC = ϕ do halo de hidrólise de celulose / ϕ da colônia (Silva *et al.*, 2007).

Santa Catarina, Brasil. Isolados de *Aspergillus* sp. e *Cladosporium* sp. produziram maior atividade em meio contendo carboxmetilcelulose, com médias de IAC de 1,7 e 1,4, respectivamente, indicando potencial para degradação desse substrato (Auer *et al.*, 2014).

Okeke *et al.* (2015) avaliou fungos provenientes da biomassa microbiana da superfície do solo

no Alabama, USA. Os isolados foram avaliados quanto à coprodução de enzimas celulolíticas e xilanolíticas importantes para degradação de massa lignocelulósica. Os estudos indicaram que as duas cepas que mais se destacaram para produção dessas enzimas foram identificadas como *Penicillium janthinellum* e *Trichoderma virens*.

Santos *et al.* (2013) avaliaram o potencial de *Aspergillus niger* quanto a produção de enzimas celulolíticas, utilizando farelo de cacau como fonte de carbono. Observaram que o uso desse substrato foi promissor para a produção dessas enzimas, destacando a síntese de carboximetilcelulase, em atividade de água de 0,972 e período de incubação de 70 horas.

Outros estudos também têm demonstrado atividade celulolíticas de bactérias isoladas do solo. Silva *et al.* (2015) ao avaliarem atividade celulolíticas de cepas de actinobactérias provenientes do solo de região semiárida do Estado do Ceará, Brasil. Constataram que 75 das cepas apresentaram atividade celulolítica e 36% mostraram índice enzimático superior a dois.

Em estudo realizado por Carneiro (2009) constatou-se que a disponibilidade de material orgânico e carbono presentes em ambiente com palhadas ou capins secos são maiores, tendo em vista o comportamento dos microrganismos no solo, principalmente os fungos micelianos. Observou-se maior quantidade de fungos celulolíticos em sistema de plantio direto quando comparado ao solo descoberto em sistema convencional.

Devido à presença da palha sobre o solo a velocidade de decomposição desse material é mais lenta por estar na superfície, mantendo o substrato de carbono por um período mais longo, justificando a presença desses microrganismos no material. Bernardes *et al.* (2006) estudaram diferentes manejos de solo de Cerrado com cultivo de soja não observaram diferença estatística no crescimento da população de microrganismos celulolíticos durante a semeadura a fase vegetativa e colheita, porém foi observada uma maior população em valores absolutos na época de colheita. Fato que foi atribuído ao maior teor de matéria seca nessa época, resultando em maior quantidade de celulose disponível para esses microrganismos.

Os resultados verificados nesta pesquisa corroboram com as pesquisas desses autores, visto que no solo onde foram coletadas as amostras havia cobertura de palhada proveniente das pastagens que estavam secas, em decorrência da falta de chuvas no período. O que comprova a existência de fungos

produtores de celulasas que se mantiveram devida à presença de material não incorporado, apresentando dessa forma decomposição mais lenta.

Ruegger e Tauk-Tornisielo (2004) ressaltam que os fungos produtores de celulasas apresentam comportamento diferente quando avaliados em meio de cultura, porque nesse ambiente ocorre competição. Existem interações que ocorrem entre os microrganismos em seu nicho ecológico natural que devem ser consideradas. Neste contexto é importante salientar que essa associação é responsável pela degradação completa dos substratos celulósicos no ambiente em que estão inseridos, facilitando a absorção de compostos pelo rúmen e intestino nos animais.

CONCLUSÃO

Os exemplares de fungos isolados de solo e de pastagens tropicais avaliados apresentaram resultados satisfatórios quanto à produção de celulase, apresentando potencial para aditivos microbianos na alimentação de ruminantes. Os maiores valores de IAC foram observados no tempo de 72 horas, não apresentando diferença entre os tempos de 24 e 48 horas. Futuros estudos devem elucidar a capacidade de degradação de xilana e lignina destes fungos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) e PRPq / UFMG

LITERATURA CITADA

- Aguiar, A. e A. Ferraz, 2011. Mecanismos envolvidos na biodegradação de materiais lignocelulósicos e Aplicações tecnológicas correlatas. *Quím. Nova*, 34(10):1729-1738.
- Almeida, P. N. M., E. R Duarte, F. O. Abrão, C. E. S. Freitas, L. C. Geraseev e C. A. Rosa, 2012. Aerobic fungi in the rumen fluid from dairy cattle fed with different sources of

- forage. Rev. Bras de Zoot, 41(11):2336-2342.
- Almeida P. N. M., C. E. S. Freitas, A. F. Oliveira, I. C. Oliveira, E. A. Vieira, L. C. Geraseev e E. R. Duarte, 2014. Atividade celulolítica de fungos aeróbios isolados do rúmen de bovinos leiteiros alimentados com forragens tropicais. Rev Caatinga, 27(14):202-207.
- Auer C. G., T. Amaro, I. C. Pimentel, P. R Dalzoto. 2014. Atividades degradativas de celulose e de fenóis por fungos isolados de acículas de *Pinus taeda*. Floresta, 44(2):179-184.
- Barbosa, R. Z. e F. A. Dos Santos, 2008. O uso de irrigação em pastagens em diferentes regiões do país. Rev. Cien. Elet. Agron, 14. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/zbfB9bJWXQ9FsA0_2013-5-10-12-0-29.pdf [Out. 25, 2015].
- Bernardes, C. M. e M. A. Santos, 2006. População microbiana como indicadora de interferência de diferentes manejos de solos de cerrado com cultivo de soja. Biosc. J, 22(2):7-16.
- Brito, C. J. F. A., R. A. Rodella, e F. C. Deschamps, 2003. Perfil químico da parede celular e suas implicações na digestibilidade de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. Re. Brás. Zootec, 32(6):1835-1834.
- Carneiro, M. A. C., E. D. Souza, E. F. Reis e H. S. Pereira, 2009. Atributos físicos, químicos e biológicos de solo de cerrado sob diferentes sistemas de uso e manejo. R. Brás. Ci. Solo, 33: 47-157.
- Carvalho, G. G. P. e A. J. V. Pires, 2008. Organização dos tecidos de plantas forrageiras e suas implicações para os ruminantes. Arch. de Zoot, 57:13-28.
- Do Valle, C. B., L. Jank, e R. M. S. Resende, 2009. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. Rev. Ceres, 56(4): 460-472.
- Euclides, R. 1999. Sistema de análises estatísticas e genéticas. Scienceopen. Facchini, F. D., A. C. Vici, V. R. Reis, J. A. Jorge, H. F. Terenzi, R. A. Reis, M. de L. Polizeli, 2011. Production of fibrolytic enzymes by *Aspergillus japonicus* C03 using agro-industrial residues with potential application as additives in animal feed. Bioprocess Biosyst. Eng. 34(3):347-355.
- Hoffmann A., E. H. B. K. Moraes, C. J. Mousquer, T. A. Simioi, F. Junior Gomer, V. B. Ferreira, H. M. Silva 2014. Produção de bovinos de corte no sistema de pasto-suplemento no período da seca. Nativa, 2:119-130.
- Lacaz, C. S., E. Porto, J. E. C. Martins, E. M. Heins-Vaccari e N. Takahashi De Melo, 2002. Tratado de micologia médica 9. Ed. São Paulo: Sarvier, 1104 p.
- Lacaz, C. S., E. Porto, J. E. C. Martins, E. M. Heins-Vaccari e N. Takahashi De Melo, 1998. Guia Para Identificação de Fungos Actinomicetos e Algas de Interesse Médico, 8. Ed. São Paulo: Sarvier, 446 p.
- Okeke, B. C., R. W. Hall, A. Nanjundaswamy, M. S. Thomson, Y. Deravi, L. S. Prescott, 2015. Selection and molecular characterization of cellulolytic–xylanolytic fungi from surface soil-biomass mixtures from Black Belt sites. Microbiol Res, 175:24-33.
- Ruegger, M. J. S. e S. M. Tauk-Tornisielo, 2004. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. Rev Brasa Bot, 27(2):205-211.
- Santos, M. E. R., D. M. Fonseca, E. M. Balbino, J. P. I. S. Monnerat, e S. P. Silva, 2009. Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. Rev. Bras de Zoot, 38(4): 650-656,
- Santos, M. E. R., D. M. Fonseca, V. P. B. Euclides, J. I. Ribeiro Júnior, E. M. Balbino e D. R. Casagrande, 2008. Valor nutritivo da forragem e de seus componentes morfológicos em pastagens de *Brachiaria decumbens* diferida. Bol Ind Animal, 65(4): 303-311.
- Santos, T. C., T. J. O. Rocha, A. C. Oliveira, F. G. Abreu, M. Franco, 2013. *Aspergillus niger* como produtor de enzimas celulolíticas a

- partir farelo de cacau (*Theobroma cacao*).
Arq Inst Biol, 80(1):65-71.
- Silva, J. O., J. C. Ferreira e R. C. Candido, 2007.
Atividade enzimática, produção de slime e
sensibilidade a antifúngicos de *Candida* sp.
Ver. Socie Brás. *Med. Trop*, 40(3):354-355.
- Silva, V. M, C. M. Martins, S. C. Silveira, 2015.
Atividade celulolítica de actinobactérias de
região semiárida do Ceará. *Encicl Biosfera*,
11:2026-2036.
- Soares, I. A., A. C. Flores, L. Zanettin, H. K.
Pin, M. M. Mendonça, R. P. Barcelos, L.
R. Trevisol, R. D. Carvalho, D. Shauren, C.
L. Mello, S. C. Rocha, e D. Baroni, 2010.
Identificação do potencial amilolítico de
linhagens mutantes do fungo filamentoso
Aspergillus nidulans. *Cienc. Technol.*
Aliment., campinas 30(03):700-705.
- Teather, R. M. and P. J. Wood, 1982. Use of
Congo redpolysaccharide interactions
in enumeration and characterization of
cellulolytic bacteria from the bovine rumen.
Appl Envir Microb, 43:777-780.

Metales pesados (cadmio, plomo, mercurio) y arsénico en pescados congelados de elevado consumo en el Ecuador

Heavy metals (cadmium, lead, mercury) and arsenic in frozen fish of high consumption in Ecuador

William Senior^{1, 2, 4 *}, María Herminia Cornejo-Rodríguez¹, Johnny Tobar², Mery R. Ramírez-Muñoz³ y Aristide Márquez⁴

¹Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE), Instituto de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico de la UPSE. Correo electrónico: senior.william@gmail.com. ²Universidad Técnica de Machala (UTMACH), Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Acuicultura. ³UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Químicas y la Salud, Escuela de Bioquímica y Farmacia. ⁴UPSE, Facultad de Ciencias del Mar, Ecuador; ⁵Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Venezuela.

RESUMEN

Se realizó un estudio preliminar sobre el contenido de cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg) y arsénico (As) en muestras de filetes de pescado congelado de elevado consumo en El Ecuador como, corvina (*Cynoscion phoxocephalus*), dorado (*Coryphaena hippurus*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) y atún (*Thunnus obesus*); adquiridos en diversos supermercados de la ciudad de Machala, Provincia El Oro. Los resultados preliminares muestran la contaminación de estos productos por As, Pb y Hg, superando las Normas Internacionales establecidas para el consumo humano. En todas las muestras examinadas los valores de Cd fueron inferiores al límite de detección del método (0,0042 mg. kg⁻¹). La correlación significativa entre el contenido de Hg, Pb y As en las muestras de músculo de pescado evaluadas, puede sugerir que estos contaminantes tienen un origen común ya que las elevadas concentraciones de As, Pb y Hg son consecuencia de las aguas domésticas e industriales vertidas sin tratamiento alguno en la zona costera así como, la escorrentía proveniente de las zonas de cultivos y al aporte atmosférico.

Palabras claves: corvina, tilapia, dorado, atún, contaminación, consumo de alimentos.

ABSTRACT

We conducted a preliminary study on the content of cadmium (Cd), lead (Pb), Mercury (Hg) and Arsenic (As) in samples of croaker frozen fillets (*Cynoscion phoxocephalus*), dorado (*Coryphaena Hippurus*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) and tuna (*Thunnus obesus*), high consumption fish in Ecuador, acquired in various supermarkets of Machala city, El Oro province. Preliminary results show contamination of these products by As, Pb and Hg, surpassing international standards set for human consumption. Cd values were below the detection limit of the method (0.0042 mg. Kg⁻¹) in all samples examined. The significant correlation between the content of Hg, Pb and As in the evaluated muscle samples could suggest that these pollutants have a common origin. High concentrations of these elements are due to untreated domestic and industrial water discharges, made into the coastal zone, runoff from crop areas and atmospheric contribution.

Key words: Croaker, dolphin fish, tuna, tilapia, pollution, food consumption.

INTRODUCCIÓN

El estudio del contenido de metales en los alimentos constituye un aspecto de importancia debido a que algunos de estos metales son necesarios para el desarrollo normal de los organismos, mientras que otros, aún en bajas concentraciones no pueden tolerarse debido a su toxicidad para los seres humanos (Milacic y Kralj, 2003). La evaluación del contenido de metal en los alimentos consumidos por el hombre se realiza fundamentalmente para la estimación del requerimiento diario de metales esenciales y la evaluación de la exposición humana a los elementos tóxicos (Soliman y Zikovsky 1999; Iwegbue *et al.*, 2009).

Los peligros de los metales para los seres humanos a partir del consumo de alimentos contaminados, dependerá de los niveles relativos de metal y su especiación. En caso de toxicidad crónica, se conoce que el plomo causa efectos dañinos sobre los riñones; además del deterioro de la función renal, disfunción hepática y escasa capacidad reproductiva (Abou-Arab *et al.*, 1996); igualmente se ha reportado que en humanos, la exposición al plomo produce reducción del coeficiente intelectual, dificultades de aprendizaje, retardo del crecimiento, anomalías de comportamiento, dificultades de audición y de las funciones cognitivas (Dahiya *et al.*, 2005).

Por otra parte, estudios demuestran que la ingesta excesiva de cobre y zinc se ha relacionado con enfermedades como nefritis, anuria y lesiones extensas en el riñón (Abou-Arab *et al.*, 1996), a pesar de que el cobre, zinc, conjuntamente con el hierro, son esenciales y requeridos para el crecimiento normal. De acuerdo con lo anterior, se infiere que el margen entre la esencialidad y la toxicidad de metales traza generalmente es pequeño (Onianwa *et al.*, 1999).

El incremento de la industrialización así como, la intensificación de las actividades humanas, ha causado la emisión de diversos contaminantes en el medio ambiente (Moncayo, 2010; Demirayak *et al.*, 2011). Esto ha promovido el interés por determinar las concentraciones de metales pesados en el medio ambiente en general, con énfasis en el medio acuático; particularmente en la medición de los niveles de contaminación en

el pescado (Iwegbue *et al.*, 2009; Ferreira-Cravo *et al.*, 2009; Kayhan *et al.*, 2010).

Los metales pesados se encuentran naturalmente en el agua de mar en muy bajas concentraciones; sin embargo, debido a los contaminantes antropogénicos, los niveles aumentan (Kargin *et al.*, 2001). Los productos químicos que contaminan las aguas, promueven que los peces y otras formas de vida acuática estén constantemente expuestos (Burger *et al.*, 2002) debido a sus condiciones de vida, los peces son susceptibles de acumular grandes cantidades de contaminantes tóxicos (Suhaimi *et al.*, 2005).

Los seres humanos están expuestos a elementos perjudiciales no esenciales, como el arsénico, plata, plomo, mercurio, cadmio y níquel, principalmente por el consumo de agua potable y de productos alimenticios frescos y procesados, y a través de la exposición ocupacional (Ikem y Egiebor, 2005). Efectos subletales de metales son motivo de preocupación, ya que son acumulativos.

La pesca es una de las actividades más importante del Ecuador, en la que existen altos volúmenes de exportación en rubros como las conservas de atún, harina y aceite de pescado, pesca fresca y congelada. Se ha reportado que en ese país, el consumo de pescado congelado se incrementó en un 44%, seguido de productos enlatados con 32% y el pescado fresco con el 24% (Ordóñez, 2013). Siendo España, uno de los mercados principales de estos rubros (Javier Pia, 2014).

La evaluación del contenido de metales pesados en peces es primordial debido a su implicación en la salud humana, sin embargo, la información sobre el contenido de metales en peces de elevado consumo en el Ecuador, es insuficiente. Esta información es importante ya que permite la toma de decisiones en cuanto a la protección de los consumidores

Con base en lo anterior, se plantea el presente estudio cuyo objetivo fue determinar el contenido de cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg) y arsénico (As), en filetes de pescados congelados de consumo masivo, distribuidos en los supermercados de la ciudad de Machala, Provincia El Oro, Ecuador.

MATERIALES Y METODOS

Toma de muestras

Se adquirieron muestras de filetes de pescado congelados de las especies Corvina (*Cynoscion* sp.), Tilapia (*Oreochromis* sp.), Dorado (*Coryphaena* sp.) y Atún (*Thunnus* sp.), de diferentes marcas comerciales, en diferentes supermercados de la ciudad de Machala.

Fueron seleccionadas siete marcas de corvina, dos de tilapia, dos de dorado y una de atún. Cada marca fue identificada de la siguiente manera: Corvina 1, Corvina 2, Corvina 3, Corvina 4, Corvina 5, Corvina 6, Corvina 7, Tilapia 1, Tilapia 2, Dorado 1, Dorado 2 y Atún 1. Cada una de las marcas fueron analizadas por triplicado; lotes diferentes pertenecientes a una misma marca comercial y especie de pescado, fueron identificados con apóstrofo (1, 1', 2, 2', 4, 4'). En total se analizaron por triplicado 12 muestras de pescados congelados.

Con la finalidad de comprobar la eficiencia y precisión de la técnica empleada para la extracción de metales se realizaron análisis por triplicado de un material de referencia o estándar certificado de pescado homogenizado (IAEA-407, International Atomic Energy Agency, Mónaco). De esta manera, los resultados obtenidos del análisis por triplicado de las muestras fueron comparados con el material de referencia.

Análisis de las muestras

Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de química de la Universidad Técnica de Machala, se colocaron en placas de Petri debidamente rotuladas y se secaron en una estufa a una temperatura de aproximadamente 70 °C por un tiempo de 48 a 72 horas; una vez alcanzada su temperatura ambiente, se molieron en un mortero con mazo de cuarzo y el polvo se colocó en envases plásticos, previamente lavados con una solución de HNO₃ al 10%.

Se tomó 0,5 g de tejido seco y triturado, al cual se le agregó una mezcla 3:2:1 de ácidos nítrico, clorhídrico y perclórico, para extraer los contenidos totales de los metales traza, y se colocaron sobre una plancha de calefacción y baño de arena a 70 °C durante 2 h (Lewis y

Landing, 1992). Todos los ácidos utilizados fueron de calidad Suprapur.®

Posteriormente, todas las muestras sin neutralizar fueron filtradas en filtros de papel endurecidos sin cenizas, N° 542 de 11 cm de diámetro (Whatman®), con agua desionizada y se enrasó a 25 mL en balones aforados. Se agitaron las muestras y se trasladaron a un frasco de polietileno de 30 mL para su conservación y posterior análisis. Todo el material utilizado para trasladar, digerir y almacenar, estuvo previamente lavado con HNO₃ al 1%.

Las concentraciones de los metales estudiados fueron determinadas utilizando un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3110, de doble haz y llama de aire, acetileno y corrector de fondo de deuterio, a las longitudes de onda específicas para cada metal.

El mercurio se determinó utilizando el método Espectrometría de Absorción Atómica Vapor-Frío (CVAAS - Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry), cuyo procedimiento está basado en la reducción de los compuestos de mercurio presentes en la muestra a metal libre. A 5 mL del filtrado obtenido de la digestión, se le agregaron 5 mL de HNO₃ al 1,5%, en envases de reacción, estos fueron colocados en el espectrómetro de absorción atómica, donde se les añadió un volumen de Borohidruro de sodio al 3%, diluido en hidróxido de sodio al 1%; las concentraciones se determinaron por altura de pico, sin llama. Este método permitió la medición de las concentraciones del metal a través del desprendimiento de vapor, manteniendo las celdas a temperatura ambiente (U.S. EPA 1999, Fermín, 2002).

La determinación del Arsénico se realizó a través de la generación de hidruros mediante el sistema de inyección de flujo (FIA por sus siglas en inglés). Para esto, la muestra fue sometida a un proceso de digestión a fin de destruir los compuestos orgánicos del As y oxidarlo a As (V). Luego, el As (V) presente en el mineralizado fue reducido a As (III) por reacción con yoduro de potasio que posteriormente es convertido a arsina con borohidruro de sodio. El límite de detección del método (LDM) es 0,10 µg As L⁻¹ y se calcula de acuerdo al procedimiento descrito en el manual de control de calidad analítica (Litter *et al.*, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis del estándar certificado y su comparación con las muestras evaluadas, se detallan en el Cuadro 1. Los valores obtenidos muestran que la recuperación del Pb fue del 100%, en el caso del Cd fue de 74,07%; valores aceptables para el método aplicado. En el Cuadro 2, se observan los resultados del análisis de precisión a partir de los datos obtenidos de la evaluación de una muestra por triplicado.

Las concentraciones registradas de Cd oscilaron entre $<0,004$ LDM y $0,021 \pm 0,006$ mg.kg⁻¹, con un valor promedio de $0,017 \pm 0,006$ mg.kg⁻¹ (Cuadro 3). Solo se pudo medir niveles de concentración de este metal por encima del límite de detección en atún y dorado, observándose las concentraciones más elevadas en esa última especie, mientras que el resto de las especies, presentaron muy bajas concentraciones. La norma mexicana establece como concentraciones máximas permisibles de $0,5$ mg.kg⁻¹ para los ostiones (NOM, 1993), mientras que la Unión Europea (2016) establece concentraciones de $0,05$ mg.kg⁻¹ para la carne de pescado.

Al contrastar los resultados obtenidos en el presente estudio con lo establecido en las Normas Internacionales, se observa que

en lo que respecta al Cd, la Legislación Australiana establece como valor máximo en peces destinados para consumo humano, una concentración de $0,02$ mg.kg⁻¹ (ANZFSC, 2011). Mientras que la Unión Europea (2016), establece un máximo permisible $0,05$ mg.kg⁻¹. Lo anterior indica que los niveles de Cd en los pescados congelados vendidos en la ciudad de Machala superan ligeramente las Normas Internacionales para consumo humano.

El cadmio se considera un metal pesado, contaminante y un micronutriente no esencial (Yılmaz, 2009). El nivel medio de los tejidos musculares homogeneizados de la sardina ($0,21$ mg.kg⁻¹) obtenida en un estudio fue menor que los valores obtenidos ($2,22 \pm 0,006$ mg.kg⁻¹) para la sardina en el noreste del Mar Mediterráneo (Canli y Atli, 2003).

Se han reportado valores de cadmio de 104 y 256 mg.kg⁻¹, para *Pimelodus clarias* y *Prochilodus magdalenae* respectivamente, en la localidad de Honda sobre el río Magdalena, Colombia (Ruiz *et al.* 1996). Estos contenidos se consideran elevados y pueden representar un peligro para la salud de los pescadores y los consumidores, ya que se encuentran cercanos al límite fijado (400 - 500 mg.kg⁻¹ de Cd) para el consumo semanal que puede ser ingerido por un ser humano (FAO/OMS, 1972).

Cuadro 1. Comparación del contenido de metales de las muestras experimentales y el estándar certificado (IAEA 407).

Metal	Presente Estudio		Estándar		
	Promedio	Rango	Promedio	Rango	% Extracción
Pb	0,12 ($\pm 0,01$)	0,10 – 0,12	0,12	0,10 - 0,15	100
As	12,43 ($\pm 0,08$)	12,34 – 12,55	12,6	12,3 – 12,9	98,65
Hg	0,23 ($\pm 0,01$)	0,22 – 0,25	0,22	0,22 – 0,29	104,55
Cd	0,14 ($\pm 0,01$)	0,12 – 0,15	0,19	0,18 – 0,19	74,07
Cu	3,25 ($\pm 0,25$)	3,00 – 3,50	3,28	3,20 – 3,36	99,09
Ni	0,50 ($\pm 0,03$)	0,47 – 0,52	0,60	0,55 – 0,65	83,33
Cr	0,68 ($\pm 0,03$)	0,65 – 0,70	0,73	0,67 - 0,79	93,15
Zn	66,12 ($\pm 1,73$)	64,13 – 67,28	67,1	66,3 - 67,9	98,54
Co	0,62 ($\pm 0,01$)	0,60 – 0,62	0,60	0,55 – 0,65	103,33
Mn	3,27 ($\pm 0,38$)	3,22 – 3,30	3,52	3,44 – 3,60	92,89

*Todas las concentraciones se expresan en mg.kg⁻¹. % extracción: Porcentaje de extracción de los elementos.

Cuadro 2. Análisis de precisión para una muestra por triplicado (mg.kg⁻¹).

Metal	Pb	As	Hg	Cd
M1	7,40	1,45	283,20	1,68
M2	7,20	1,44	286,85	1,70
M3	7,70	1,78	283,90	1,65
CV (%)	3,36	1,49	0,68	1,49

Cuadro 3. Concentración de As, Cd, Pb y Hg en las muestras de músculo de pescados analizadas.

Especie y réplica	As (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Hg (mg/kg)
Corvina 1	12.92	<0.004	0.27	3.39
Corvina 1'	7.01	<0.004	0.20	1.05
Corvina 2	6.14	<0.004	0.19	0.70
Corvina 2'	3.28	<0.004	0.19	0.73
Corvina 3	3.00	<0.004	0.20	0.58
Corvina 4	2.86	<0.004	0.21	1.89
Corvina 4'	2.33	<0.004	0.21	1.61
Tilapia 1	0.37	<0.004	0.20	<0.02
Tilapia 2	0.10	<0.004	0.21	<0.02
Dorado 1	2.72	0.021	0.24	1.37
Dorado 2	4.54	0.016	0.26	2.57
Atun 1	5.7	0.013	0.19	0.55

Las muestras marcadas como 1, 1', 2, 2', 4 y 4' son muestras de la misma marca y especie de pescado, pero corresponden a lotes diferentes. La muestra marcada 3 es una muestra de otra marca. Las muestras marcadas como Tilapia 1 y Tilapia 2, así como Dorado 1 y Dorado 2 corresponden a marcas diferentes

En cuanto al Pb, se observó un valor promedio de $0,21 \pm 0,02$ mg.kg⁻¹, con concentraciones máximas de $0,27 \pm 0,02$ mg.kg⁻¹ y mínimas de $0,19 \pm 0,02$ mg.kg⁻¹, en las muestras de Corvina 1 y Corvina 2 respectivamente. El valor más elevado supera ligeramente el límite determinado por la Unión Europea (2016) que establece un valor máximo permitido de 0,2 mg.kg⁻¹. Las muestras de Corvina 3, 4 y 4' superan igualmente el valor máximo permisible, al igual que las muestras identificadas como Tilapia 1, 2 y Dorado 1, 2, mientras que el Atún presentó una concentración de $0,19$ mg.kg⁻¹ \pm $0,02$ mg.kg⁻¹ (Cuadro 3).

Una alta concentración de Pb se reportaron en muestras de cuerpo entero del pez "vieja" (*Plecostomus plecostomus*), recolectadas en el río Puyango (Gramadal), Ecuador (122 mg.kg⁻¹). Fue el valor más alto detectado, inclusive

comparado con otros estudios realizados en la zona (UNEP, 2006).

En un estudio realizado por Tarras-Wahlberg *et al.* (2001) se detectaron valores altos de Pb en especies de larvas bénticas de insecto megalóptero (entre 100 y 800 mg.kg⁻¹). Otras investigaciones han mostrado valores de 20 mg.kg⁻¹ para el pez Life (*Rhemdia* sp.) en el río Amarillo (UNEP, 2006).

En lo referente al arsénico, los análisis arrojaron concentraciones comprendidas entre $12,92 \pm 3,45$ mg.kg⁻¹ y $0,10$ mg.kg⁻¹, con un valor promedio de $4,25 \pm 3,45$ mg.kg⁻¹. Las cantidades más elevadas correspondieron a las muestras de Corvinas, mientras que los valores más bajos se registraron en las de Tilapia; todos los valores a excepción de una muestra, superaron

el valor de $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Cuadro 3), establecido para el consumo humano, en diferentes normas y referencias (FAO, 2010; Un periódico, 2010; ANZFSC, 2011; Unión Europea, 2016).

Los resultados obtenidos en la presente investigación corresponden a As total, mientras que las normativas hacen referencia al As inorgánico; esto no permite contrastar los valores, por lo que resulta difícil evaluar los posibles efectos de este elemento (Burger y Gochfeld, 2005; Falcó *et al.*, 2006).

La principal fuente de As en la dieta del hombre la constituye el consumo de pescados y mariscos (Cuadrado, 1995; DGHCP, 2004; Castro-González *et al.*, 2008). Estos alimentos contienen grandes cantidades de arsénico, en su mayoría de carácter orgánico, conocido como Arsenobetaina, una forma de As no tóxica (Falcó *et al.*, 2006; ATSDR, 2007; Anacleto *et al.*, 2009).

Un inconveniente adicional con respecto al As, es que las proporciones orgánicas e inorgánicas en los peces no son claras (Litter *et al.*, 2009), estimándose que el As presente en su músculo, conocido como As inorgánico, representa un bajo porcentaje del As total presente (CODEX STAN, 1995) y constituye aproximadamente el 10% de la concentración total; no obstante, se han reportado porcentajes entre el 0,02 y el 30% (Falcó *et al.*, 2006, Cheng *et al.*, 2013).

Los peces y otros organismos marinos pueden tener niveles elevados de As inorgánico (WHO, 2011), siendo esta la forma más tóxica para los organismos (Stankovic y Jovic, 2012; Cheng *et al.*, 2013).

En lo que respecta a Hg, las concentraciones registradas estuvieron comprendidas entre $3,39 \pm 0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $<0,0275 \text{ mg.kg}^{-1}$, con un valor promedio de $1,446 \pm 0,18 \text{ mg.kg}^{-1}$. Los mayores valores se registraron en las muestras de Corvina, Dorado y Atún, mientras que las muestras de Tilapia presentaron concentraciones inferiores a $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Cuadro 3). Gran parte de las muestras superaron el límite de 1 mg.kg^{-1} establecido por la Norma Oficial Mexicana (NOM, 1993).

La norma australiana (ANZFSC, 2011) y la norma de las Naciones Unidas (FAO, OMS 1972), han fijado el límite para Hg en $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ y $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ respectivamente, el contenido de

Hg máximo permitido para consumo humano fue superado en todas las muestras analizadas.

Las concentraciones de mercurio detectadas por Mosquera-Lozano *et al.* (2005) en su estudio, se relacionaron con la minería de oro desarrollada en el río Condoto, Colombia; esta actividad, de importancia para la economía local, vierte mercurio al río acumulándose paulatinamente en los diferentes organismos acuáticos, pasando de un nivel trófico a otro por medio de la cadena alimenticia.

En este contexto se puede inferir entonces, que la dieta constituye la principal fuente de exposición al Hg, en especial, por pescados y mariscos contaminados. Es difícil estimar el consumo y cantidad diario presente en los alimentos consumidos. Sin embargo, investigaciones realizadas han reportado concentraciones inferiores a los $0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$ en la mayor parte de los alimentos (U.S. EPA, 1997; Ronchetti *et al.*, 2006; Health Canada, 2007; Martin-Olmedo *et al.*, 2016).

Concentraciones más altas se han observado en el pescado y sus derivados. El valor en pescados pequeños como la anchoa es de $0,085 \text{ mg.kg}^{-1}$, mientras que en el tiburón o los atunes puede superar los 2 mg.kg^{-1} . En especies de peces escandinavos de agua dulce, como la percha y el lucio, los niveles medios son, aproximadamente, de $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Health Canada, 2007).

Es importante destacar, que el empleo durante largos períodos de tiempo de harinas elaboradas con pescados contaminados con mercurio para el engorde de aves de corral y otros animales, puede resultar en una acumulación de Hg tanto en músculos, órganos, leche y huevos de esos animales (Gómez *et al.*, 1995; Ortega García *et al.*, 2003; Ortiz, 2005). En España, el 60-90% del consumo diario de metil mercurio (MeHg) proviene del pescado y los mariscos; la dosis de referencia emitida por la Oficina de Protección Ambiental de los EE. UU. (U.S EPA, 1997) para el MeHg es de $0,1 \mu\text{g.kg.día}$, lo que corresponde para un ser humano de 60 kg una ingestión de $42 \mu\text{g.kg}$ por semana de Hg, cantidad equivalente al consumo semanal de 420 g de pescado contaminado con $0,1 \text{ mg MeHg/kg}$. Los datos en España y en Zonas mediterráneas son escasos, pero no dejan de ser preocupantes (Moreiras *et*

Cuadro 4. Correlaciones entre el contenido de metales en las muestras analizadas.

	As	Cd	Pb	Hg
As	1	-0.0362	0.4501	0.6651
Cd		1	0.4 255	0.1953
Pb			1	0.8089
Hg				1

En negrita se señalan los valores $P < 0,05$.

al., 1996; European Comission, 2001; Storelli *et al.*, 2002).

En el Cuadro 4, se muestran las conexiones entre las diferentes especies y las concentraciones de metales; además se resaltan las elevadas correlaciones entre As y Hg (0,6651 $P < 0,05$) Pb y Hg (0,8089 $P < 0,05$). Estas semejanzas sugieren que los metales en las muestras analizadas, pueden tener un origen similar.

La contaminación por metales pesados (Cd, Cu, Hg, Pb, Zn), es particularmente peligrosa en el caso del mercurio y del cadmio. En un estudio realizado por Ruiz *et al.*, (1996), reportaron que metales detectados en nicuro (*Pimelodus blochii*); y bocachico (*Prochilodus sp.*) mostraron niveles que pueden presentar peligro para la salud de los pescadores y los consumidores de la localidad de Honda, Colombia, sobre el río Magdalena; ya que las concentraciones de Hg encontradas, llegaron a niveles máximos de 2,6 y 3,53 mg.kg^{-1} , y las de Cd a concentraciones de 104 y 256 mg.kg^{-1} , respectivamente.

En el caso del Ecuador, las elevadas concentraciones de As, Pb y Hg son producto de los los vertidos de aguas domésticas e industriales sin tratamiento alguno en la zona costera así como, la escorrentía proveniente de las zonas de cultivos, al aporte atmosférico, y a las aguas transportadas por los ríos contaminados con elementos tóxicos por la explotación minera (WASH FIELD, 1981; Escobar, 2002; Ho, 2002; Moncayo, 2010; Mendoza, 2012; Andrade, 2013; Ruiz., 2014).

CONCLUSIONES

Según los datos obtenidos, el arsénico presentó la mayor concentración en el músculo de

pescado, seguido de mercurio, plomo y cadmio. Los niveles de arsénico, plomo y mercurio en las muestras de pescado estudiadas fueron superiores a los límites máximos permitidos por la Legislación Internacional para consumo humano. Por ello, es necesario el control periódico de los metales pesados en los peces, tanto para la evaluación de la ingesta de metales tóxicos de estos peces por los seres humanos y para la generación de datos para estudios posteriores.

AGRADECIMIENTOS

Al SENESCYT, del Ecuador, 2013-2015 y a los evaluadores que aportaron mejoras al presente manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Abou-Arab A. A. K., A. M. Ayesh, H. A. Amra and K. Naguib. 1996. Characteristic levels of some pesticides and heavy metals in imported fish. *Food Chemistry*, 57(4):487-492.
- Anacleto, P., Lourenço H. M., Ferrara V., Afonso C., Carvalho M. L., Martins M. F. and Nunes M. L. 2009. Total Arsenic Content in Seafood Consumed in Portugal. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18:32-45. DOI: 10.1080/10498850802581088 Disponible en línea: file:///C:/Users/Usuario/Desktop/ArtigoArsnio.pdf
- Andrade, H. V., S. S. Gutiérrez, y C. H. Andrade. 2013. Estado del medio ambiente marino y costero del Pacífico Sudeste. 204 p. Disponible en línea: <http://cpps.dyndns.info/cpps-docs-web/planaccion/docs2013/sept/>

- CONPACSE _2013_ FIN_v2.pdf. [12, Jul. 2016]
- ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007. Toxicological profile for Arsenic. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Health and Human Services, Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA.: 559 p. Disponible en línea: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf> [03, Abr. 2015].
- ANZFSC (Australia New Zealand Food Standards Code). 2011. Disponible en línea: <https://www.legislation.gov.au/Details/F2011C00121>. [Jul. 05, 2015].
- Burger J., K. F. Gaines, C. Shane Boring, W. L. Stephens, J. Snodgrass, C. Dixon, M. McMahon, S. Shukla, T. Shukla and M. Gochfeld. 2002. Metal levels in fish from the Savannah River: potential hazards to fish and other receptors. *Environmental Research*, 89:85-87.
- Burger, J. and M. Gochfeld. 2005. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research*, 99(3):403-412.
- Canli M. and G. Atli. 2003. The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environ. Pollut.* 121:129-136.
- Castro-González, M. I. and M. Méndez-Armenta. 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26:263-271.
- Cheng, Z., K. C. Chen, K.B. Li, X. P. Nie, S. C. Wu, C. K. C. Wong and M. H. Wong. 2013. Arsenic contamination in the freshwater fish ponds of Pearl River Delta: bioaccumulation and health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*. 20 (7):4484-4495.
- CODEX STAN, 193-1995. Programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos.
- Cuadrado, V. 1995. Ingesta de contaminantes –metales pesados- y nutrientes potencialmente tóxicos vía dieta total en Andalucía, Galicia, Madrid y Valencia. Tesis de Doctorado, Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. 187 p.
- Dahiya, P., D. Milioni, B. Wells, N. Stacey, K. Roberts and M. C. McCann. 2005. A RING domain gene is expressed in different cell types of leaf trace, stem, and juvenile bundles in the stem vascular system of zinnia. *Plant Physiol.* 138:1383-1395.
- DGHCP (Directorate General of Health and Consumer Protection). 2004. Assessment of the dietary exposure to arsenic, cadmium, lead and mercury of the population of the EU Member States. Reports on tasks for scientific cooperation. Report of experts participating in Task 3.2.11. SCOOP 3.2.11 – Intake of As, Cd, Pb and Hg. Brussels, Commission of the European Communities. 125 p. (SCOOP task 3.2.11) Disponible en línea: http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/scoop_3-2-11_heavy_metals_report_en.pdf [Abr. 03, 2015]
- Demirayak A, H. G. Kutbay, D. Kılıç, A. Bilgin and R. Hüseyinova. 2011. Heavy metal accumulation in some natural and exotic plants in Samsun city. *Ekoloji*, 20(79):1-11.
- Escobar, J. 2002. La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar CEPAL/ECLAC.68P. Disponible en línea: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/aidis-ar/lcl1799e.pdf>. [Jul. 12, 2016].
- European Commission 2001. Ambient air pollution by mercury (HG). Position paper. Office for Official Publications of the European Communities. Luxemburgo, EC.
- Falcó, G., J. M. Llobet, A. Bocio and J. L. Domingo. 2006. Daily Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by Consumption of Edible Marine Species. *J. Agric. Food Chem.*, 54:6106-6112 Disponible en línea: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16881724> [Jul. 12, 2016]

- FAO/OMS.1972. Evaluación de diversos aditivos y de los contaminantes mercurio, plomo y cadmio. Decimosexto informe del Comité Mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios. Ginebra 4-12 de Abril.
- FAO/WHO 2010. joint fao/who expert committee on food additives Seventy-second meeting Rome, 16–25 February 2010. 16p. Disponible en línea: http://www.who.int/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf [Jul. 12, 2016]
- Fermín, I. 2002. Estudio geoquímico de los sedimentos superficiales de la Laguna de Unare, Edo. Anzoátegui, Venezuela. Tesis de Maestría, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Sucre, 106 p.
- Ferreira-Cravo, M., J. Ventura-Lima, J. Z. Sandrini, L. L. Amado, L. A. Geracitano, M. Rebelo, A. Bianchini and J. M. Monserrat. 2009. Antioxidant responses in different body regions of the polychaeta *Laeonereis acuta* (Nereididae) exposed to copper. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 72(2):388-393.
- Gómez, C., R. E. Martínez, y E. Podlesky. 1995. Acumulación de mercurio en pollos de engorde: prueba biológica, 1983. *Biomédica*; 15:144-154. Disponible en línea: <file:///C:/Users/Usuario/Desktop/873-4494-1-PB.pdf> [Mar. 06, 2015].
- Health Canada, 2007. Human Health Risk Assessment of Mercury in Fish and Health Benefits of Fish Consumption. 76p.
- Ho L. E. B. 2002. Conceptos básicos de la contaminación del agua y parámetros de medición. Disponible en línea: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaar/e/fulltext/gestion/conceptos.pdf>. [Jul. 12, 2016].
- Ikem, A. and N. Egiebor. 2005. Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18:771-787.
- Iwegbue C. M. A., G. E. Nwajei, F. O. Arimoro and O. Eguavoen. 2009. Characteristic levels of heavy metals in canned sardines consumed in Nigeria. *Environmentalist*, 29:431-435.
- Javier Pia R. Ll., 2014. Estudio de factibilidad para la exportación de especies pelágicas congeladas para el mercado de España. Tesis de Grado, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. 92 p. Disponible en línea: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/2206> [Oct. 19, 2016].
- Kayhan, F. E., M. N. Muslu, S. Colak, N. D. Koc and A. Colak 2010. Lead (Pb) Levels in Liver and Muscle Tissues of Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758). *Ekoloji*. 19(76):65-70.
- Kargin, F., A. Dönmez and Y. Çoğun. 2001. Distribution of heavy metals in different tissues of the shrimp *Penaeus semisulcatus* and *Metapenaeus monocerus* from the Iskenderun Gulf, Turkey: seasonal variations. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 66:102-109.
- Lewis, B. and W. Landing. 1992. The investigation of dissolved and suspended particulate trace metal fractionation in the Black Sea. *Mar. Chem.*40:105-141.
- Litter, M. I., M. A. Armienta y S. S. Farías. 2009. IBEROARSEN. Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. 242 p.
- Martín-Olmedo, P., M. J. Carroquino Saltó, J. M. Ordóñez Iriarte, J. Moya. 2016. La Evaluación de riesgos en salud. Guía metodológica. Aplicaciones prácticas de la metodología de Evaluación de riesgos en salud por exposición a químicos. Madrid. Sociedad. 260 p. Disponible en línea: <http://paginas.facmed.unam.mx/deptos/sp/wp-content/uploads/2013/12/LAEVALUACION-DE-RIESGOS-EN-SALUD.pdf>. Española de Sanidad Ambiental y Escuela Andaluza de Salud Pública. Serie “De aeribus, aquis et locis”, nº 3. 2016. [Oct. 19, 2016].
- Mendoza, L. A. LL. 2012. Toxicología en madre de Dios. Disponible en línea: [151](http://mddconsortium.org/wp-content/uploads/2014/11/Llontop-Mendoza-2012-</p></div><div data-bbox=)

- TOXICOLOG% C3% 8DA-EN-MADRE-DE-DIOS.pdf [Jul. 06, 2016].
- Milacic, R. and B. Kralj. 2003. Determination of Zn, Cu, Cd, Pb, Ni and Cr in some Slovenian foodstuffs. *Eur. Food Res. Technol.* 217:211-214.
- Moncayo D.; Trejos R. Maridueña y R. Castro. 2010. Niveles de Mercurio, Cadmio y Plomo en productos pesqueros de exportación. *Rev. cienc. mar limnol.*, 4(1):65-74. Disponible en línea: <http://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/4802/65-74.pdf?sequence=1> [Jul. 06, 2016].
- Moreiras, O., C. Cuadrado, J. T. Kumpulainen, A. Carbajal and B. Ruiz-Roso. 1996. Intake of contaminants, heavy metals and nutrients with potential toxicity via total diet in four geographical areas of Spain. *FAO Regional Office for Europe, REU Technical series 49. Trace elements, natural antioxidants and contaminants in European foods and diets*, Roma: FAO, 1996:59-92.
- Mosquera-Lozano, Y., A. Torres-Ibarguen, Y. Lozano-Largacha y B. Preamena. 2005. Incidencia del mercurio por la explotación minera en algunas especies de peces en el río Condoto, Chocó-Colombia. En: *Memorias del VIII Simposio Colombiano de Ictiología. ACICTIOS/UTCH. Quibdó Colombia.*
- NOM, Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA1. 1993. Bienes y Servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. 8 p. Disponible en línea: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/027ssa13.html>
- Onianwa, P. C., I. G. Adetola, C. M. A. Iwegbue, M. F. Ojo and O. O. Tella Trace. 1999. Heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks. *Food Chemistry*, 66(3):275-279.
- Ordonez, A., 2013. Pro Ecuador. Análisis del sector pesca. Disponible en línea: <http://www.proecuador.gob.ec/pubs/analisis-sector-pesca-2013/> [Oct. 20, 2016]
- Ortega García, J. A., J. Ferrís i Tortajada, J. A. López Andreu, M. Macián, C. J. Garcia, A. C. Conesa; A. O. Martín, E. I. Palacios, F. M. González, and D. L. Ortega. 2003. Sustainable hospitals (second part). Mercury: pediatric exposure. Adverse effects in human health and preventive measures. *Rev Esp Pediatr* 2003; 59:274-291.
- Ortiz, A. I. C. 2005. Acumulación-interacción de especies de mercurio y selenio en tejidos animales: Desarrollo de nuevas metodologías de análisis. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense de Madrid. 290p. Disponible en línea: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/qui/ucm-t28514.pdf> [Mar. 10, 2015].
- Ronchetti, R., M. Zuurbier, M. Jesenak, J. G. Koppe, U. F. Ahmed, S. Ceccatelli and M. P. Villa 2006. Children's health and mercury exposure. *Acta Pædiatrica*. 95 Suppl 453:36-44.
- Ruiz, C. L. E. 2014. Incidencia de la contaminación orgánica y de metales pesados sobre la biodiversidad marino costera del sitio Costa Rica. Disponible en línea: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1982/9/CD668_TESIS.pdf. [Jul. 12, 2016].
- Ruiz, J., C. Fandiño, G. E. Romero y M. Guevara. 1996. Contaminación de peces por metales pesados en el río Magdalena. *Licania arborea*. 1(1):18-22.
- Soliman, K. and L. Zikovsky. 1999. Concentrations of Al in food sold in Montreal, Canada, and its daily dietary intake. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 242: 807-809.
- Stankovic, S. and M. Jovic. 2012. Health risks of heavy metals in the mediterranean mussels as seafood. *Environmental Chemistry Letters*, 10(2):199-130.
- Storelli, M. M., R. G. Stuffer and G. O. Marcotrigiano. 2002. Total and methylmercury residues in tuna-fish from the Mediterranean sea. *Food Addit. Contam.* 19:715-720.
- Suhaimi, F., S. P. Wong, V. L. L. Lee, and L. K. Low 2005. Heavy metals in fish and shellfish found in local wet markets. Singapore. *Journal of Primary Industries*, 32:1-18.

- Tarras-Wahlberg, N. H., A. Flachier, S. N. Lane and O. Sangfors. 2001. Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in rivers contaminated by small scale gold mining: the Puyango River basin, southern Ecuador. *Sci. Total Environ.* 278:239-61.
- UNEP. (United Nations Environment Programme). 2006. Disponible en línea: http://www.unep.org/chemicalsandwaste/Portals/9/Lead_Cadmium/docs/submissions/Submis_GOV_ECUADOR.pdf [Abr. 06, 2015].
- UN Periódico. 2010. Peces de Buenaventura están contaminados con mercurio. Disponible en línea: <http://www.unperiodico.unal.edu.co/dper/article/peces-de-buenaventura-estan-contaminados-con-mercurio-1.html> [Abr. 20, 2015].
- UNION EUROPEA. 2016. Contenidos máximos en metales pesados en productos alimenticios. 24 p. Disponible en línea: <http://plaguicidas.comercio.es/MetalPesa.pdf> [Jul. 17, 2016].
- U.S. EPA (Environmental Protection Agency). 1997. Mercury Study Report to Congress Volume IV: An Assessment of Exposure to Mercury in the United States. 293 p.
- U.S. EPA (Environmental Protection Agency). 1999. Mercury Update: Impact on Fish Advisories. 8 p.
- WASH (Water and Sanitation for Health Project). 1981. Wash Field Report NO. 9: Contaminación ambiental en Ecuador. 105 p. Disponible en línea: <http://www.ircwash.org/sites/default/files/827EC81-3072.pdf>. [Jul. 13, 2017].
- Who. 2011. Evaluation of certain contaminants in food (Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 959.
- Yilmaz, F. 2009. The comparison of heavy metal concentrations (Cd, Cu, Mn, Pb, and Zn) in tissues of three economically important fish (*Anguilla anguilla*, *Mugil cephalus* and *Oreochromis niloticus*) inhabiting Koycegiz lake-Mugla. *Turkish Journal of Science & Technology*, 4 (1): 7-15. Disponible en línea: http://www.akuademi.net/de/FIRAT_TJST/2009_01_01.pdf [Jul. 15, 2015].

Modelo poblacional del ácaro *Varroa destructor* en colonias de *Apis mellifera*

Population model of the mite *Varroa destructor* in *Apis mellifera* colonies

Miguel Benavente^{1*}, Judith Principal², Carlos Barrios², Brigitte Bianchi² y Martín Eguaras³

¹Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEyN) Departamento de Matemática. *Correo electrónico: benavent@mdp.edu.ar ²Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias. Estación de Apicultura. Lara, Venezuela. ³UNMdP- FCEyN, Laboratorio de Artrópodos. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Varroa destructor es un ectoparásito que ataca a su huésped alternativo *Apis mellifera*, tanto en la fase adulta como en los estados inmaduros. Este ácaro se alimenta de la hemolinfa de la abeja adulta, se reproduce en las celdas de cría y es considerado un serio problema a nivel económico para la industria apícola a escala mundial. En esta investigación se propone un modelo basado en un sistema de ecuaciones diferenciales con retardos (DDE) para predecir la dinámica de crecimiento poblacional del ácaro. Este modelo es resuelto con la función interna de Matlab dde23 para describir la evolución del parásito tanto en su fase forética, donde se comporta como parásito de la abeja adulta, como en la fase reproductiva que ocurre en las celdas de cría, donde se reproduce. Algunas estrategias de control biotécnicas tales como controles químicos y cuadros trampa también son simuladas para determinar un uso óptimo de estos métodos en el modelo. Se concluye que esta nueva herramienta matemática puede contribuir con las investigaciones de la dinámica poblacional del ácaro dirigidas al diseño, implementación y obtención de diferentes estrategias de control, ya sea con procedimientos biotécnicos o químicos mediante ácidos orgánicos o acaricidas sintéticos.

Palabras claves: *Varroa*, modelos de simulación, dinámica poblacional, *Apis Mellifera*.

ABSTRACT

Varroa destructor is an ectoparasite that attacks its alternative host *Apis mellifera* both in its adult bee stage and in its immature stage. This mite feeds on the haemolymph of adult bees, reproduces in brood cells and is considered a serious economical problem to the Beekeeping Industry worldwide. This research proposes a model based on a system of differential equations with delays (DDE) in order to predict the dynamics of the population growth of the mite. This model is resolved with the internal function of Matlab dde23 to describe the evolution of the parasite both in its phoretic phase, which behaves as a parasite of the adult bee, as in the brood cells where it reproduces. Some biotechnical strategies of control such as frame traps or chemical controls are also simulated to determine an optimal use of these methods in this model. We concluded that this new mathematical tool can contribute in researching about mite population dynamics, directed to design and implement different control strategies, either with biotechnical or chemical procedures through organic acids or synthetic acaricides.

Key words: *Varroa*, simulation models, population dynamics, *Apis mellifera*.

INTRODUCCIÓN

El ácaro *Varroa destructor* es considerado uno de los ectoparásitos más dañinos de las colonias de *Apis mellifera*, debido a su capacidad para incrementar rápidamente su nivel poblacional (Eguaras *et al.*, 1994a). Su ciclo de vida está dividido en dos estadios bien diferenciados, una fase forética como parásito de la abeja adulta y una fase reproductiva que ocurre dentro de las celdas de cría operculadas de las abejas. El éxito de la fase reproductiva del ácaro dentro de las celdas de cría depende de diversos factores, investigadores como Camazine, 1988; Fries *et al.*, 1994; Eguaras *et al.*, 1994a; Kraus and Page, 1995, han contribuido a explicar la dinámica poblacional del parásito. Algunos modelos matemáticos han sido reportado con ecuaciones que presentan diversas estrategias de control para tratar de reproducir la dinámica poblacional del ácaro *Varroa*, como los citados por Martin (1998) y Wilkinson and Smith (2002).

En este mismo contexto, Maidana *et al.* (1995) y Benavente *et al.* (2006) presentaron un modelo con un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que reproduce aceptablemente la dinámica poblacional de *V. destructor*, sin embargo, la naturaleza de los ciclos de vida y periodos reproductivos del mismo, se adecua más a un sistema del tipo DDE. En esta línea, Fries *et al.* (1994), reportaron un modelo matemático que utiliza una DDE simple, donde solo se considera de manera directa la población forética, y que por lo tanto no permite seguir simultáneamente la evolución de la población de ácaros en las celdas de cría, y por otra parte requiere de la estimación de parámetros biológicos muy complejos. En el presente trabajo se propone un Sistema de DDE para modelar asertivamente la dinámica poblacional del ácaro *V. destructor* en colonias de *Apis mellifera*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El modelo consiste en un sistema de cuatro ecuaciones diferenciales con dos retardos, cuya representación en forma compacta responde a la siguiente fórmula:

$$\frac{dY}{dt} = -\mu(t)Y(t) + (\rho + f_d)\Phi_d[y_1(t - \tau_d)] + (\rho + f_w)\Phi_w[y_1(t - \tau_w)] - \Phi_d[y_1(t)]$$

El tiempo está dado en días, el subíndice d representa a la población de los zánganos y el subíndice w a la población de las obreras. Los parámetros τ_d y τ_w representan los retardos, y Φ_d y Φ_w son las funciones de preferencia. Para mayores detalles de estos últimos ver el acápite de resultados y discusión. El parámetro μ representa la mortalidad en la fase forética, es una función estacional y varía entre 0,005 en los meses fríos y 0,007 en los más cálidos cuando se produce el pecoreo de las obreras. El parámetro ρ modela indirectamente la cantidad de ciclos reproductivos.

En este trabajo se tomó como referencia el criterio reportado en Fries *et al.* (1994), un promedio de 1,4 ciclos reproductivos por individuo. Por último $f_d = 1,9$ y $f_w = 0,9$ representan las tasas de fertilidad, un promedio de las reportadas en Eguaras *et al.* (1994b), para la región en consideración. Un mayor detalle del tratamiento de todos los parámetros puede verse en Benavente *et al.* (2006).

Ecuaciones del modelo

$$dy(1) = -\mu y(1) + (\rho + f_d)lag1(3) + (\rho + f_w)lag2(4) - I_\tau[y(1), t]$$

$$dy(2) = -\mu y(2) + \rho^e lag1(3) + \rho^e lag2(4)$$

$$dy(3) = I_d[y(1), t] - y(3)$$

$$dy(4) = I_w[y(1), t] - y(4)$$

Donde, $lag1(i)$ es la τ_d -historia de $y(i)$, $lag2(i)$ es la τ_w -historia de $y(i)$ y además:

$$I_d(y, t) = \min[0.33I_y, K_d(t)]$$

$$I_w(y, t) = \min[I_y - I_d(y, t), K_w(t)]$$

$$I_\tau(y, t) = I_d(y, t) + I_w(y, t)$$

La población forética total está compuesta por la suma de $y(1)$ e $y(2)$ que constituyen las madres reproductivas y las no reproductivas respectivamente. Las funciones $y(3)$ e $y(4)$ modelan la invasión diaria de las madres reproductivas en las celdas de zánganos y obreras respectivamente. El sistema fue resuelto con la función `dde23` en el entorno del código Matlab 7.3 que integra las ecuaciones con el método explícito Runge-Kutta de segundo y tercer orden.

El modelo es utilizado para implementar métodos de control, ya sea con cuadros trampa o químicos usando acaricidas sintéticos. El

primero, descrito por Fries *et al.* (1994), consistió en introducir cuadros zanganeros en el nido de cría en plena estación reproductiva durante el período de post-operculación (14 días) y luego removerlos cuando la mayoría de sus celdas ya habían sido selladas. Para simular esta situación en el modelo, se incrementó en las celdas respectivas la capacidad de carga en un 50%, la mortalidad emergente en más de un 60% y el coeficiente de invasión máxima, el cual fue llevado de un 33% a un 50%. Asimismo, se incrementó el coeficiente de mortalidad forética de 0,007 a 0,02. Esta simulación se realizó anualmente durante tres períodos consecutivos.

En cuanto al control químico, este método consistió en analizar el efecto de un acaricida aplicado con una eficacia del 95%, durante dos períodos de 20 días, en los cuales la mortalidad forética fue llevada a $\mu = 0,1498$. Este análisis fue llevado a cabo durante un lapso de cinco años. Las aplicaciones del acaricida se realizaron a partir del segundo año, para permitir un incremento considerable de la población.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación la cantidad de celdas disponibles está dada por una función

estacional describiendo la tasa de ovoposición de la abeja reina expresada en proporción a una tasa máxima a través de un polinomio de exponenciales (Figura 1), dominado por una gaussiana (Benavente *et al.*, 2006); esta es la función regulatoria de las capacidades de carga K_d y K_w . Durante la fase reproductiva del parásito, las madres prefieren invadir las celdas de zánganos en una relación de 12 a 1 con respecto a las celdas de las obreras, Fries *et al.* (1994), pero las celdas de zánganos representan, usualmente, sólo alrededor de un 5% del total de celdas que constituyen un panal. Por la incidencia de estos dos factores se ha calculado que aproximadamente un 33% de la invasión procura ocupar las celdas de zánganos (Wilkinson y Smith, 2002), capacidad de carga mediante, y el sobrante, si lo hay, junto con el 67% restante, trata de ocupar la disponibilidad de las celdas de obreras. Un posible excedente de esta última etapa regresaría al estadio forético hasta el día siguiente, para comenzar un nuevo ciclo. Las hembras que están próximas a desovar invaden las celdas de cría de las abejas horas antes de que estas sean selladas y emergen de las mismas junto con su progenie adheridas a la abeja nodriza luego de los períodos post-operculación τ_d (14 días) y τ_w (12 días) que simbolizan justamente los retardos,

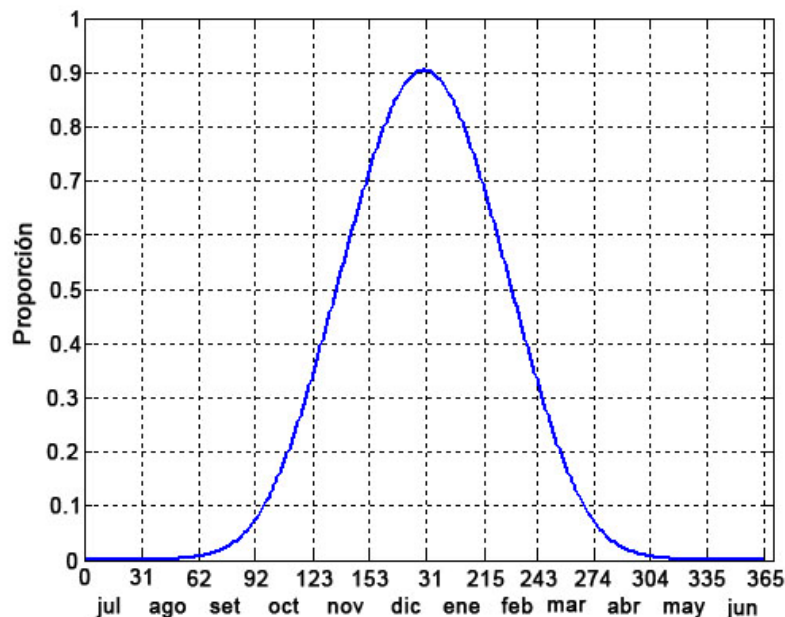


Figura 1. Ovoposición

de manera que el modelo representa bien el comportamiento biológico de la especie en estudio. Las funciones Φ_d y Φ_w dependen además de la tasa de invasión ($I=0,13$), que corresponde a un período forético de entre 7 y 8 días y expresan cuantitativamente la función de preferencia por un mecanismo estilizado (Figura 2).

En este estudio los resultados corresponderían a una zona del tipo frío-templada como el sudeste de la provincia de Buenos Aires, similar a la estudiada por Martín (1998) la cual se ha tomado como referencia para monitorear algunos resultados.

En la Figura 3, se representan las curvas solución para distintas condiciones iniciales y muestran el crecimiento global exponencial de la población si no se aplica ninguna intervención. Las restantes corridas se realizaron con una población inicial de 50 individuos.

En este mismo contexto, en la Figura 4 se ilustra la evolución diaria acumulativa de la población de madres reproductivas en las celdas de cría, esto es la explicación completa de los retardos. Este parámetro es más útil que la invasión diaria específica. Para relevar estas curvas hay que implementar una ligera modificación de las ecuaciones para $y(3)$ e $y(4)$. Al comienzo de cada período la incidencia de las celdas de zánganos es alta, pero éstas, constituyendo sólo un 5% del total, rápidamente se saturan y pasan a prevalecer las celdas de obreras. Este es el motivo del quiebre que se produce en las curvas mostrando una discontinuidad en la derivada de las funciones de preferencia, que globalmente no producen un efecto considerable, siendo

los resultados similares a los reportados por Maidana *et al.* (2005) y Benavente *et al.* (2006) en los cuales estas mismas funciones fueron menos pronunciadas.

Cuadros trampa

La alta preferencia de las hembras reproductivas por las celdas zanganeras provocó que una gran cantidad de ellas sean capturadas junto a su descendencia. Los resultados para dos y tres cuadros trampas se muestran abajo y son consistentes con los reportados en trabajos anteriores (Figura 5).

Acaricidas sintéticos

El tratamiento general de los parámetros también fueron reportadas por Benavente *et al.* (2006), quienes presentaron un modelo basado en un sistema de ecuaciones diferenciales pero sin retardos. Asimismo, con la adaptación de los parámetros y en especial de la función de ovoposición, el modelo es aplicable a las diferentes regiones. De igual manera, los parámetros empleados en los métodos de control, en especial en la técnica de los cuadros trampa, deben ser discutidos y sólo en forma tentativa fueron presentados en el presente manuscrito.

A diferencia del modelo de Fries *et al.* (1994) donde una sola DDE modela la población forética, los hallazgos encontrados en esta investigación muestran que las tres subpoblaciones están bien diferenciadas, y esto permite simular distintas estrategias de control, ya sea considerando la fase forética o la fase reproductiva en las celdas de cría, tanto de zánganos como de obreras.

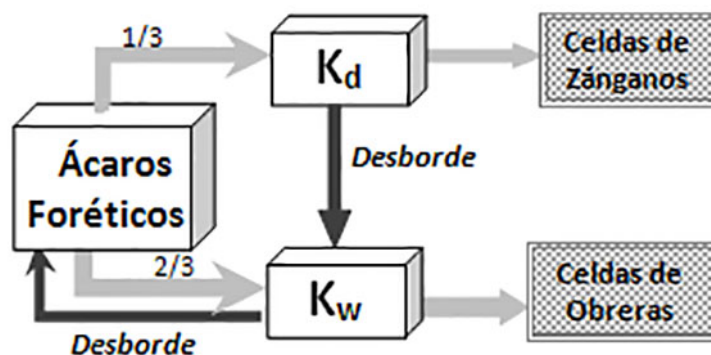


Figura 2. Esquema de la invasión.

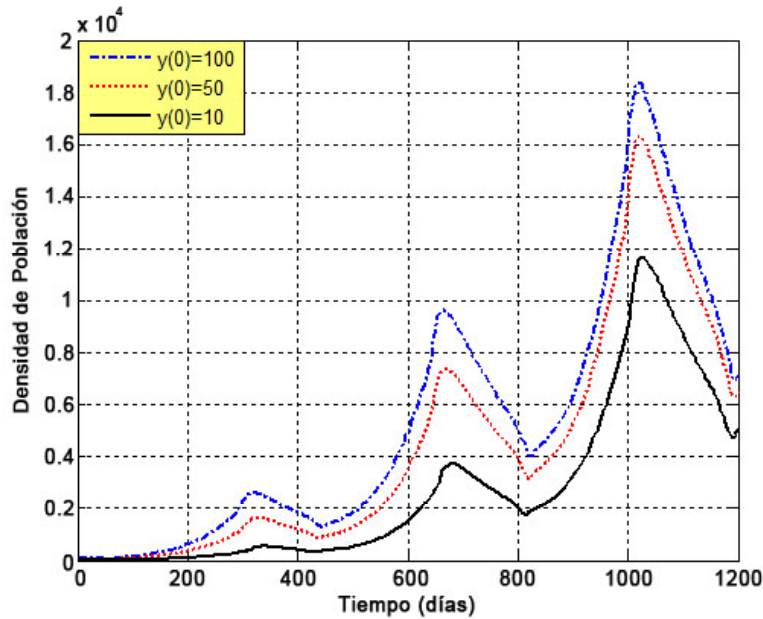


Figura 3. Ácaros foréticos sin control.

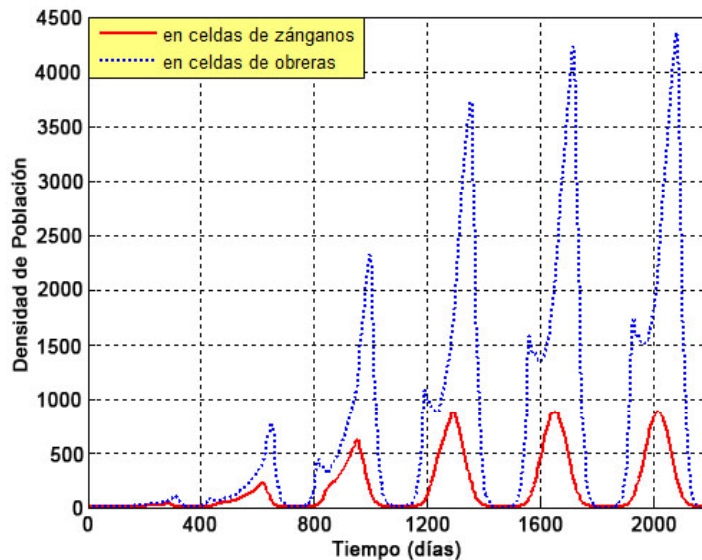


Figura 4. Ácaros acumulados en celdas de cría.

Un modelo continuo puede ser más adecuado que los modelos discretos, cuando las poblaciones crecen, pero quizás estos últimos sean más realistas en un escenario inicial con escasos individuos. Esta última reflexión sugiere que un modelo mixto podría reunir las ventajas de ambos.

Es importante señalar que el modelo presentado en este trabajo, como la mayoría de los artículos referenciados, no considera los efectos que el ácaro *V. destructor* produce sobre la población de abejas, factor que debe ser investigado en futuros trabajos.

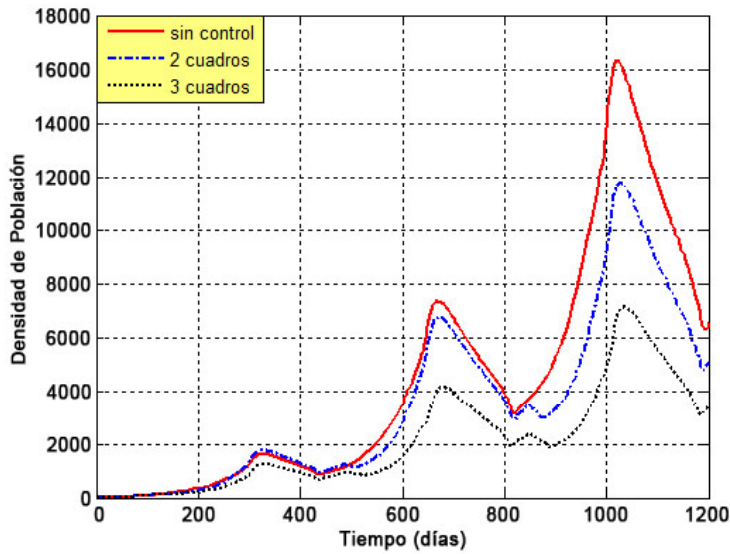


Figura 5: Control biotécnico.

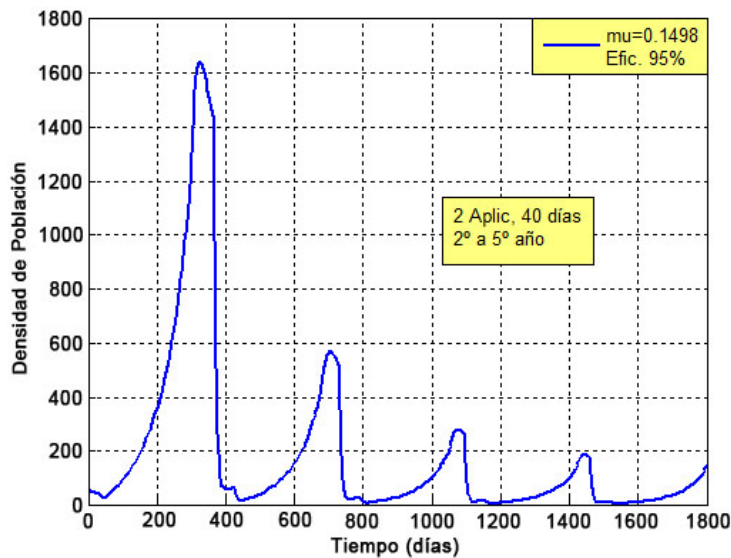


Figura 6. Control químico

CONCLUSIONES

Este estudio presenta un sistema de ecuaciones diferenciales con retardos para modelar la dinámica poblacional del ácaro *V. destructor* en colonias de *A. mellifera*, el cual representa bien sus periodos reproductivos y sus ciclos de vida. En este modelo las tres subpoblaciones están bien determinadas lo cual permite simular diferentes estrategias de control, tanto en la

fase forética como en la fase reproductiva que ocurre en las celdas de cría de zánganos y de obreras. Es importante mencionar, que con este trabajo se ha incorporado una nueva herramienta matemática, que puede contribuir a profundizar las numerosas investigaciones que se están realizando para dilucidar la dinámica poblacional de Varroa, a fin de diseñar y aplicar nuevas estrategias alternativas de control del mencionado parásito.

LITERATURA CITADA

- Benavente M., N. Maidana and M. Eguaras. 2006. A Population Model with Variable Carrying Capacity for the mite *Varroa destructor* in *Apis mellifera* Colony. *Ecological Modeling*, 148:263-275.
- Camazine S. 1988. Factors affecting the severity of *Varroa jacobsoni* infestations on European and African honey bees. In: *Africanized Honey bees and Mites*. Needham GR Page, RE jr.(ed) Ellis Horwood Ltd, Chichester; 444-451.
- Eguaras M., J. Marcángeli y N. A. Fernández. 1994a. Influence of parasitic intensity on *Varroa jacobsoni* Oud. reproduction. *Journal of Apicultural Research* 33(3):155-159.
- Eguaras M., J. Marcángeli, M. Oppedisano y N. A. Fernández. 1994b. Seasonal changes in *Varroa jacobsoni* Oud. reproduction in temperate climates of Argentina. *Bee Science*, 3:120-123.
- Fries I., S. Camazine and J. Sneyd. 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World*, 75:5-28.
- Kraus B. and R. E. Page jr. 1995. Population growth of *Varroa jacobsoni* Oud in Mediterranean climates of California. *Apidologie* 26(2):149-157.
- Maidana N., M. Benavente and M. Eguaras. (2005). A model in differential equations to describe the mite *Varroa destructor* population dynamics in *Apis mellifera* colonies. *Foro Red-Mat* ISSN: 1405-1745. Available online: <http://www.red-mat.unam.mx/foro/volumenes/vol016/varroa.pdf> [Feb. 12, 2016]
- Martin S. A. 1998. A Population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modeling*, 109:267-281.
- Wilkinson D. and G. Smith. 2002. A model of the mite parasite, *Varroa destructor*, on honeybees (*Apis mellifera*) to investigate parameters important to mite population growth. *Ecological Modeling*, 148(3):263-275.

Nota técnica

Qualidade de ovos de codornas (*Coturnix coturnix japonica*) sob diferentes condições de armazenamento e embalagens

Quality quail egg (*Coturnix coturnix japonica*) under different storage conditions and packaging

Calidad del huevo de codornices (*Coturnix coturnix japonica*) bajo diferentes condiciones de almacenamiento y tipo de embalaje

Fábio Henrique Ono, Simara Márcia Marcato, Vittor Zancanela* y Daiane de Oliveira Grieser

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Zootecnia. Maringá, Paraná, Brasil.

*Correio electronico: vitorzoo@hotmail.com

RESUMO

O objetivo deste experimento foi de avaliar a qualidade de ovos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em diferentes condições de armazenamento e tipos de embalagens. Foram utilizados 288 ovos de codornas, em um delineamento inteiramente casualizado, com um esquema fatorial (2 x 2 x 6), utilizando dois tipos de estocagem (ambiente, 25 °C) e (geladeira, 10 °C), dois tipos de embalagem (com e sem plástico filme) e seis tempos de armazenamento dos ovos (1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias). Os parâmetros analisados foram: altura de albúmen, perda de peso relativo dos ovos, gravidade específica e Unidade Haugh (UH). A UH e altura de albúmen diminuíram em função do período de armazenamento, e foi mais acentuada para os ovos estocados em temperatura ambiente (P<0,05). O período de estocagem e a temperatura ambiente aumentaram a perda de peso dos ovos (P<0,05). A gravidade específica não foi afetada pelos parâmetros avaliados (P>0,05). O armazenamento refrigerado proporcionou uma melhor conservação da qualidade interna do ovo, enquanto o tipo de embalagem não afetou essa qualidade nos dois tipos de armazenamento avaliado.

Palavras-chave: altura de albúmen, perda de peso de ovo, Unidade Haugh.

ABSTRACT

The aim of this experiment was to evaluate the quality of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs under different storage conditions and packaging types. A total 288 eggs were used in a completely randomized design with a factorial treatment arrangement (2 x 2 x 6), using two types of storage (room, 25 °C and refrigerator, 10 °C), two types of packaging (with and without plastic film) and six egg storage lapses (1, 7, 14, 21, 28 and 35 days). The parameters analyzed were: albumen height, relative weight loss of eggs, specific gravity, and Haugh unit (HU). The HU and albumen height decreased due to the storage period, and was more pronounced for eggs stored at room temperature (P<0.05). Storage period and room temperature increased the weight loss of eggs (P<0.05). The specific gravity was not affected by the evaluated parameters (P>0.05). The refrigerated storage provided better conservation of the egg internal quality, while the packaging type did not affect this quality in the two storage types evaluated.

Key words: albumen height, egg weight loss, Haugh unit.

RESUMEN

El objetivo de éste experimento fue evaluar la calidad de los huevos de codornices japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) en diferentes condiciones de almacenamiento y tipos de embalaje. Se utilizarón 288 huevos en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de tratamientos (2 x 2 x 6), utilizando dos tipos de almacenamiento (ambiente, 25 °C) y (refrigerador, 10 °C), dos tipos de embalaje (con y sin envoltura plástica) y seis lapsos de almacenamiento (1, 7, 14, 21, 28 y 35 días). Los parámetros analizados fueron: altura de la albúmina, pérdida de peso relativo de los huevos, gravedad específica y unidad Haugh (UH). La UH y altura de la albúmina disminuyeron debido al período de almacenamiento, ésta disminución fue más pronunciada para los huevos almacenados a temperatura ambiente ($P < 0,05$). El periodo de almacenamiento y la temperatura ambiente aumentaron la pérdida de peso de los huevos ($P < 0,05$). La gravedad específica no fue afectada por los parámetros evaluados ($P > 0,05$). El almacenamiento refrigerado proporcionó una mejor conservación de la calidad interna del huevo, mientras que el tipo de embalaje no afectó esta calidad en los dos tipos de almacenamiento evaluados.

Palabras clave: altura del albumen, pérdida de peso del huevo, Unidad Haugh.

INTRODUÇÃO

A indústria mundial de ovos esta, primariamente, ligada aos ovos de galinha (*Gallus domesticus*), contudo o ovo de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) tem obtido cada vez mais espaço no mercado, sendo vendidos tanto da forma in natura como produto beneficiado, cozidos e embalados em recipientes em conserva de salmoura.

De acordo com ENC (2003), o ovo tem alto valor biológico, ou seja, a eficácia com que a proteína é usada para crescimento, é em torno de 93,7%. Além disso, apresentam a maior parte de aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais (Austic e Nesheim, 1990; Terra, 1999).

Conforme com Wardy *et al.* (2010), o ovo é um alimento perecível, e começa a perder sua qualidade logo após a oviposição, especialmente

na ausência de adequados métodos de armazenamento.

A redução do potencial nutritivo do ovo pode ser influenciada por vários fatores, os quais podem estar relacionados dentro do sistema de criação ou mesmo após a saída do ovo da granja. Ainda segundo Camerini *et al.* (2013), a avaliação dos fatores que influenciam a qualidade do produto é de suma importância para que se tenha aceitação no mercado consumidor.

De acordo com Xavier *et al.* (2008), durante o armazenamento dos ovos, o pH do albúmen aumenta a uma velocidade dependente da temperatura, e este aumento deve-se à perda de dióxido de carbono através dos poros da casca, que é a principal causa da deteriorização do albúmen. A perda do gás carbônico (CO₂) através da casca do ovo resulta em uma alteração no seu sabor em decorrência do aumento da alcalinidade (Moreng e Avens, 1990). Ainda segundo Freitas *et al.* (2011) as características de qualidade dos ovos podem influenciar o seu grau de aceitabilidade no mercado e agregar preço ao produto.

Uma forma de tentar reduzir a perda da qualidade dos ovos pode estar relacionada ao tipo de embalagem utilizada. Em estudo realizado por Xavier *et al.* (2008), observaram que a temperatura e tempo de estocagem dos ovos influenciaram a qualidade interna dos mesmos; porém, Em estudo realizado por Xavier *et al.* (2008), observaram que a temperatura e tempo de estocagem dos ovos influenciaram a qualidade interna dos mesmos; porém, embalar bandejas de ovos em filme plástico melhora a qualidade interna com a qual os ovos chegam até o consumidor. Os autores também concluíram que a embalagem em filme plástico mantém os valores de Unidade Haugh altos por um maior período de estocagem dos ovos.

Com base no acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de ovos de codornas, sob diferentes condições de armazenamento e tipo de embalagens.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), utilizando-se

ovos de codornas japonesas do setor de Coturnicultura.

Foram utilizados 288 ovos obtido de codornas japonesas alojadas em gaiolas de arame galvanizado, com água e comida à vontade. Os ovos foram coletados às oito horas da manhã, identificados, pesados individualmente e acondicionados em bandejas de papelão do tipo polpa, com capacidade para uma dúzia de ovos cada. Os ovos foram distribuídos ao acaso em um esquema fatorial (2 x 2 x 6). Os fatores avaliados foram duas condições de armazenamento (temperatura ambiente, 25 °C) e (geladeira, 10 °C), dois tipos de embalagem (com e sem plástico filme) e 6 períodos de estocagem (1, 7, 14, 21, 28 e 35 dias). Totalizando 24 tratamentos, com 4 repetições de 3 ovos cada. Os parâmetros avaliados nos ovos foram: Unidade Haugh (UH), altura de albúmen (mm), perda de peso (%) e gravidade específica.

Unidade Haugh e altura de albúmen (mm): os ovos foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro para poder medição da altura de albúmen com o uso de um paquímetro com precisão de 0,01mm. A medida foi realizada no ponto médio mais espesso, evitando-se as chalazas. Os valores de UH levam em consideração a relação logarítima entre a altura do albúmen denso e o peso do ovo. Os valores individuais de cada ovo foram aplicados na fórmula:

$$UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7 W^{0,37})$$

donde, H = altura do albúmen em milímetros e W = peso do ovo em gramas (Romanoff e Romanoff, 1963; Silversides *et al.*, 1993).

Perda de peso dos ovos: todos os ovos foram pesados no primeiro dia e armazenados. Após cada período de tempo de armazenagem, foram novamente pesados. Os ovos de ambiente controlado em geladeira, após tempo estipulado, foram colocados em condições de temperatura ambiente, e após atingir um equilíbrio de temperatura foram avaliados juntamente com os ovos de temperatura ambiente. Perda de peso em gramas foi obtida pela diferença entre o peso do dia um e o peso no final do tempo de armazenamento, este valor foi dividido pelo peso do ovo no dia um, para determinar a perda de peso em percentagem.

Gravidade específica: foi obtida por imersão dos ovos em baldes com diferentes soluções salinas, com densidades variando de 1,070; 1,074; 1,078; 1,082 e 1,086 g/mL. Utilizou-se soluções ajustadas por meio de densímetro de Baumé, de acordo com metodologia descrita por Hamilton (1982). Os ovos foram inicialmente postos no balde de 1,070 e assim sucessivamente, até que estes flutuassem na solução. A gravidade específica do ovo foi representada pela solução de menor densidade onde este emergiu. As soluções salinas foram ajustadas com a utilização de um densímetro de Baumé, calibrado periodicamente.

Para análise estatística dos dados foi utilizado o procedimento GLM do SAS. As condições de armazenamento (ambiente ou geladeira) e o tipo de embalagem de ovos (com filme e sem filme) foram avaliados pelo teste de Tukey, enquanto o período de armazenamento em dias foi avaliado através de regressões polinomiais. O nível de significância utilizado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela, estão demonstradas as médias de Unidade Haugh (UH), altura de albúmen e relação perda de peso do ovo (PPO), em diferentes condições de armazenamento e diferentes tipos de embalagens de acordo com o tempo de armazenamento.

Não foram observadas interações ($P > 0,05$) entre dias e filme para altura de albúmen, Unidade Haugh (UH) e Perda de Peso do Ovo (PPO). No entanto, foi observado interação ($P < 0,05$) entre dias e armazenamento dos ovos para altura de albúmen, UH e PPO.

A PPO ocorreu devido à redução de água do albúmen, diminuída em função do período de estocagem, sendo significativamente mais acentuada nos ovos mantidos em temperatura ambiente, conforme verificado na Figura. As equações de regressão linear estimadas para armazenamento em temperatura ambiente (25 °C) e geladeira (10 °C) foram respectivamente:

$$\hat{Y} = 0,629 + 0,1968X \quad (R^2 = 0,98) \quad \text{e} \quad \hat{Y} = 0,5058 + 0,1179X \quad (R^2 = 0,97).$$

Conforme Santos *et al.* (2009), esta perda ocorre devido à altura do albúmen denso e índice da gema, serem fatores interna que têm relação

Tabela. Médias de Unidade Haugh (UH), altura de albúmen (mm) e perda de peso (%) relativo do ovo de codornas de 1 a 35 dias de armazenamento do ovo, conforme o tipo de embalagem (com e sem filme) e tipo de armazenamento (ambiente e geladeira).

Variáveis	Armazenagem (dias)	Condições de Armazenagem			
		Ambiente		Geladeira	
		Sem Filme	Com Filme	Sem Filme	Com Filme
Unidade Haugh	1	89,77 ± 0,56	91,50 ± 0,32	88,84 ± 1,41	88,00 ± 0,11
	7	85,13 ± 1,30	84,04 ± 0,36	88,33 ± 0,90	87,39 ± 0,10
	14	80,84 ± 1,77	81,61 ± 0,80	85,38 ± 0,70	87,22 ± 1,14
	21	76,64 ± 0,81	76,78 ± 0,82	84,31 ± 0,82	85,81 ± 1,63
	28	76,39 ± 0,30	75,70 ± 1,11	84,12 ± 0,10	83,39 ± 3,80
	35	74,36 ± 0,30	71,60 ± 1,40	77,82 ± 0,36	83,10 ± 0,62
	CV (%)	2,89	1,94	1,58	2,51
Médias	80,36 ± 0,82 B		85,31 ± 0,97 A		
Altura de albúmen	1	4,70 ± 0,10	4,95 ± 0,08	4,61 ± 0,29	4,45 ± 0,01
	7	3,87 ± 0,22	3,73 ± 0,02	4,44 ± 0,13	4,35 ± 0,21
	14	3,11 ± 0,22	3,33 ± 0,10	3,91 ± 0,13	4,27 ± 0,03
	21	2,67 ± 0,12	2,60 ± 0,07	3,74 ± 0,06	4,02 ± 0,2
	28	2,59 ± 0,50	2,52 ± 0,18	3,67 ± 0,01	3,63 ± 0,63
	35	2,15 ± 0,07	1,93 ± 0,14	2,78 ± 0,01	3,47 ± 0,09
	CV (%)	11,57	6,99	4,73	8,13
Médias	3,18 ± 0,15 B		3,95 ± 0,15 A		
Perda de peso	1	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00	0 ± 0,00
	7	1,49 ± 0,05	1,51 ± 0,36	1,61 ± 0,11	0,67 ± 0,21
	14	3,29 ± 0,30	4,29 ± 0,62	2,10 ± 0,28	2,67 ± 0,79
	21	5,00 ± 0,21	4,00 ± 0,26	3,00 ± 0,58	3,27 ± 0,29
	28	6,06 ± 0,18	7,19 ± 1,34	4,35 ± 0,52	4,39 ± 0,27
	35	8,83 ± 21,16	7,81 ± 0,60	5,36 ± 1,25	4,51 ± 0,46
	CV (%)	12,68	22,18	22,56	14,63
Médias	4,95 ± 2,51 A		3,19 ± 0,48 B		

^{AB} Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey.

com a perda de peso, uma vez que elementos pertencentes a estas estruturas e a evaporação de água para o meio externo promovem a diminuição do peso do ovo.

Os resultados mostram que, à medida que o período de armazenamento dos ovos aumentou, os valores de altura da albumina e UH diminuíram. Entretanto, quando comparado o tipo de armazenamento em que foram submetidos, observa-se que para altura de albúmen e UH

foram obtidos valores inferiores para os ovos que se encontravam armazenados em temperatura ambiente (25 °C) em comparação com aqueles armazenados em geladeira (10 °C).

Ornellas (1979) e Barbosa *et al.* (2008), constaram que à medida que o ovo envelhece a clara (albúmen) perde sua consistência, isto ocorre porque no ovo diminuiu a quantidade de água, resultando a uma maior fluidez do albúmen denso e conseqüentemente a uma

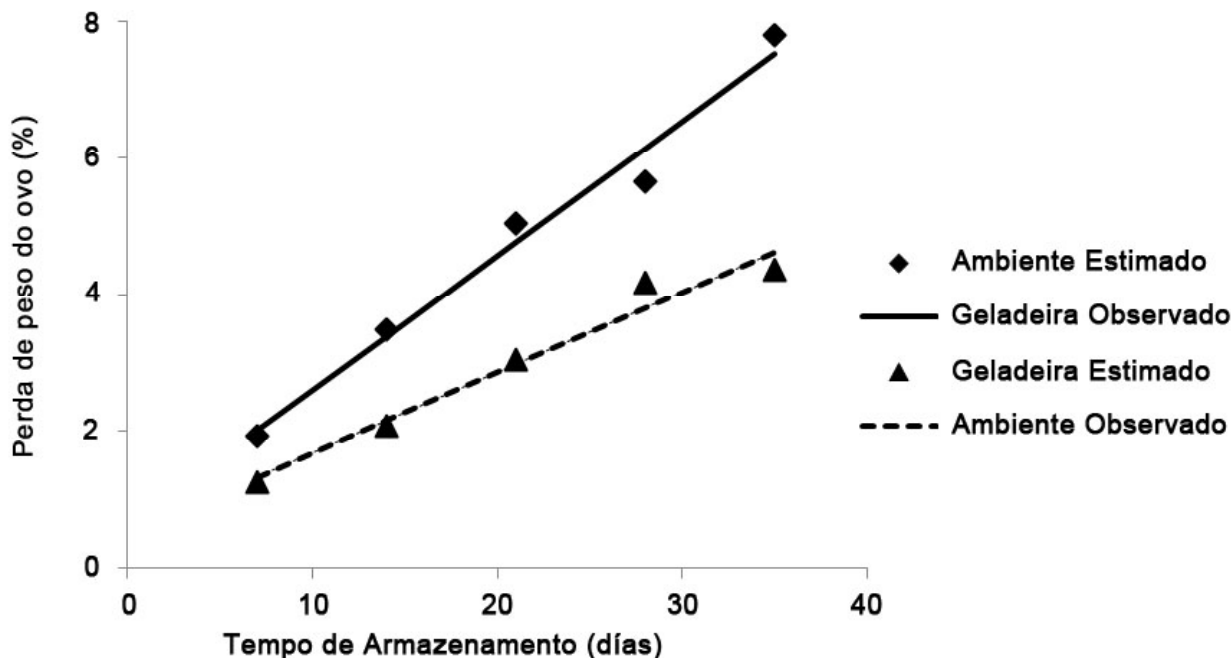


Figura. Perda de Peso relativo dos ovos de codornas observados e estimados, armazenados no ambiente e em geladeira.

redução de sua altura. Neste experimento, os ovos armazenados em geladeira (10°C) apresentaram melhor qualidade. Isto ocorreu porque a refrigeração age inibindo a ação da enzima anidrase carbônica, enzima responsável pelo funcionamento do sistema tampão do H_2CO_3 , retardando o processo de deterioração da qualidade interna do ovo (Romanoff e Romanoff, 1963).

Nesta investigação, os resultados de UH superiores a 72 foram observados ao longo do período e formas de armazenamento; esses valores são considerados padrões de excelência para os ovos (USDA, 2000). Porém é verificado a diminuição dos valores de UH conforme aumentado o período de estocagem, mesmo que mantidos sobre refrigeração, o que pode levar estes ovos a uma maior exposição a contaminação por agentes patogênicos (Alleoni e Antunes, 2001). De forma semelhante, Oliveira *et al.* (2009) verificaram maior diminuição dos valores de UH de ovos de galinhas poedeiras comerciais armazenados a 25 °C quando comparados aos ovos armazenados a 6 °C. Não foram observadas diferenças na gravidade específica variável dos ovos ($P > 0,05$).

CONCLUSÃO

O armazenamento dos ovos em geladeira proporcionou melhor qualidade interna, porém o tipo de embalagem avaliado não proporcionou nenhuma alteração de qualidade.

LITERATURA CITADA

- Alleoni, A. C. C., e A. J. Antunes, 2001. Unidade Haugh como medida da qualidade de ovos de galinha armazenados sob refrigeração. *Sci Agríc*, 58:68-685.
- Austic, R. E. and M. C. Nesheim, Poultry production. 1990. 13 ed. London: Lea Febiger. 332p.
- Barbosa, N. A. A.; N. K. Sakomura, M. O. Mendoca, E. R. Freitas e J. B. K. Fernandes, 2008. Qualidade de ovos comerciais provenientes de poedeiras comerciais armazenados sob diferentes tempos e condições de ambientes. *ARS Vet*, 24:127-133.
- Camerini, N. L.; D. L. Oliveira, R. C. De Silva, J. W. B. Nascimento e D. A. Furtado, 2013. Efeito do sistema de criação e do ambiente

- sobre a qualidade de ovos de poedeiras comerciais. Eng. Agric., 21:334-339.
- ENC - EGG NUTRITION CENTER. 2003. Good Nutrition, Affordable Price of Eggs. Disponível em: http://www.eggtester.com/egg_nutrition.html Acessado em: [Jun. 20, 2015]
- Freitas, L. W.; I. C. L. A. Paz, R. G. Garcia, F. R. Caldara, L. O. Seno, G. A. Felix, N. D. S Lima, V. M. O. S. Ferreira e F. Cavichiolo, 2011. Aspectos qualitativos de ovos comerciais submetidos a diferentes condições de armazenamento. Rev Agraria, 4:66-72.
- Hamilton, R. M. G. 1982. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. Poultry Sci, 61:2022-2039.
- Moreng, R. E.; e J. S. Avens, 1990. Ciência e produção de aves. São Paulo: Roca: pp. 227-249.
- Oliveira, G. E.; T. C. Figueiredo; M. R. Souza, A. L. Oliveira, S. V. Cançado, and M. B. Gloria, 2009. Bioactive amines and quality of egg from dekalb hen under different storage conditions. Poultry Sci, 88:2428-2434.
- Ornellas, L. H. 1979. Técnica dietética. 3. ed. Rio de Janeiro, Júlio C. Reis-Livraria: 114 p.
- Romanoff, A. L. and A. J. Romanoff, 1963. The avian egg. 2 ed. New York: John Wiley e Sons: 918 p.
- Santos, M. S. V.; G. B. Espíndola, R. N. B. Lobo, E. R. Freitas, J. L. L. Guerra e A. B. E. Santos, 2009. Efeito da temperatura e estocagem em ovos. Ciênc Tecnol. Aliment, 29:513-517.
- SAS INSTITUTE. 1996. SAS Users guid: Statistics. Version 6. 12 ed. Cary.
- Silversides, F. G.; F. Twizeyimana and P. Villeneuve, 1993. A study relating to the validity of the Haugh unit correction for egg weight in fresh eggs. J Poultry Sci, 72:760-764.
- Terra, C. 1999. Ovo, a proteína do 3º Milênio. In: Congresso de Produção e Consumo de ovos. São Paulo: Associação Paulista de Avicultura: pp. 8-9.
- USDA. Egg-grading manual. Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/poultry>. Acessado em [Jun.10,2015].
- Xavier, I. M. C., S. V Cançado, T. C. Figueiredo, L. J. C. Lara, A. M. Q. Lana, M. R Souza e N. C. Baião, 2008. Qualidade de ovos de consumo submetidos a diferentes condições de armazenamento. Arq Bras Med Vet Zootec, 60(4): pp.953-959.
- Wardy, W.; D. D. Torrico, H. K. Prinyawiwatkul, W. and F. K. Saalia, 2010. Edible coating affects physic-functional properties and shelf life of chicken eggs during refrigerated and room temperature storage. International J. Food Sci. Tech, 45 pp. 2659-2668.

NORMAS DE PUBLICACIÓN (Instrucción a los Autores)

Zootecnia Tropical publica cuatro categorías de trabajos: Artículos Científicos, Notas Técnicas, Trabajos Especiales y Revisiones Bibliográficas.

a) Artículo Científico: es un texto de carácter académico-científico que muestra el cumplimiento de normas específicas tanto en su estructura general como en su contenido. Cubre una extensa variedad de temas relacionados con la investigación e innovación tecnológica en las diversas disciplinas del conocimiento agrícola, bajo los paradigmas de investigación cuantitativo y cualitativo. Se redactan en vocabulario especializado y formal. Estos deberán ser de carácter innovadores y constituir un aporte al conocimiento científico, tecnológico o metodológico en el área de la producción agropecuaria sustentable y temas afines. La extensión del trabajo no debe exceder de 25 páginas a doble espacio, incluyendo cuadros, figuras y literatura citada. El trabajo debe incluir las siguientes secciones:

Estudios con enfoque cuantitativo:	Estudios con enfoque cualitativo:
- Introducción: Problema, justificación y objetivos.	- Introducción: Objeto de estudio, justificación y propósitos.
- Materiales y Métodos	- Metodología
- Resultados y Discusión	- Resultados y Hallazgos
- Conclusiones	- Conclusiones y/o aproximaciones
- Agradecimientos (opcional)	- Agradecimientos (opcional)
- Literatura citada.	- Literatura citada.

b) Nota Técnica: Son textos cortos que describen técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, especies nuevas, resultados parciales o detalle de un trabajo que pueden tener algún interés en sí, aún desligados del conjunto de trabajo que se está realizando. Se usa también para adelantar información sobre resultados obtenidos u observaciones efectuadas, acerca de las cuales se informara después detalladamente en artículos, boletines o informes técnicos; también se aceptan reseñas de libros recientemente publicados. El mismo no deberá exceder de 12 páginas.

c) Revisiones Bibliográficas: son artículos acerca de temas que por los avances científicos, tecnológicos o metodológicos logrados en los mismos, requieren de una visión más completa, con el fin de facilitar la comprensión de los alcances de dichos adelantos. La información debe ser tratada en forma de disertación, análisis analítico o descriptivo, confrontación o comparación. Estos serán solicitados a especialistas de reconocida trayectoria profesional que hayan realizado aportes en los temas requeridos. El texto se presentará de forma libre y no deberá exceder de 8 páginas.

d) Trabajos Especiales: son trabajos de un área temática actualizada, de orden científico o técnico, así como de eventos científicos de relevancia nacional e internacional, donde entra a discusión temas de aspecto social, académico, científico, de interés de la sociedad. Los temas serán solicitados a especialistas de reconocida trayectoria profesional y que hayan realizado aportes importantes en los temas sugeridos. El texto se presentará de forma libre y no deberá exceder de 8 páginas.

NORMAS DE PUBLICACIÓN (Instrucción a los Autores)

Zootecnia Tropical publica cuatro categorías de trabajos: Artículos Científicos, Notas Técnicas, Trabajos Especiales y Revisiones Bibliográficas.

a) Artículo Científico: es un texto de carácter académico-científico que muestra el cumplimiento de normas específicas tanto en su estructura general como en su contenido. Cubre una extensa variedad de temas relacionados con la investigación e innovación tecnológica en las diversas disciplinas del conocimiento agrícola, bajo los paradigmas de investigación cuantitativo y cualitativo. Se redactan en vocabulario especializado y formal. Estos deberán ser de carácter innovadores y constituir un aporte al conocimiento científico, tecnológico o metodológico en el área de la producción agropecuaria sustentable y temas afines. La extensión del trabajo no debe exceder de 25 páginas a doble espacio, incluyendo cuadros, figuras y literatura citada. El trabajo debe incluir las siguientes secciones:

Estudios con enfoque cuantitativo:	Estudios con enfoque cualitativo:
- Introducción: Problema, justificación y objetivos.	- Introducción: Objeto de estudio, justificación y propósitos.
- Materiales y Métodos	- Metodología
- Resultados y Discusión	- Resultados y Hallazgos
- Conclusiones	- Conclusiones y/o aproximaciones
- Agradecimientos (opcional)	- Agradecimientos (opcional)
- Literatura citada.	- Literatura citada.

b) Nota Técnica: Son textos cortos que describen técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, especies nuevas, resultados parciales o detalle de un trabajo que pueden tener algún interés en sí, aún desligados del conjunto de trabajo que se está realizando. Se usa también para adelantar información sobre resultados obtenidos u observaciones efectuadas, acerca de las cuales se informara después detalladamente en artículos, boletines o informes técnicos; también se aceptan reseñas de libros recientemente publicados. El mismo no deberá exceder de 12 páginas.

c) Revisiones Bibliográficas: son artículos acerca de temas que por los avances científicos, tecnológicos o metodológicos logrados en los mismos, requieren de una visión más completa, con el fin de facilitar la comprensión de los alcances de dichos adelantos. La información debe ser tratada en forma de disertación, análisis analítico o descriptivo, confrontación o comparación. Estos serán solicitados a especialistas de reconocida trayectoria profesional que hayan realizado aportes en los temas requeridos. El texto se presentará de forma libre y no deberá exceder de 8 páginas.

d) Trabajos Especiales: son trabajos de un área temática actualizada, de orden científico o técnico, así como de eventos científicos de relevancia nacional e internacional, donde entra a discusión temas de aspecto social, académico, científico, de interés de la sociedad. Los temas serán solicitados a especialistas de reconocida trayectoria profesional y que hayan realizado aportes importantes en los temas sugeridos. El texto se presentará de forma libre y no deberá exceder de 8 páginas.

trabajo. Para estudios de tipo cuantitativo debe presentar claramente el problema, justificación y los objetivos, un objetivo general y máximo tres objetivos específicos. En el enfoque cualitativo, debe presentar el objeto de estudio, justificación y propósitos. Las referencias en la introducción deben ser limitadas.

- h) Materiales y Métodos** (Enfoque cuantitativo) **o Metodología** (Enfoque cualitativo): Deben ser lo suficientemente claros y precisos para que otra persona especialista en la materia pueda repetir el experimento o metodología. Para estudios con enfoque cuantitativo, debe ser clara y concreta, siguiendo un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas en la investigación y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos usados deberán ser descritos claramente o citados como referencias bibliográficas. En investigaciones de campo deberán incluir además una breve descripción agroclimática de la localidad donde se efectuó el trabajo. Cuando las investigaciones se realicen bajo el paradigma cualitativo, se indica el marco o contexto teórico que describe brevemente conceptos, modelos o enfoques que orientan la investigación y los referentes teóricos relacionados con los discursos de los actores sociales y se indica la naturaleza y tipo de la investigación, los informantes clave, métodos, técnicas y procedimientos de acopio de la información y las técnicas de interpretación de la información y categorización.
- i) Resultados y Discusión** (Enfoque cuantitativo) **o Resultados y Hallazgos** (Enfoque cualitativo): Esta sección debe satisfacer los objetivos que señalaron en la introducción, manejando la información cuantitativa a través de cuadros y figuras a fin de transmitir en forma clara la interpretación

de los resultados obtenidos. La discusión de los datos deberá hacerse basada en los soportes disponibles en la literatura citada del trabajo. En el enfoque cuantitativo, es necesario el uso de la estadística para verificar la validez de los resultados, cuando así se requiera. En el enfoque cualitativo, se presentan de modo organizado y coherente los resultados de la investigación a partir del procedimiento de triangulación.

- j) Cuadros:** Cada cuadro se presentará en archivo separado del texto, haciendo alusión a él por primera vez y seguirán la paginación del texto. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. En general, las variables están en filas y los tratamientos en columnas. Sólo la primera letra de la primera palabra en mayúsculas. Todos los cuadros deben ser citados consecutivamente en el texto. El encabezados de columnas debe ser conciso e indicar claramente las unidades que utilizan abreviaturas estándar. Los asteriscos se usarán para mostrar el nivel de significancia estadística de 0,05 (*), 0,01 (**) y 0,001 (***) y deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Para otras llamadas deberán utilizarse otros símbolos. El título del cuadro debe ser concreto y expresar el contenido del mismo. Notas al pie deben utilizarse con moderación y ser concretas. Los cuadros deben ser elaborados utilizando la tabla del programa *Microsoft Office Word®* o *Microsoft Office Excel®* y no deben ser escaneados.
- k) Figuras:** Se entiende por figura cualquier ilustración que se incluya en el trabajo como: gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, dibujos o mapas u otra representación. Estas no deben ser una duplicación de la información de los cuadros. Todas las figuras deben ser citadas consecutivamente en el texto. El título debe colocarse en la parte

Para publicar trabajos en las revistas científicas del INIA, los usuarios deben cumplir con los siguientes aspectos:

- a) **Idioma:** Los trabajos pueden escribirse en español, inglés o portugués.
- b) **Formato:** Deben ser escritos utilizando preferiblemente los procesadores de palabras *Open Office Writer*® o en su defecto *Microsoft Office Word*® en cualquiera de sus versiones recientes, fuente Arial tamaño 12 a doble espacio para el texto; para las tablas y referencias Arial tamaño 11.
- c) **Título:** El título será en el idioma correspondiente, con su respectiva traducción en el resumen. Se escribe en letras mayúsculas y minúsculas, debe ser claro y conciso. No debe exceder de 20 palabras. Debe identificar y describir concretamente el contenido del trabajo, sin abreviaturas. Sólo deben incluirse los nombres comunes de plantas, insectos u otras especies cuando se requiere, dejando como palabra clave el nombre científico de los mismos. No debe exceder de dos líneas sin puntos, exceptuando cuando exista alguna subdivisión del mismo.
- d) **Autor (es) y Afiliación:** Primer nombre completo, inicial del segundo y apellidos completos. Después de los nombres se usarán números en subíndices para identificar la información del autor o autores tal como: cargo, institución, correo electrónico, dirección postal donde trabajan. Debe usar el nombre completo de la institución con la abreviatura o siglas entre paréntesis. Igualmente, identificar con un asterisco al autor (es) que fungirá como autor de correspondencia. De manera opcional podrá indicarse alguna aclaratoria sobre la fuente de financiamiento de la investigación y proyecto al cual pertenece.
- e) **Resumen, Abstract o Resumem:** Cada trabajo debe tener un resumen de un párrafo no mayor de 250 palabras, que sea claro y comprensible, en los idiomas correspondientes. Para el caso de estudios con enfoque cuantitativo, se debe indicar de manera sucinta: objetivo (s), el problema, los métodos experimentales, resultados y conclusiones, sin sobrecargarlos con valores numéricos; para estudios con enfoque cualitativo se deben indicar: el propósito, objeto de estudio, la metodología, resultados y aproximaciones. Las referencias a cuadros, figuras y las abreviaturas no definidas, no son aceptables. Los entes biológicos y los suelos deben ser identificados por sus nombres científicos cuando son mencionados por primera vez en el resumen y la primera vez que aparezcan en el cuerpo del trabajo, sin repetirse en el cuerpo del artículo. El idioma del resumen será como se indica a continuación:
 - Trabajo en español: resumen en español e inglés (*Abstract*).
 - Trabajo en inglés: resumen en inglés (*Abstract*) y español (Resumen).
 - Trabajo en portugués: resumen en portugués (Resumem) y español (Resumen).
- f) **Palabras clave:** Son aquellas que permiten identificar el tópico que se discute en el texto, tratando de no repetir las que se usen en el título. Debe incluir los nombres científicos de los entes biológicos. Las palabras clave deben permitir localizar el trabajo en los índices y bases de datos agrícolas como el Sistema Agris de la FAO. Máximo seis (6) palabras.
- g) **Introducción:** Su contenido debe expresar además de la importancia del tema a tratar, una breve referencia de los antecedentes que motivaron a la realización del trabajo; puede incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del

- *Suplemento de revista*

Leng R. A. 1993. Overcoming low productivity of ruminants in tropical developing countries. *J. Anim. Sci.*, 71(Suppl. 1):284. (Abstracts).

- *Libros*

Maynard L. A., J. K. Loosli, H. F. Hintz y R. G. Warner. 1989. *Nutrición animal*. Ed. McGraw-Hill, S. A., México. 7ma Ed.

- *Capítulos de libros*

Toledo J.M. y R. Schultze-Kraft. 1985. Metodología para la Evaluación Agronómica de Pastos Tropicales. *En: Toledo J.M. (Ed.). Manual para la Evaluación Agronómica*. R.I.E.P.T. CIAT, Cali, Colombia, pp. 91-110.

- *Congresos, Simposia, Reuniones y/o Memorias*

Bracho M., O. Abreu F. y A. Del Villar. 1992. Influencia del peso al parto sobre la producción de leche en vacas doble propósito. I Jornadas Técnicas FONAIAP, Maracaibo, Venezuela. 612 p. (Resúmenes).

Espinoza F., Y. Díaz, P. Argenti, E. Perdomo y L. León. 1998. Estudios preliminares del género *Pachyrhizus* DC. En Venezuela. *En: Sørensen M., J. Estrella, O. Hamann y S. A. Ríos (Eds.). Proceedings of 2nd International Symposium on Tuberous Legumes*. Celaya, Guanajuato, México, pp. 139-154.

- *Tesis y Trabajos de Ascenso*

Noguera E. 1985. Evaluación del comportamiento productivo y reproductivo mediante análisis de registros del rebaño de una estación experimental dedicada a la producción de leche. Tesis de *M.Sc.* Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay, Venezuela. 93 p.

García A. 1991. Evaluación del comportamiento productivo y reproductivo del rebaño de vacas inscritas en el ROPL en el período 1986 1990. Trabajo de Ascenso. Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracaibo, Venezuela. 33 p.

- *Revistas y otras fuentes electrónicas:*

Los documentos electrónicos se tratan como una variante de la publicación impresa tradicional. En forma electrónica se encuentran actualmente monografías, publicaciones periódicas, mensajes, conferencias, reuniones, bases de datos, programas de computadora u otros. Por tanto se seguirán las normas establecidas para cada uno de ellos y además se incluirán otros elementos que permitan identificar el medio en que están disponibles: en línea, disco compacto, disquetes, mensajes electrónicos, cintas magnéticas. La fuente de información para el documento electrónico es el documento mismo. Si éste carece de información, puede ser tomada del recipiente (caja, sobre, otro), sitio web, o material impreso complementario.

Venezian, E. y E. Muchnik. 1994. Structural adjustments and agricultural research in Chile. ISNAR Briefing paper N° 9. Disponible en línea: <http://www.cgiar.org/isnar> [Fecha de consulta].

- *Publicaciones Misceláneas*

Argenti P. y F. Espinoza. 1993. *Leucaena (Leucaena leucocephala)*. Pub. FONAIAP (Serie B), Maracay, Venezuela. 20 p.

Para publicar los artículos en las revistas científicas se debe cumplir con las siguientes convenciones tipográficas y estilo:

inferior de la figura. Para las fotografías y otros dibujos digitalizados, los mismos deberán procesarse en formato JPG o TIFF. En cuanto a los gráficos (líneas, barras, circular, entre otros) se recomienda que sean modificables, adjuntando la información con la cual se elabora la figura, de tal manera que cuando se requiere pueda ser mejorada en la diagramación de la revista.

l) Conclusiones (Estudios cuantitativos) y/o Aproximaciones (Estudios cualitativos).

Deben ser concisas y concretas, basadas en los objetivos del trabajo. En el enfoque cualitativo, las aproximaciones no se limitan a exponer resultados aislados de la investigación como tal, sino que también ilustra el proceso por medio del cual se llegó a las estructuras particulares de los objetos de estudios y a la estructura general o estructuras generales, que los integran

m) Agradecimientos (opcional): Se utilizarán para reconocer a aquellas personas que han hecho contribuciones sustanciales al trabajo o han prestado asistencia técnica. Igualmente para reconocer a las instituciones que han brindado apoyo financiero a la investigación. El párrafo de esta sección debe ser breve, máximo 10 líneas.

n) Literatura citada: Es responsabilidad del autor asegurarse de que todas las referencias sean correctas. Estas deben ser relevantes para el contenido y todos deben estar citados en el texto. Los elementos que componen la cita bibliográfica son básicamente los siguientes: Autor(es)/Año de publicación/ Título:/subtítulo/(Tipo de medio)/Edición/ Ciudad y país de publicación/Casa editora / Fecha en que se consultó el material para los documentos en línea/ Descripción física/ Disponibilidad y acceso para los documentos en línea/(Nota de serie).

o) Se debe presentar en orden alfabético. En caso de un mismo autor en años diferentes, se ordenará de acuerdo al año y en caso de ser igual, según la primera letra del título del trabajo. Se deberá colocar todos los autores integrantes del trabajo citado. Los trabajos que no han sido publicados no deben referirse en la bibliografía, sino en el texto, colocando inmediatamente después del apellido y entre paréntesis el tipo de fuente donde provino la información (comunicación personal, datos inéditos) y el año en el cual se efectuó la consulta, separado por una coma. Si en el texto, dado el ordenamiento de la frase, se cita el apellido del autor, inmediatamente deberá ser colocado el año correspondiente entre paréntesis. En caso de dos autores se deberán colocar los dos apellidos, separados por una y para el caso de tres o más autores, bastará citar el apellido del primero, seguido de la abreviatura latina *et al.* y el año correspondiente entre paréntesis.

p) Las referencias deberán contener todos los elementos que permitan su fácil localización, cuya variación está regulada por el tipo de publicación citada. Se seguirán las Normas Técnicas del IICA y CATIE y los ejemplos que se dan a continuación:

- *Revista (ya publicada)*

Sanabria D., J. G. Fariñas, U. Manrique, Z. Flores e Y. Reina. 1995. Adaptabilidad de gramíneas y leguminosas forrajeras en un paisaje de Mesa del estado Bolívar. *Zootecnia Trop.*, 13(1):63-76.

- *Revista (aceptado, pero no publicado)*

Carrillo, V., M. Rodríguez, U. Manrique, D. Vásquez, E. Rivas y J. Fariñas. 2000. Efecto de la fertilización nitrogenada, edad y época de corte sobre el valor nutritivo del pasto *Andropogon gayanus*. *Zootecnia Trop.* (En prensa).

Ácido Graso Volátil	AGV	Índice de Conversión	IC
<i>Ad libitum</i>	Ad lib.	Kilocalorías	Kcal
Aminoácido	aa	Kilogramo	Kg
Bar	bar	Kilogramo/Hectárea	Kg ha ⁻¹
Bloques Multinutricionales	BM	Kilometro	Km
Centímetro	cm	Litro	l
Consumo de Materia Seca	CMS	Materia Orgánica	MO
Coeficientes de Variación	CV	Materia Seca	MS
Coeficiente de Correlación	r	Metro	m
Coeficiente de Determinación	R ²	Metro Cuadrado	m ²
Decímetro	dm	Metro Cúbico	m ³
Desviación Estándar	DE	Metros Sobre el Nivel del Mar	m.s.n.m.
Diferencia Predicha	DP	Micra	μ
Digestibilidad <i>in vivo</i>	DIV	Micromilímetro	microm
Digestibilidad <i>in vitro</i>	DIV	Miliequivalentes	Meq por 100g
Energía Digestible	ED	Miligramo	mg
Energía Metabolizable	EM	Mililitros	ml
Error Estándar	EE	Mililitros por Litros	ml/l
Extracto Libre de Nitrógeno	ELN	Milímetro	mm
Fibra Ácido Detergente	FAD	Minuto	min
Fibra de Detergente Neutra	FDN	Número de la Población	N
Ganancia Diaria de Peso	GDP	Nitrógeno No Proteico	NNO
Grado Absoluto	°abs	Partes por Millón	ppm
Grados Centígrados	°C	Peso al Nacer	PN
Grados Fahrenheit	°F	Peso al Destete	PD
Grados de Libertad	gl	Porcentaje	%
Grado Kelvin	°K	Por Mil	‰
Gramo	g	Probabilidad	P
Gramo por Kilogramo	g kg ⁻¹	Proteína Cruda	PC
Gramos por Litros	g/l - g.l	Segundo	s
Gramo Joule	J	Tonelada	t
Hectárea (s)	ha	Tonelada/Hectárea	t ha ⁻¹
Heredabilidad	h ²	Tonelada Métrica	Tm

- a) Título del trabajo en negrilla con la primera letra en mayúscula. Nombres de los autores en minúsculas con mayúsculas las iniciales y sus procedencia en cursiva.
- b) Los títulos principales de sección (Resumen, Introducción, Materiales y Métodos o Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos y Literatura Citada se indican en negrita y colocado en el margen izquierdo. Interlineado en 1.5 y primera letra en mayúscula.
- c) Los subtítulos en cursiva y sólo la letra inicial en mayúscula. Las dos clases son: (i) cursiva secundarios un puntuado, partidas hombro; (ii) cursiva, texto y puntuado run-on (títulos secundarios).
- d) La secuencia es siempre (i) a (ii).
- e) Los Cuadros y Figuras se escriben con las letras C y F en mayúscula.
- f) Abreviaturas: cuando las abreviaturas se definen en el texto, deben ser escritas en mayúscula y negrilla en la primera aparición.
- g) Los entes biológicos deben ser identificados por sus nombres científicos completos (binomial) en el título así como en el resumen, abstract o resumem y la primera vez que se mencionan en el cuerpo de trabajo.
- h) Los nombres de productos comerciales deben evitarse, prefiriéndose el nombre genérico. Cuando ello sea posible utilice seguido del símbolo®.
- i) Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de virgulillas o comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, en el abstract o resumem y en el cuerpo del artículo.
- j) Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es muy conocido deberá señalarse la familia.
- k) Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de ellos, y sólo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios Celsius, Kelvin, Joule.
- l) Los decimales deben separarse con coma (,) y no con punto (.). Las unidades de mil o millón se indicarán con un espacio en blanco.
- m) La abreviatura correspondiente a Agronomía Tropical es Agronomía Trop. y de Zootecnia Tropical es Zootecnia Trop.
- n) Los símbolos a usar son: