



**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. 3 2016

ZOOTECNIA TROPICAL Es publicada para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción animal: bovinos, suínos, 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.gob.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

Belkys Vásquez	Editora Jefe
	Editor Asistente
Oscar de la Rosa	Editor Técnico
Eva Candelo	Seguimiento
Ana Beatriz Briceño	Diagramación

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: dyppublicaciones@inia.gob.ve

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Juan Pablo Buenaño
 Giomar Blanco
 Lorena Vivas Ríos

Yenny Urrea
 María Fernanda Sandoval

Presidente
Gerente General
Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica
Gerente de Producción Social
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
Glaforo 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° 3**Artículos Científicos**

de Mello J. L. M., Giampietro-Ganeco A., Ferrari F. B., de Souza R. A. y Borba H. Qualidade física, química e sensorial de ovos de codorna preservados em soluções contendo antioxidantes naturais.....	181
Calidad física, química y sensorial de los huevos de codorniz conservados en soluciones conteniendo antioxidantes naturales.....	181
Machín Pire C. C., Medina Gutierrez G. M., Pérez C. G. y López Ramón J. A. Diversidad genética del virus de la fiebre aftosa serotipo A en Venezuela (2001-2013).....	191
de Mello J. L. M. y Borba H. Efeito da defumação e da inclusão de alecrim como antioxidante em hambúrgueres de carne caprina armazenados por até 30 dias	201
Efecto del ahumado y de la inclusión del romero como antioxidante en la hamburguesa producida con carne de cabra, almacenada por hasta 30 días	201
Ribeiro F. M., Soares Machado A., de Oliveira Silva L., Marcondes Godoy M., Lopes de Farias Júnior O., Diniz Buso W. H. y Menezes de Almeida E. Produção e composição do leite e digestibilidade da dieta em vacas mestiças alimentadas com caroço de algodão	213
Producción y composición de leche y digestibilidad de la dieta en vacas mestizas alimentadas con semilla de algodón.....	213
Zabaleta J. P., Rutz F., Ancuti M., Maier J. C., Contreira C., Lisboa Santos V. y Kurz L. Qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com dietas contendo farinha da parte aérea da mandioca.....	223
Calidad de huevos de gallinas ponedoras alimentadas con dietas conteniendo harina de hojas y ra- mas de yuca	223
Rincón Rodríguez D. D., Méndez López Y. C. R. y Poleo Camejo G. A. Efecto del pH y de la osmolalidad sobre la activación y tiempo de movilidad espermática en cachamas y bagres suramericanos.....	233
Álvarez Castillo R. A., Díaz Lugo Á. A., González Rodríguez L. V., Méndez Martínez J. A., y Guanipa Maldonado M. V. Estructura de tallas y aspectos reproductivos del Corocoro, en el Golfo de Venezuela	243

Nota Técnica

Pacheco Requena A. M., Benítez M. V., Quijada Láres T. E. y Quijada Pacheco J. E. Seroprevalencia de brucelosis en el personal de plantas de beneficio del estado Lara, Venezuela. Estudio exploratorio.....	243
Instrucciones al autor	263

TABLE OF CONTENTS Vol. 34 N° 3

Scientific Articles

de Mello J. L. M., Giampietro-Ganeco A., Ferrari F. B., de Souza R. A. and Borba H. Physical, chemical and sensory quality of quail eggs preserved in solutions containing natural antioxidants	181
Machín Pire C. C., Medina Gutierrez G. M., Pérez C. G. and López Ramón J. A. Genetic diversity of foot-and-mouth disease virus serotype A in Venezuela, (2001-2013)	191
de Mello J. L. M. and Borba H. Effect of smoking process and including rosemary as an antioxidant in goat meat burgers stored for up to 30 days.....	201
Ribeiro F. M., Soares Machado A., de Oliveira Silva L., Marcondes Godoy M., Lopes de Farias Júnior O., Diniz Buso W. H. and Menezes de Almeida E. Production and composition of milk and digestibility of the diet in mestizo cows fed with cottonseed	213
Zabaleta J. P., Rutz F., Anciuti M., Maier J. C., Contreira C., Lisboa Santos V. and Kurz L. Eggs quality of laying hens fed with diets containing cassava leaves and branches flour	223
Rincón Rodríguez D. D., Méndez López Y. C. R. and Poleo Camejo G. A. Effect of pH and osmolality on activation and time sperm motility in pacuand and South Americans catfishes	233
Álvarez Castillo R. A., Díaz Lugo Á. A., González Rodríguez L. V., Méndez Martínez J. A., and Guanipa Maldonado M. V. Size structure and reproductive aspects of Corocoro, in the Venezuela Gulf	243
Technical Note	
Pacheco Requena A. M., Benítez M. V., Quijada Láres T. E. and Quijada Pacheco J. E. Brucellosis seroprevalence in slaughter houses personnel in Lara state, Venezuela. Exploratory study.....	255
Instructions to the author	263

Qualidade física, química e sensorial de ovos de codorna preservados em soluções contendo antioxidantes naturais

Physical, chemical and sensory quality of quail eggs preserved in solutions containing natural antioxidants

Calidad física, química y sensorial de los huevos de codorniz conservados en soluciones conteniendo antioxidantes naturales

Juliana L. M. de Mello^{1*}, Aline Giampietro-Ganeco¹, Fábio B. Ferrari¹, Rodrigo A. de Souza¹ e Hirasilva Borba¹

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP). Departamento de Tecnologia, Jaboticabal – São Paulo, Brasil. Correio eletrônico: julianalolli@zootecnista.com.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de ácidos orgânicos e especiarias, como agentes antioxidantes naturais, sobre as características físicas, químicas e sensoriais de ovos de codorna em conserva. Foram utilizados ovos de codorna cozidos, acondicionados nas soluções de conserva (vinagre + alecrim ou orégano; ácido acético e ácido cítrico + alecrim ou orégano) e armazenados por até 28 dias. Foram avaliadas cor e oxidação lipídica da gema; pH, maciez e análise sensorial dos ovos inteiros; e pH das soluções de conserva. Gemas de ovos armazenados apresentaram maior oxidação lipídica (1,047 mg MDA/kg), menor intensidade de amarelo (26,84), menor pH (3,97) e menor maciez (0,664 kgf) do que as gemas de ovos recém-cozidos (0,803 mg MDA/kg, 31,89, 6,36 e 0,342 kgf, respectivamente). As gemas de ovos armazenados em solução de conserva contendo vinagre e alecrim apresentaram a menor oxidação lipídica (0,829 mg MDA/kg) quando comparadas às de ovos armazenados nas demais soluções, enquanto ovos armazenados em conserva contendo vinagre e orégano apresentaram maciez (0,439 kgf) semelhante à de ovos recém-cozidos (0,342 kgf). O armazenamento promove alterações na coloração interna, redução da maciez e o aumento da oxidação lipídica. A adição de especiarias às conservas pode influenciar o sabor, a aparência geral e, conseqüentemente, a aceitação do consumidor, entretanto, favorece a preservação da maciez. Soluções de conserva contendo vinagre e alecrim retardam a oxidação lipídica de ovos de codorna cozidos.

Palavras-chave: *Coturnix coturnix japonica*, armazenamento, especiarias, oxidação, salmoura.

ABSTRACT

This Study evaluated the effect of including organic acids and spices, as natural antioxidant agents, on the physical, chemical and sensory quality of quail eggs into conservant solutions. Cooked quail eggs were placed and stored into pickling solutions (vinegar + rosemary or oregano; acetic and citric acids + rosemary or oregano) for 28 days. Were evaluated lipid oxidation and egg yolk color, whole eggs pH and softness, pH of pickling solutions, as well as sensory analysis of whole eggs. Yolk of stored eggs had higher lipid oxidation (1.047 mg MDA/kg) and lower yellowness (26.84), pH (3.97) and softness (0.664 kgf), than yolk from freshly boiled eggs (0.803 mg MDA/kg, 31.89, 6.36 and 0.342 kgf, respectively). Stored yolk in conservation solutions containing vinegar and rosemary present lower lipid oxidation (0.829 mg MDA/kg), compared to stored eggs in other solutions; while those stored with vinegar and oregano showed similar softness (0.439 kgf) to that in fresh boiled eggs (0.342 kgf). Storing promotes changes in internal coloration, reduction of softness and increasing of lipid oxidation. The addition of spices to pickling solution affects the flavor, general aspect and consequently, consumer acceptance, however preserves softness. Pickling solutions containing vinegar and rosemary slows the lipid oxidations process in cooked quail eggs.

Recibido: 31/05/16 Aprobado: 21/02/18

Keywords: *Coturnix coturnix japonica*, oxidation, pickles, spice, storage.

RESUMEN

Este estudio evaluó el efecto de la inclusión de ácidos orgánicos y especias como agentes antioxidantes naturales, sobre la calidad física, química y sensorial de huevos de codorniz en soluciones de conservación. Huevos de codorniz cocidos se almacenaron en soluciones de encurtir (vinagre + romero u orégano; ácido acético y ácido cítrico + romero u orégano) durante 28 días. Se evaluaron la oxidación de lípidos y el color de la yema, el pH y suavidad de huevos enteros, el pH de las soluciones de encurtir, además del análisis sensorial de huevos enteros. Las yemas de huevos almacenados presentaron mayor oxidación de lípidos (1,047 mg MDA/kg), y menores valores de coloración amarilla (26,84), pH (3,97) y suavidad (0,664 kgf) comparadas con las yemas de huevos recién cocidos (0,803 mg MDA/kg, 31,89, 6,36 e 0,342 kgf, respectivamente). Yemas almacenadas en solución de conservación que contenía vinagre y romero presentaron menor oxidación de lípidos (0,829 mg MDA/kg), comparadas con yemas de huevos almacenados en otras soluciones; mientras que los almacenados en vinagre y orégano mostraron suavidad (0,439 kgf) similar a la de huevos recién cocidos (0,342 kgf). El almacenamiento promueve alteraciones en la coloración interna, reducción de la suavidad y aumento en la oxidación de lípidos. La adición de especias a las soluciones de conservación influye en el sabor, aspecto general y consecuentemente, la aceptación del consumidor, sin embargo, favorece la preservación de la suavidad. Soluciones de conservación con vinagre y romero retardan la oxidación lipídica de huevos de codorniz cocidos.

Palabras clave: *Coturnix coturnix japonica*, almacenamiento, escabeche, especias, oxidación.

INTRODUÇÃO

A coturnicultura brasileira nos últimos anos tem despertado grande interesse de produtores, empresas e pesquisadores, por exigir investimentos e mão-de-obra inferiores aos de outras culturas (Móri *et al.*, 2005). Dados do último censo agropecuário divulgado pelo

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontam que, em 2011, a produção de ovos de codorna japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) foi de 260 milhões de dúzias, sendo que o Estado de São Paulo concentrou 60% da produção nacional.

De produto exótico a ingrediente popular, as indústrias passaram a processar e distribuir ovos de codorna para restaurantes e supermercados também na forma de conserva. Para atender ao mercado foi preciso inovar com produtos práticos e que agradassem ao consumidor. Além disso, ainda é possível associar os nutrientes contidos nos ovos com processos tecnológicos que proporcionem maior vida de prateleira e melhorem suas características físicas, químicas e sensoriais (Coelho *et al.*, 2012), como o uso de tecnologias de conservação e industrialização que reduzam as perdas de ovos *in natura* e prolonguem o tempo de estocagem.

A utilização de antioxidantes é importante para proteger os componentes insaturados, principalmente óleos e gorduras, retardando a deterioração, de modo a evitar sabor e odor indesejáveis e preservar a palatabilidade, a aceitabilidade e o valor nutricional dos alimentos. Os antioxidantes mais utilizados pela indústria podem ser naturais ou sintéticos (Ramalho e Jorge, 2006), entretanto, a preocupação com os prejuízos que os sintéticos podem causar à saúde de quem consome tem impulsionado pesquisas que avaliam a eficiência de ervas como antioxidantes naturais (Sebranek *et al.*, 2005), que podem minimizar a oxidação dos lipídios e agregar valor aos produtos (Shan *et al.*, 2009). Diante do exposto e da carência de pesquisas sobre a qualidade de ovos de codorna conservados na forma de pickles, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da inclusão de diferentes ácidos orgânicos na solução de conserva, bem como o da adição de especiarias como agentes antioxidantes naturais, sobre as características físicas, químicas e sensoriais de ovos de codorna em conserva.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo das amostras

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal

da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°08' S, 48°11' W, 583 m altitude). Foram utilizados 1080 ovos de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), adquiridos em uma cooperativa de produtores do Estado de São Paulo após uma semana da data de postura. Os ovos foram cozidos em água fervente durante cinco minutos contados a partir do início da fervura, e descascados manualmente. Em sacos plásticos (0,1 mm, <85 O₂ cc/m²/24 h a 23 °C) contendo quinze ovos cozidos cada, foram adicionados 400 mL de solução de conserva e as especiarias testadas. As embalagens foram fechadas em seladora Selovac 200-B (Selovac, São Paulo, SP, Brasil) e armazenadas em temperatura ambiente (que variou entre 20 e 25 °C) durante toda a execução do trabalho. As amostras utilizadas neste estudo não foram submetidas a nenhum tipo de tratamento térmico. As soluções de conserva estudadas são mostradas na Tabela 1.

Métodos utilizados

Antes do armazenamento e após 14 e 28 dias foram analisadas as variáveis cor (L* - luminosidade; a* - intensidade de vermelho; b* - intensidade de amarelo) e oxidação lipídica da gema; pH, maciez e análise sensorial dos ovos inteiros; e pH das soluções de conserva. A coloração foi determinada na parte interna da gema utilizando um colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Inc., Osaka, Japão), após um corte transversal na região mediada do ovo. Para avaliar o pH foi utilizado peagâmetro digital Testo 205 (Testo Inc., Sparta, NJ, USA)

cujo eletrodo foi introduzido nos ovos cozidos inteiros e em béqueres contendo as soluções da conserva. A maciez foi analisada através do dispositivo “Warner-Bratzler”, acoplado ao texturômetro “Texture Analyser TA-XT2i” (Stable Micro Systems, LTD., Godalming, UK), o qual determinou a força (kgf) necessária para cortar os ovos ao meio. A oxidação lipídica foi determinada através da quantificação das substâncias reativas ao ácido 2-tiubarbitúrico (TBARS), expressa em mg de malonaldeído/kg de amostra segundo metodologia proposta por Vyncke (1970).

A análise sensorial foi realizada com painel de dez provadores treinados, que receberam amostras devidamente identificadas com números aleatórios de três dígitos, das quais foram avaliados os atributos aparência geral, odor, coloração interna, sabor, maciez e aceitação global, utilizando uma escala hedônica de nove pontos, com atribuição das seguintes notas: 1 - desgostei muitíssimo, 2 - desgostei muito, 3 - desgostei regularmente, 4 - desgostei ligeiramente, 5 - indiferente, 6 - gostei ligeiramente, 7 - gostei regularmente, 8 - gostei muito e 9 - gostei muitíssimo.

Análise estatística

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x2+1 (seis soluções de conserva, dois períodos de armazenamento e um grupo testemunha, avaliado logo após a cocção e antes de produzir as conservas) com cinco repetições de 15

Tabela 1. Soluções utilizadas na conserva de ovos de codorna.

Solução	Ácidos orgânicos	NaCl	Antioxidante natural	
			Orégano	Alecrim
S1	20% Vinagre comercial	5%	-	-
S2	20% Vinagre comercial	5%	-	0,15%
S3	20% Vinagre comercial	5%	0,15%	-
S4	2% Ácido acético + 0,3% Ácido cítrico	5%	-	-
S5	2% Ácido acético + 0,3% Ácido cítrico	5%	-	0,15%
S6	2% Ácido acético + 0,3% Ácido cítrico	5%	0,15%	-

ovos cada. Os resultados foram analisados pelo procedimento "General Linear Model's" do Statistical Analysis System (SAS Institute Inc, Cary, NC), submetidos à análise de variância e, em caso de significância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 são mostrados os resultados médios obtidos para luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) da gema de ovos de codorna armazenados em diferentes soluções de conserva por até 28 dias. Gemas de ovos armazenados em conserva (fatorial) apresentaram maiores valores de L^* e de a^* e menor valor de b^* do que as gemas de ovos recém-cozidos (testemunha). De modo geral, a descoloração das gemas (aumento de L^* e redução de b^*) pode ser provocada pela adição de sal às conservas e por processos oxidativos (Souza *et al.*, 2012).

Houve interação significativa entre solução e armazenamento para as variáveis L^* , a^* e b^* , cujos desdobramentos são mostrados na Tabela 3. Com a adição de ervas às conservas ocorreu redução da luminosidade e da intensidade de amarelo durante o armazenamento, principalmente nas análises realizadas após 28 dias, uma vez que as ervas conferiram coloração marrom aos ovos e que resultou no aumento do valor de a^* . Houve variação de cor entre ovos armazenados em diferentes soluções de conserva.

Na Tabela 4 são mostrados os resultados médios obtidos para pH dos ovos, pH da solução de conserva, maciez (força de cisalhamento - FC) e oxidação lipídica (TBARS). Ovos armazenados apresentaram menor pH, menor maciez ($>$ FC) e maior oxidação lipídica do que ovos recém-cozidos. Arafa (1983) ao estudar o efeito da utilização de diferentes embalagens na qualidade de ovos de galinha em conserva concluíram que o armazenamento resultou em maiores valores de TBARS, maior força de cisalhamento (FC)

Tabela 2. Luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) da gema de ovos de codorna em conserva armazenados por até 28 dias.

	L^*	a^*	b^*
Testemunha (T)	88,03 ^B	-6,75 ^B	31,89 ^A
Fatorial (F)	89,64 ^A	-4,44 ^A	26,84 ^B
Solução (S)			
S1	89,90	-5,17	27,78
S2	89,01	-4,47	26,96
S3	88,59	-4,16	27,58
S4	90,54	-4,75	26,79
S5	90,07	-4,13	25,87
S6	89,70	-3,95	26,03
Armazenamento (A)			
14 dias	90,28	-5,15	28,17
28 dias	88,99	-3,73	25,51
P-value (TxF)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (S)	<0,0001	<0,0001	0,0871
P-value (A)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (Int. SxA)	<0,0001	<0,0001	0,0002

^{A,B}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Int.: Interação (interações descritas na Tabela 3).

Tabela 3. Desdobramento da interação entre solução e armazenamento para as variáveis luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*) e intensidade de amarelo (b*).

L*						
Armazenamento	Solução					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
14 dias	89,90 ^{Abc}	89,49 ^{Ac}	89,47 ^{Ac}	90,74 ^{Aab}	91,18 ^{Aa}	91,00 ^{Aa}
28 dias	89,99 ^{Aa}	88,54 ^{Abc}	87,13 ^{Bc}	90,34 ^{Aa}	88,96 ^{Bb}	88,39 ^{Bbc}
a*						
Armazenamento	Solução					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
14 dias	-5,27 ^{Aab}	-5,46 ^{Bb}	-4,91 ^{Ba}	-5,31 ^{Bb}	-5,16 ^{Ba}	-4,78 ^{Ba}
28 dias	-5,07 ^{Ac}	-3,49 ^{Aa}	-3,42 ^{Aa}	-4,18 ^{Ab}	-3,11 ^{Aa}	-3,12 ^{Aa}
b*						
Armazenamento	Solução					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
14 dias	26,68 ^{Aa}	29,17 ^{Aa}	29,63 ^{Aa}	28,02 ^{Aa}	28,39 ^{Aa}	27,09 ^{Aa}
28 dias	28,89 ^{Aa}	24,75 ^{Bb}	25,53 ^{Bab}	25,56 ^{Aa}	23,34 ^{Bb}	24,97 ^{Ab}

^{A,B}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ^{a,b,c}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4. pH do ovo, pH da solução de conserva, maciez (FC) e oxidação lipídica (TBARS) de ovos de codorna em conserva armazenados por até 28 dias.

	pH do ovo	pH da Solução	FC (kgf)	TBARS (mg MDA/kg)
Testemunha (T)	6,36 ^A	2,41 ^B	0,342 ^B	0,803 ^B
Fatorial (F)	3,97 ^B	3,80 ^A	0,664 ^A	1,047 ^A
Solução (S)				
S1	4,26	4,10 ^A	0,674	1,127 ^A
S2	4,27	4,09 ^A	0,628	0,829 ^B
S3	4,27	4,09 ^A	0,439	1,132 ^A
S4	3,66	3,51 ^B	0,919	1,169 ^A
S5	3,67	3,52 ^B	0,770	1,045 ^A
S6	3,66	3,49 ^B	0,556	0,982 ^{AB}
Armazenamento (A)				
14 dias	3,98	3,63 ^B	0,602	0,676 ^B
28 dias	3,95	3,98 ^A	0,726	1,419 ^A
P-value (TxF)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (S)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0267
P-value (A)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (Int. SxA)	0,0007	0,9125	<0,0001	0,6165

^{A,B}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). Int.: Interação (interações descritas na Tabela 5).

do albúmen e menor força de cisalhamento da gema.

Neste estudo a solução de conserva apresentou maior pH após o armazenamento. Soluções contendo vinagre apresentaram pH superior ao de soluções contendo ácido acético e ácido cítrico. As gemas de ovos armazenados em solução de conserva contendo vinagre e alecrim (S2) apresentaram menor oxidação lipídica do que os demais, o que indica um maior efeito antioxidante da conserva utilizada. Considerando o armazenamento dos ovos por 14 e 28 dias, de modo geral, ocorreu o aumento do pH das soluções utilizadas nas conservas, e da oxidação lipídica das gemas, um fenômeno espontâneo e inevitável que é um dos principais causadores da deterioração em alimentos.

Houve interação significativa entre solução e armazenamento para as variáveis pH do ovo e maciez (FC), cujos desdobramentos são mostrados na Tabela 5. Não houve variação no pH dos ovos durante o armazenamento entre 14 e 28 dias, com exceção dos ovos armazenados em solução contendo ácido acético, ácido cítrico e alecrim (S5). Faria *et al.* (2010) ao avaliarem as características físicas e químicas de ovos de codorna conservados na forma de pickles verificaram redução dos valores de pH durante 28 dias estocagem.

Soluções contendo vinagre apresentaram pH mais elevado do que soluções contendo ácido

acético e ácido cítrico, após 14 e 28 dias de armazenamento. Faria *et al.* (2010) observaram que o pH de ovos armazenados em conservas elaboradas com 2% de ácido acético + 0,3% de ácido cítrico, sem e com adição de conservantes, foram respectivamente iguais a 3,77 e 3,82. Neste estudo não foram encontradas diferenças ($P>0,05$) de pH entre ovos armazenados nas soluções S4, S5 e S6 (contendo ácido acético e ácido cítrico, com ou sem antioxidantes naturais) nas análises realizadas após 14 e 28 dias de armazenamento.

Faria *et al.* (2010) observaram que ovos apresentaram pH igual a 7,65, enquanto ovos em conserva apresentaram pH médio igual a 4,07, valores próximos aos encontrados neste estudo. Os mesmos autores afirmaram que a manutenção do pH ácido é importante para o impedimento do desenvolvimento microbiológico, pois pH acima de 4,5 representa risco para o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes de alimentos como *Salmonella* spp., *Listeria Monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*, que se desenvolvem em pH próximo à neutralidade. Utilizar soluções que promovam redução do pH a faixas não favoráveis ao desenvolvimento bacteriano impede que microrganismos patogênicos possam ser veiculados através dos alimentos.

Souza *et al.* (2012) ao estudarem a qualidade de ovos de codorna em conserva de solução de ácido acético armazenadas por até 120 dias,

Tabela 5. Desdobramento da interação entre solução e armazenamento para as variáveis pH e maciez (FC) do ovo.

pH do ovo						
Armazenamento	Solução					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
14 dias	4,26 ^{Aa}	4,29 ^{Aa}	4,27 ^{Aa}	3,68 ^{Ab}	3,73 ^{Ab}	3,67 ^{Ab}
28 dias	4,26 ^{Aa}	4,25 ^{Aa}	4,27 ^{Aa}	3,64 ^{Ab}	3,61 ^{Bb}	3,65 ^{Ab}
FC (kgf)						
Armazenamento	Solução					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
14 dias	0,611 ^{Aa}	0,588 ^{Aab}	0,490 ^{Ab}	0,645 ^{Ba}	0,736 ^{Aa}	0,545 ^{Ab}
28 dias	0,737 ^{Ab}	0,667 ^{Abc}	0,387 ^{Ac}	1,194 ^{Aa}	0,803 ^{Ab}	0,567 ^{Ac}

^{A,B}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$). ^{a,b,c}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

concluíram que o pH da salmoura aumentou de 2,98 para 3,52, que o pH da gema diminuiu de 4,72 para 3,61 e que o pH do albúmen diminuiu de 7,23 para 3,67 nos três primeiros dias de avaliação, mantendo-se estáveis ($P>0,05$) até o final do experimento, o que indicou estabilização das conservas. Embora tenhamos observado em nosso estudo que houve estabilização do pH dos ovos durante o armazenamento, com exceção dos contidos na S5, houve aumento do pH das soluções após 28 dias de estocagem.

Ovos armazenados por 28 dias, com exceção dos ovos armazenados em solução contendo somente ácido acético e ácido cítrico (S4), apresentaram maciez semelhante ($P>0,05$) à de ovos armazenados por 14 dias. Ovos armazenados por 28 dias em conserva contendo vinagre e orégano (S3) apresentaram o menor valor para força de cisalhamento (0,387 kgf), valor semelhante ao observado em ovos cozidos e que não foram armazenados (testemunha), o que indica que esse tipo de conserva preservou a maciez dos ovos independente do tempo de armazenamento. Nossos resultados indicam que, apesar de haver variação, a adição de

ervas à conserva favoreceu a preservação da maciez de ovos de codorna cozidos.

Ball Jr. e Saffores (1973) ao estudarem a conservação de ovos em soluções contendo diferentes concentrações de vinagre e ácido acético glacial, com ou sem adição de cloreto de sódio, concluíram que os ovos perderam peso durante o armazenamento e que a força necessária para cortá-los aumentou aproximadamente duas vezes durante a estocagem em conserva. McCready (1973) também obtiveram resultados de cisalhamento de ovos em conserva significativamente maiores do que os valores de ovos que somente foram cozidos. A maciez dos ovos conservados na forma de pickles está relacionada à concentração de ácidos na solução de conserva, pois quanto maior a concentração de ácidos, menor será o pH da solução, que se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas do albúmen e promove a liberação de água, o que resulta na perda de peso e no endurecimento dos ovos (Souza *et al.*, 2012). A adição de sal às conservas também contribui para o endurecimento dos ovos devido à perda de umidade (Fischer e Fletcher, 1985).

Tabela 6. Atributos sensoriais de ovos de codorna em conserva armazenados por até 28 dias.

	Aparência Geral	Odor	Coloração Interna	Sabor	Maciez	Aceitação Global
Testemunha (T)	8,4 ^A	8,5 ^A	8,5 ^A	8,9 ^A	8,6 ^A	8,7 ^A
Fatorial (F)	5,8 ^B	5,3 ^B	6,4 ^B	4,9 ^B	4,8 ^B	5,3 ^B
Solução (S)						
S1	7,9 ^A	5,8	7,1	6,2 ^A	5,3 ^A	6,7 ^A
S2	5,2 ^B	5,2	6,6	5,6 ^A	5,0 ^A	5,7 ^A
S3	3,8 ^C	5,4	5,7	4,9 ^{AB}	5,3 ^A	4,7 ^B
S4	7,8 ^A	5,6	6,8	5,1 ^A	4,9 ^A	5,6 ^A
S5	5,8 ^B	5,0	6,3	4,1 ^B	4,5 ^{AB}	5,0 ^{AB}
S6	4,2 ^{BC}	4,6	5,9	3,7 ^B	3,9 ^B	4,1 ^B
Armazenamento (A)						
14 dias	5,6	5,5	6,5	4,5 ^B	4,6	4,8 ^B
28 dias	5,9	5,0	6,3	5,3 ^A	5,1	5,8 ^A
P-value (Tx F)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (S)	<0,0001	0,5487	0,1479	<0,0001	0,0221	0,0009
P-value (A)	0,3705	0,2168	0,4634	0,0052	0,0578	0,0028
P-value (Int. SxA)	0,8522	0,9952	0,9584	0,5059	0,5744	0,7759

^{A,B,C}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Int.: Interação.

Neste estudo, ovos armazenados em conserva de vinagre (com pH médio igual a 4,09) apresentaram menor força de cisalhamento (em média 0,580 kgf) do que ovos armazenados em conserva de ácido acético e ácido cítrico (em média 0,748 kgf) cujo pH médio foi igual a 3,51.

Na Tabela 6 são mostrados os resultados médios obtidos na análise sensorial com painel de provadores treinados. Ovos armazenados receberam notas entre 4,8 (indiferente) e 6,4 (gostei ligeiramente) para os atributos avaliados, enquanto ovos recém-cozidos receberam notas entre 8,4 (gostei muito) e 8,9 (gostei muitíssimo). Na opinião dos provadores não houve diferença entre os ovos armazenados nas diferentes soluções de conserva para os atributos odor e coloração interna. Ovos em conserva contendo orégano receberam menores notas quanto à aparência geral, sabor e aceitação global, em virtude de o orégano ter conferido coloração marrom à clara dos ovos cozidos. Ovos em conserva contendo alecrim receberam notas semelhantes às de ovos em conserva sem adição de ervas para os atributos maciez e aceitação global. De maneira geral, a adição de ervas à conserva influenciou a aparência, o sabor, a aceitação global e a maciez, no caso de ovos em conserva à base de ácido acético e ácido cítrico. O tempo de armazenamento influenciou o sabor dos ovos e, conseqüentemente, a aceitação global. Ovos armazenados por 28 dias receberam notas superiores às dos ovos armazenados por 14 dias.

Angalet *et al.* (1976) ao estudarem a aceitabilidade de ovos de codorna em conserva concluíram que os ovos provenientes das cinco soluções testadas foram bem aceitos pelos painelistas e que três delas receberam notas entre “bom”, “muito bom” e “excelente” por pelo menos 70% dos provadores, o que indica que ovos de codorna em conserva fazem parte de um mercado promissor.

CONCLUSÕES

O armazenamento promove alterações na coloração interna, redução da maciez e o aumento da oxidação lipídica de ovos de codorna em conserva. O tempo de armazenamento pode influenciar o sabor dos ovos e, conseqüentemente, a aceitação global

do produto final pelo consumidor. A adição de ervas às conservas promove alterações na coloração dos ovos, pode influenciar o sabor, a aparência geral e, conseqüentemente, sua aceitação, entretanto, favorece a preservação da maciez de ovos de codorna cozidos. Soluções de conserva que contenham vinagre e alecrim retardam a oxidação lipídica de ovos de codorna cozidos.

LITERATURA CITADA

- Angalet, S. A., H. R. Wilson and J. L. Fry. 1976. Acceptability of pickled quail eggs. *Journal of Food Science*. 41:449-450.
- Arafa, A. S. 1983. Quality characteristics of eggs further processed by pickling as influenced by packaging material and storage temperature. *Poultry Science*. 62:1231-1240.
- Ball Jr., H. R. and M. W. Saffores. 1973. Eggs pickled in various acid strength solutions. *Poultry Science*. 52:916-920.
- Coelho, M. I. S., V. O. Silva, M. C. S. C. Coelho, M. S. Lima e V. S. Santos. 2012. Análise sensorial de ovos de codorna submetidos a diferentes processos de conservação. *Revista Semiárido de Visu*. 2:184-193.
- Faria, P. B., M. C. Bressan, J. O. Vieira and A. A. Pereira. 2010. Physico-chemical and microbiology of quail eggs preserved in the form of pickles. *Alimentos e Nutrição, Araraquara*. 21:415-420.
- Fischer, J. R. and D. L. Fletcher. 1985. Effect of adding salt to the preservative solution on the sensory and physical properties of hard-cooked eggs. *Poultry Science*. 64:891-895.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2011. Disponível em linha: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default_pdf.shtm [Abr. 15, 2016].
- McCready, S. T. 1973. Temperature, percent sugar and pH effects on the flavor development and tenderness of pickled eggs. *Poultry Science*. 52:1310-1317.

- Móri, C., E. A. Garcia, A. C. Pavan, A. Piccinin, M. R. Scherer e C. C. Pizzolante. 2005. Desempenho e qualidade de ovos de codornas de quatro grupos genéticos. R. Bras. Zootec. 34:864-869.
- Ramalho V. C. e N. Jorge. 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Quim. Nova. 29:755-760.
- SAS Institute Inc. (2002-2003) 'SAS Version 9.1.' (SAS Institute Inc.: Cary, NC)
- Sebranek, J. G., V. J. H. Sewalt, K. L. Robbins and T. A. Houser. 2005. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat Science. 69:289-296.
- Shan, B., Y. Z. Cai, J. D. Brooks and H. Corke. 2009. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. Journal of the Science of Food and Agriculture. 89:1879-1885.
- Souza, V. L. F., A. E. Murakami, R. M. Cardozo e M. J. B. Baptista. 2012. Qualidade de conservas de ovos de codorna (*Coturnix coturnix japonica*) em solução de ácido acético. Revista Tecnológica. 21:87-92.
- Vyncke, B. W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fett Wissenschaft Technologie. 72:1084-1087.

Genetic diversity of foot-and-mouth disease virus serotype A in Venezuela, (2001-2013)

Diversidad genética del virus de la fiebre aftosa serotipo A en Venezuela (2001-2013)

Christel C. Machín Pire^{1*}, Gladys M. Medina Gutierrez², Carmen G. Perez²
y José A. López Ramón¹

¹Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Venezuela. *Email: christel.machin@ucla.edu.ve

ABSTRACT

Venezuela is the only southamerican country with endemic circulation of Foot-and-Mouth Disease Virus (FMDV) in all its territory. Molecular phylogeny (nucleotide sequences of the 1D-Vp1 gene) was used for characterization of active A serotype FMDV between 2006-2013 (16 strains). Phylogenetic analysis also included 23 strains isolated between 2006 and 2013 and 3 venezuelan historical relevance strains. Considering the 2001-2013 period, an extensive genetic diversity is observed and reflected in: a) coexistence of five genetic groups (denominated subgenotypes 1, 2, 3, 4 and 16 according to the southamerican A serotype classification), distributed in two different genetic lineages denominated A and B (genetic divergence >20%); b) increasing in the diversification of the most prevalent genetic group (subgenotype 1); and c) persistence of a phylogenetically distant group of the vaccine strain (subgenotype 16). Considering the strains of this study 2006-2013, the subgenotype 1 (most prevalent), shows more genetic heterogeneity respect to 2001-2006, and is re-detected an isolated, phylogenetically distant of the vaccine strain, that coincides with higher incidence of FMDV in Venezuela (2006-2008). The greater diversification of FMDV in Venezuela is related to immunological selection pressure (positive) exerted by vaccination (new variants with less homology to the vaccine), therefore it highlight the necessity to improve the effectiveness of vaccination campaigns and the attention to outbreaks of disease. This study describes the virus acting in the most recent period (2006-2013) in Venezuela and a data bank with FMDV type A 1D-Vp1 sequences (45 strains 2001-2013) is complemented.

Key words: phylogenetic analysis, 1D-Vp1 gene, FMDV, type A.

Recibido: 31/05/16 Aprobado: 21/02/18

RESUMEN

Venezuela es el único país suramericano con circulación endémica del virus de la Fiebre Aftosa (VFA) en todo su territorio. Se utilizó filogenia molecular (secuencias nucleotídicas del gen 1D-Vp1) para caracterizar los VFA serotipo A activos entre 2006-2013 (16 cepas). El análisis filogenético incluyó además 23 cepas aisladas (2001-2007) y 3 cepas de relevancia histórica en el país. Considerando el periodo (2001-2013), se observa una extensa diversidad genética reflejada en: a) coexistencia de cinco grupos genéticos (denominados subgenotipos 1,2,3,4 y 16 acorde a clasificación del serotipo A de Suramérica), distribuidos en dos linajes genéticos diferentes denominados A y B (divergencia genética >20%), b) incremento en la diversificación del grupo genético más prevalente (subgenotipo 1) y c) persistencia de un grupo filogenéticamente distante de la cepa vacunal (subgenotipo 16). Al analizar las cepas de este estudio (2006-2013), se encontró que el subgenotipo 1 (más prevalente), muestra mayor heterogeneidad genética respecto a 2001-2006 y se re-detecta un aislado filogenéticamente distante de la cepa vacunal, que coinciden con la mayor incidencia de FA en Venezuela (2006-2008). Esta mayor diversificación está relacionada con la presión inmunológica de selección (positiva) ejercida por la vacunación (selección de nuevas variantes de menor homología a la vacuna), por tanto, resalta la necesidad de mejorar la efectividad de las campañas de vacunación y la atención de focos. Este estudio describe los virus activos del periodo más reciente (2006-2013) en el país y se complementa el banco de datos de secuencias 1D-Vp1 del VFA tipo A de Venezuela (45 cepas 2001-2013).

Palabras clave: análisis filogenético, gen 1D-Vp1, fiebre aftosa, serotipo A.

INTRODUCTION

Foot-and-mouth disease (FMDV) is a highly contagious acute viral disease of cloven-hoofed animals, which temporarily affects livestock productivity, and its cross-border nature, restricts trade in animals and animal products in international markets (OIE, 2017). In endemic countries it generates high costs represented primarily by the biannual vaccination of the national herd (Castro, 2005). The FMD virus (FMDV) has a single stranded positive sense RNA, member of *Aphthovirus* genus, *Picornaviridae* family, and is classified immunologically in seven serotypes (O, A, C, Asia 1, SAT1-2-3) (Alexandersen *et al.*, 2003) and numerous subtypes that exhibit epidemiological and degree of cross protection differences (Paton *et al.*, 2005). Serotype A is considered extremely diverse genetically, the most antigenically diverse among Eurasian serotypes (Knowles and Samuel, 2003) and in which genetic recombination occurs more often than in the rest of the serotypes (Tosh *et al.*, 2002a, Jackson *et al.*, 2007). Of the capsid proteins, Vp1 is considered to be highly polymorphic, the most immunogenic (Grubman and Baxt, 2004) and subject to selective pressure (Carrillo *et al.*, 2005). Venezuela is the only South American countries with endemic/epidemic circulation throughout its territory (PANAFTOSA, 2016) and serotype A has always been the most prevalent, although serotype O is also present and serotype C has never been reported.

Differences in 1D(Vp1) gene sequence is the base for genetic classification, and for phylogeny and epidemiology molecular studies (Samuel and Knowles, 2001; Tosh *et al.*, 2002b; Mohapatra *et al.*, 2011), important in terms of surveillance for molecular detection of viral variants phylogenetically distant from the vaccine strain (antigenic prediction) (Paton *et al.*, 2005), introduction of exotic variants to a country product of imports and illegal trafficking of animals, and tracing its source (Knowles and Samuel, 2003; Klein *et al.*, 2007; König *et al.*, 2007). In endemic countries, is important to study the field virus circulating through appropriate sampling and eventual immediate genotyping. Studies by Malirat *et al.* (2012), included venezuelan isolated detected in the period 2001-2007, and have classified the serotype A from South America in 16 subgenotypes (using a cutoff of 15% genetic

divergence), among which, 1, 2, 3, 4, and 16 corresponding to venezuelan isolates. The aim of this study was to characterize phylogenetically the FMDV serotype A actives in Venezuela in the most recent period (2006-2013), based on nucleotide sequences of the complete 1D region (Vp1).

METHODOLOGY

Samples were characterized by 1D complete gene sequencing as described by Word Reference Laboratories (Knowles and Samuel, 1998; Malirat and Bergmann, 2003).

Clinical samples: epithelial bovine samples belonging to the collection of Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades Vesiculares-Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Maracay-Venezuela) that were collected from 2006 to 2013 at different farm located in several states.

Viruses strain: three historical and epidemiologically relevant venezuelan strains and 23 venezuelan strains detected in the period 2001-2007, were included on the phylogenetic analysis. Also eight type A strains classified as toptotype Euro-SA (Europe) and not Euro-SA (Africa, Asia and Europe) and strains of serotype Asia 1. The designation and origin of FMDV isolates studied are listed in Table 1.

Extraction of Virus RNA: It was extracted from 50-100 mg of epithelial tissue using TRIzol reagent (Invitrogen™).

Reverse Transcription of Virus RNA: It was made starting from 5 µl of viral ARN as template, using Kit ImProm-II Reverse Transcription system® PROMEGA, and addition of dithiothreitol (DTT) 0,1 M.

PCR Amplification of Reverse Transcribed RNA and cycle sequencing: The viral genomic regions encoding VP1 and 3D polymerase were amplified using pairs primer specific for serotype based on published sequences (Knowles and Samuel, 1998) and tested in circulating FMDV strain of South America (Malirat and Bergmann, 2003; Clavijo *et al.*, 2003; Malirat *et al.*, 2008; Malirat *et al.*, 2012). The 1D(Vp1) PCR products were purified with the Qiaquick PCR Purification kit1 (Qiagen) and submitted to the Unidad de Estudios Genéticos y Forenses – InstitutoVenezolano de

Table 1. Viruses used for genetic analysis of the coding sequences Vp1 (1D).

Recent FMDV isolates analyzed in this work (2006-2013)					
Denomination	Geographical origin		Collection date	Reference	Gene Bank accession
	State	County			
A/Mérida/Ven/06 ^a	Mérida	Andres Bello	15-02-06	This work	KX150527
A/Barinas/Ven/06a	Barinas	Ezequiel Zamora	09-10-06	This work	KX150523
A/Apure/Ven/06b	Apure	José Antonio Páez	31-10-06	This work	KX150522
A/Barinas/Ven/06b	Barinas	Barinas	08-01-06	This work	KX150524
A/Mérida/Ven/06b	Mérida	Obispo Ramos de Lora	15-11-06	This work	KX380578
A/Barinas/Ven/06c	Barinas	Nicolás Pulido	25-11-06	This work	KX150525
A/Táchira/Ven/07a	Táchira	San Cristóbal	07-05-07	This work	KX150526
A/Barinas/Ven/07	Barinas	Barinas	01-08-07	This work	KX150528
A/Táchira/Ven/07c	Táchira	Libertad	13-09-07	This work	KX150529
A/Bolívar/Ven/07a	Bolívar	Manuel Carlos Piar	28-09-07	This work	KX150530
A/Monagas/Ven/08a	Monagas	Maturín	01-04-08	This work	KX150531
A/Mérida/Ven/08	Mérida	Alberto Adriani	20-05-08	This work	KX150532
A/Bolívar/Ven/08	Bolívar	Sifonte	10-06-08	This work	KX150533
A/Barinas/Ven/11 ^a	Barinas	Andrés Eloy Blanco	20-10-11	This work	KX150534
A/Barinas/Ven/13a	Barinas	Barinas	01-04-2013	This work	KU234721
A/Barinas/Ven/13b	Barinas	Barinas	01-04-2013	This work	KX380577
Venezuelan FMD isolates sequences previously published (2001-2007)					
A Bolívar Ven 01	Bolívar	Padre Chien	05-12-2001	Malirat et al., (2012)	JQ082933
A Bolívar Ven 03	Bolívar	Padre Chien	14-05-2003	Malirat et al., (2012)	JQ082935
A Mérida Ven 02	Mérida	Alberto Adriani	28-11-2001	Malirat et al., (2012)	JQ082934
A Mérida Ven 03 ^a	Mérida	Febres Cordero	09-12-2003	Malirat et al., (2012)	JQ082937
A Mérida Ven 03b	Mérida	Alberto Adriani	12-12-2003	Malirat et al., (2012)	JQ082938
A Mérida Ven 04	Mérida	Alberto Adriani	19-05-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082943
A Mérida Ven 05 ^a	Mérida	Jají	06-04-2005	Malirat et al., (2012)	JQ082950
A Mérida Ven 05b	Mérida	Obispo Ramos de L.	20-04-2005	Malirat et al., (2012)	JQ082951
A Mérida Ven 05c	Mérida	Obispo Ramos de L.	29-04-2005	Malirat et al., (2012)	JQ082952
A Táchira Ven 01	Táchira	Panamericano	13-06-2001	Malirat et al., (2012)	JQ082932
A Táchira Ven 04 ^a	Táchira	García de Hevia	23-01-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082939
A Táchira Ven 04b	Táchira	García de Hevia	02-11-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082940
A Táchira Ven 04c	Táchira	García de Hevia	01-04-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082942
A Táchira Ven 04d	Táchira	García de Hevia	24-09-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082947
A Barinas Ven 03	Barinas	Torumos	03-07-2003	Malirat et al., (2012)	JQ082936

..../... continúa

../... continuación Table 1.

Venezuelan FMD isolates sequences previously published (2001-2007)					
A Barinas Ven 04 ^a	Barinas	Ezequiel Zamora	10-03-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082941
A Barinas Ven 04b	Barinas	Barinas	26-08-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082946
A Falcón Ven 04	Falcón	M. Iturriza	13-08-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082945
A Yaracuy Ven 04	Yaracuy	Veroes	12-07-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082944
A Apure Ven 04	Apure	Páez	18-11-2004	Malirat et al., (2012)	JQ082948
A Apure Ven 05	Apure	Mantecal	03-02-2005	Malirat et al., (2012)	JQ082949
A Apure Ven 06	Apure	NR	13-06-2006	Malirat et al., (2012)	Q082953
A Portuguesa Ven 07	Portuguesa	Guanarito	30-01-2007	Malirat et al., (2012)	JQ082954
South American isolates sequences collection FMDV					
A ₃₂ Ven/iso36	Bolívar	-	1970	Carrillo et al., (2005)	AY593775
A/Venezuela/89	--	-	1989	Malirat et al., (2012)	JQ082978
A ₁₈ /Zulia/Ven/62	Zulia	-	1962	Malirat et al., (2012)	JQ08295
A ₂₄ Cruzeiro/Br/55	Vaccinestrain strain	-	1955	Malirat et al., (2012)	JQ082960
Continental FMDV isolates sequences					
Asia 1/IND 328/2004	India	West Bengal	09-03-2004	Valarcher et al, (2009)	FJ785303
Asia 1/IND 389/2004	India	Gujarat	2004	Valarcher et al, (2009)	FJ785304

Investigaciones Científicas (UEGF-IVIC) for cycle direct sequencing. Details of the primers used in the PCR amplification and sequencing are shown in Table 2.

Bioinformatics analysis: The obtained sequences were edited by visual inspection using the Program Bioedit, Version 7.2.0© (Hall,1999). The multiple nucleotide sequence alignments were generated using DNAMAN Program version 2.1 and Phylogenetic analyzes were conducted using MEGA version 5.0.

RESULTS AND DISCUSSION

The disease in Venezuela have had two epizootic outbreaks for both serotypes (A and O) in recent years (2002-2003 and 2007-2008) and a significant reduction in incidence since 2009. The latest serotype A virus reported was detected in 2013, which had the highest incidence (78.76% of cases) [Figure 1]. A total of 16 nucleotide sequences of VP1 coding region of serotype A were analyzed. Phylogenetic analysis showed

that isolates detected in period 2006-2013 were closely related to strain of subgenotypes 1, 3, 4 and 16 described by Malirat *et al.* (2012), and to historical and epidemiological relevant venezuelan strains (3 isolates), indicating that all of them correspond to endogenous viral variants (Figure 2).

No viruses closely related to vaccine strain were detected, showing that there was no inadvertent release of virus to the field from the vaccine used in the country (A₂₄/Cruzeiro/Br55). The analysis of circulating viral variants in the entire period (2001-2013), showed that they are grouped into five major genetic clusters, designated as subgenotypes 1, 2, 3, 4 and 16 according to the nomenclature described by Malirat *et al.* (2012) for South American serotype A strain. Two separate genetic lineages were distinguished (lineages with > 20% nucleotide divergence) and designated as A and B, one represented by the subgenotype 16 and the other represented by the remaining isolates (subgenotypes 1, 2, 3, 4).

Table 2. Oligonucleotide primers used for RT-PCR and cycle sequencing of foot-and-mouth disease viruses

Primer designation*	Sense	Localization	Primer sequence (5' 3')	Product length (bp)	Reference sequence	Reference use in South America
1C ⁵⁶²	Forward	1C	TACCAAATTACACACGGGAA	795 bp	Knowles and Samuel, 1998	Malirat <i>et al.</i> , 2008; Malirat <i>et al.</i> , 2012
FMD-2A ₃₄ (NK72)	Reverse	2A	GAAGGGCCCCAGGGTTGGACTC		"	"
ADir	Forward	1C	TACCAAATTACACACGGGAA	863-866	Knowles and Samuel, 1998	Malirat y Bergman, 2002
FMD-2B ₅₈ (NK61) o (LMR)	Reverso	2B	GACATGTCCTCCTGCATCTG		"	"
7401	Forward	3D	GCAGTGACGC-CATGAACATC	540	Tami <i>et al.</i> , 1998	Clavijo <i>et al.</i> , 2003
7941	Reverse	3D	CCTGCCACGGAGATCAACTT		"	"

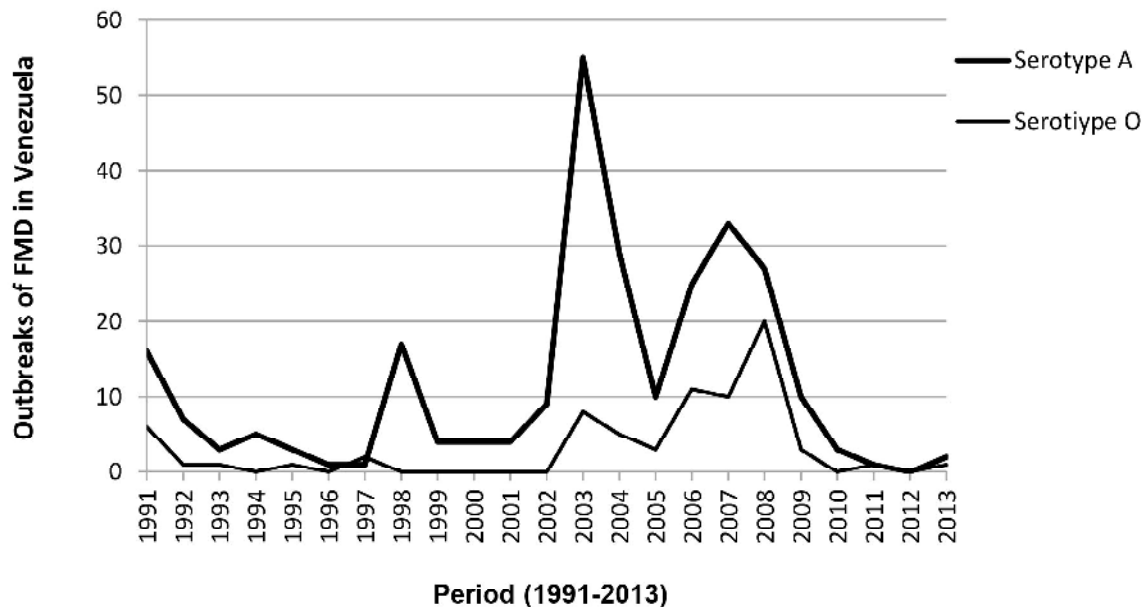


Figure 1. History outbreaks of FMD in Venezuela. Serotypes A and O. 1991-2013.

Although the FMDV entered to Venezuela from Argentina in 1950 (Piñate, 2000), there are very few sequences (Vp1) available from isolates detected in this period (Only 3 venezuelan isolates from 1962 to 1989). More phylogeographic evidence is required of previous isolated from Venezuela and South America, to display the roots of these genetic groups and to determine whether these lineages have separate origins (two introductions) or have a common venezuelan ancestor (come from the evolution of virus in Venezuela). Equally, we have considered these genetic groups as two different lineages based on genetic divergence in the region 1D(Vp1), but it is likely that if we analyzed a wider region as the P1 region, it could clarify phylogenetically if the genetic groups A and B are really so different. Subgenotype 1 from lineage A showed the closest phylogenetic relationship to the vaccine strain and the highest prevalence and, paradoxically, the subgenotype 16 from lineage B, being the most distant group to the vaccine strain (21% genetic divergence), showed the lowest prevalence (one isolated in 2008).

Extensive genetic diversity was represented by three observations: a) the existence of five different subgenotypes (based on a cutoff

of 15% and observed topology tree); b) the presence of a subgenotype (subgenotype 16) phylogenetically distant from vaccine strain and from the remaining venezuelan isolates, and c) the increase of heterogeneity in the most prevalent genetic group (subgenotype 1). Studies by Malirat *et al.* (2012) described the subgenotype 1 as a rather homogeneous group based on their percentage of genetic homology within group (95%), with a significant number of isolates (14 isolates) collected in a short period of time (2003-2006). Contrary to this research, results of this work on the period 2006-2013, showed that in this subgenotype greater genetic diversity there was with respect to that observed in the period 2001-2006, as evidenced by the presence of multiple subclades with genetic distances that increase their value divergence, reflecting the possibility of classifying new subgenotypes from this genetic group by applying the cutoff of 15%. In the serotype A phylogenetic analysis of South America (Malirat *et al.*, 2012), included only a unique isolated in 2006 and one from 2007 representing those years. This study has included a greater number of viral variants (6 isolates 2006, 4 of 2007 and 3 of 2008) from the years of highest incidence of the disease (Table 2 and Figure 2), enabling

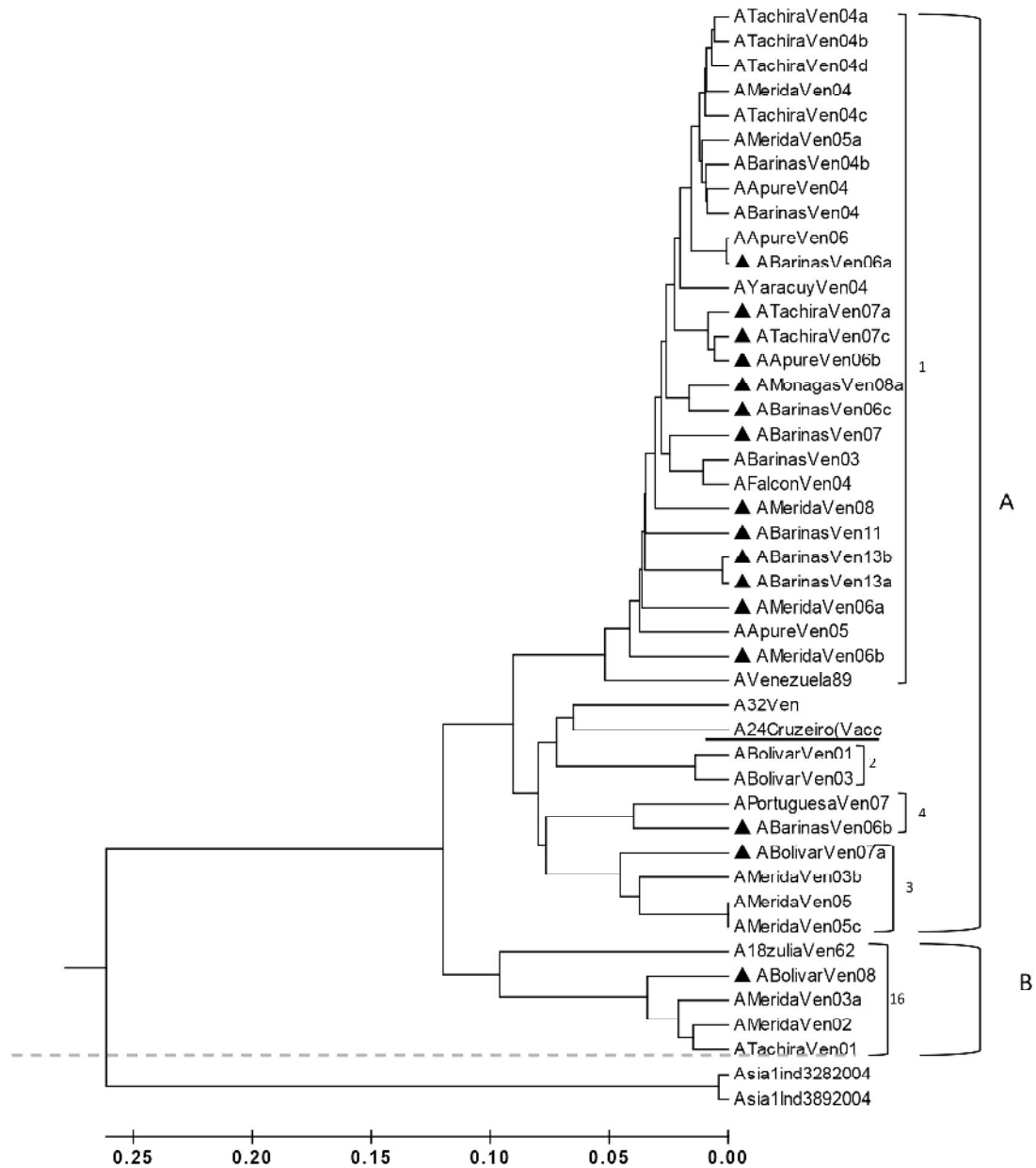


Figure 2. Phylogenetic tree based on the complete region 1D coding for VP1 protein of Venezuelan Serotype A FMDV isolated detected in period 2006-2013 and its genetic relationships with isolated acting in Venezuela in past. Distances were calculated upon the Kimura-two (K-2) parameter model and phylogenetic analyzes with UPGM method using MEGA version 5.0 program were conducted. Two different lineages distributed into five genetic groups (labeled subgenotypes 1,2,3,4 and 16 as described for Malirat *et al.*, 2012 for South American type A FMDV) are observed. (▲) Isolates collected between 2006-2013.

a more close reconstruction of the evolutionary process of FMDV type A in Venezuela.

The events of greater diversification of subgenotype 1 from 2006 and re-detection of subgenotype 16 in 2008, coincided with the highest incidence of FMDV in Venezuela between 2006 and 2008 (Figure 1 and 2), which is related with a low immune status of the animals against FMDV in this period. At the same time, the low immune status of the animals allowed the FMDV replicated in a large population sizes (competition between different genetic variants) under the influence of immune selection positive pressure, which is exerted by the vaccination through the selection of those new variants of lower homology with the vaccine strain (escape mutants which are not effectively neutralized) (Cowan *et al.*, 1974; McCahon, 1981; Domingo *et al.*, 2003). This typically occurs in the presence of both, the best vaccine and convalescent animals (immune animals), although it has seen also favored by the existence of non-vaccinated or partially immunized cattle (Haydon *et al.*, 2001; Grubman and Baxt, 2004).

Genetic variants of FMDV co-circulate and accumulate rapidly in the field (Domingo *et al.*, 2003) and result in antigenic variation which increases over time (Tully and Fares, 2009). However the reduction in the incidence of the disease in recent years is suggestive that the vaccine in use is protective. But the extensive genetic diversity in the region 1D(Vp1) of type A venezuelan isolated highlights the importance of avoiding partial and insufficient immune coverage which allowing endemic circulation of the virus. Surveillance of both antigenic characterization (by serological methods such as vaccine matching) and population immunity studies are necessary. Equally, increasing surveillance in the field (attention to outbreaks of disease and opportune sampling) and improving the precise detection by laboratory are also necessary in order to obtain a more accurate estimation of the incidence of the disease in Venezuela.

CONCLUSIONS

Phylogenetic analysis of the venezuelan isolates detected in the period 2001-2013 revealed significant genetic diversity represented by the coexistence of two genetic lineages classified

into five different subgenotypes, increase in the diversification of the most prevalent genetic group (subgenotype 1), and persistence of a phylogenetically distant vaccine strain group.

The greater diversification of FMDV type A in Venezuela coincides with the period of highest incidence of the disease in Venezuela (2006-2008), constitutes a risk for the eradication program, and made it necessary to strengthen the attention and control of outbreaks of disease.

The greater diversification of FMDV type A in Venezuela is related to the immunological selection pressure (positive) exerted by vaccination (selection of new variants with less homology to the vaccine) therefore it is necessary to improve the effectiveness of vaccination campaigns through the use of high quality vaccines with high values of coverage throughout the country.

This paper fills the gap of knowledge about viral variants acting in the most recent period in Venezuela (2006-2013) and therefore active in South America, and complements the formation of a database with FMDV type A 1D(Vp1) sequences of Venezuela (45 strains 2001-2013).

CITED LITERATURE

- Alexandersen, S., Z. Zhang, A. Donaldson and A. Garland. 2003. The Pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. Review. *J. Comp. Path.* 129:1-36.
- Carrillo, C., E. Tulman, G. Delhon, Z. Lu, A. K. Vagnozzi and D. Rock. 2005. Comparative genomics of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology.* 79(10):6487-6504.
- Castro J. 2005. Enfermedades Vesiculares. Available on line: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo12-s5.pdf [Dic. 19, 2013].
- Clavijo, A., P. Vieira-Pereira and I. E. Bergmann. 2003. Use of the reverse transcripcion polymerase chain reacction (RT-PCR) for the rapid diagnosis of foot and mouth disease in South America. *Veterinary Research Comunications.* 27:63-71.

- Cowan, K. M., N. Errol and A. P. Whitehead. 1974. Heterogeneity of type Asia 1 foot-and-mouth disease virus in BHK-1 cells and relationship to vaccine preparation. Bulletin - Office International Des Epizooties. 81:1271-1298.
- Domingo, E., C. Escarmis, E. Baranowski, C. Ruiz-Jarabo, E. Carrillo, J. I. Nuñez and F. Sobrino. 2003. Evolution of foot-and-mouth disease virus. Review. Virus Research. 91:47-63.
- Grubman, M. and B. Baxt. 2004. Foot-and-mouth disease. Clinical Microbiology Reviews. 17(2):465-493.
- Haydon, D., A. R. Samuel and N. J. Knowles. 2001. The generation and persistence of genetic variation in foot-and-mouth disease virus. Preventive Veterinary Medicine. 51:111-124.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41:95-98.
- Jackson, A., H. O'Neill, F. Maree, B. Blignaut, C. Carrillo, L. Rodriguez and D. T. Haydon. 2007. Mosaic structure of foot-and-mouth disease virus genomes. Journal of General Virology. 88:487-492.
- Klein, J., M. Hussain, M. Ahmad, P. Normann, M. Afzal and S. Alexandersen. 2007. Genetic characterization of the recent foot-and-mouth disease virus subtype A/IRN/2005. Virology Journal. 4:122.
- Knowles, N. and A. Samuel. 1998. RT-PCR and sequencing PROTOCOL WRL-FMD: Molecular epidemiology OIE/FAO World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease. Institute for Animal Health, Pirbright Laboratory. United Kingdom. Available on line: http://www.wrlfmd.org/fmd_genotyping/genotyping_protocol.pdf [Sep. 19, 2013].
- Knowles, N. and A. Samuel. 2003. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. Virus Research. 91(1):65-80.
- König, G. A., E. L. Palma, E. Maradei and M. E. Piccone. (2007). Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus types A and O isolated in Argentina during the 2000-2002 epizootic. Veterinary Microbiology. 124(1-2):1-15
- Malirat, V. e I. Bergman. 2003. Fiebre Aftosa - Instrumentos moleculares para caracterización viral. Manual RT-PCR y secuenciación cíclica para estudios de epidemiología molecular del virus de la Fiebre Aftosa. Serie de manuales didácticos No. 17. Rio de Janeiro, Brasil. Available on line: <http://bvs.per.paho.org/textcom/cd048213/fiebaftosa.pdf> [Dic. 15, 2012].
- Malirat, V., I. Bergmann, R. de Mendonca-Campos, E. Neitzert, M. Villamil, J. Quiroga-Civera, F. Conde and G. Salgado. 2008. Tracing 2007-2008 emergency episodes of foot-and-mouth disease virus in South America: phylogenetic analysis. Proceedings of The Global control of FMD - Tools, ideas and ideals. 14-17 October 2008. Erice, Italy. Appendix 58. 329 p.
- Malirat, V., I. Bergmann, R. de Mendonca-Campos, F. Conde, J. Quiroga, M. Villamil, G. Salgado and S. Ortiz. 2012. Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus type A in South America. Veterinary Microbiology. 158:82-94. [May. 14, 2013].
- McCahon, D. 1981. The genetics of aphthovirus. Archives Virology. 69:1-23.
- Mohapatra, J., S. Subramaniam, K. L. Pandey, S. Pawar, A. D. Biswajit-Das, A. Sanyal and B. Pattnaik. 2011. Phylogenetic structure of serotype A foot-and-mouth disease virus: global diversity and the Indian perspective. Journal of General Virology. 92:873-879.
- OIE (World Organization for Animal Health). 2012. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus). Chapter 2.1.5. Available on line: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.05_FMD.pdf [Ago. 15, 2014].
- PANAFTOSA. 2016. Informe de situación de los programas de erradicación de la fiebre aftosa en Sudamérica y Panamá en 2016. Disponible en línea: http://panaftosa.org/cosalfa44/dmdocuments/Informe_

- Situacion_Paises_2016_[300317].pdf [Ago. 01, 2016].
- Paton, D. J., J. F. Valarcher, I. Bergmann, O. G. Matlho, V. M. Zakharov, E. L. Palma and G. R. Thomson. 2005. Selection of foot and mouth disease vaccine strains - a review. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 24(3):981-993.
- Piñate, P. 2000. De la lucha contra la fiebre aftosa en el mundo, Venezuela y Sudamérica. Disponible en línea: [http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/FMD%20AMERICAS\(P.Pi%F1ade.pdf\)](http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/FMD%20AMERICAS(P.Pi%F1ade.pdf)). [Sep. 25, 2013].
- Samuel, A. and N. Knowles. 2001. Foot-and-mouth disease type O viruses exhibit genetically and geographically distinct evolutionary lineages (topotypes). *Journal of General Virology.* 82:609-621.
- Tosh, C., D. Hemadri, A. Sanyal. 2002a. Evidence of recombination in the capsid-coding region of type A foot-and-mouth disease virus. *Journal of General Virology.* 83:2455-2460.
- Tosh, C., A. Sanyal, D. Hemadri, R. Venkataramanan. 2002b. Phylogenetic analysis of serotype A foot-and-mouth disease virus isolated in India between 1977 and 2000. *Archives of Virology.* 147:493-513.
- Tully, D. and M. Fares. 2009. Shifts in the selection-drift balance drive the evolution and epidemiology of foot-and-mouth disease virus. *Journal of Virology.* 83(2):781-790.

Efeito da defumação e da inclusão de alecrim como antioxidante em hambúrgueres de carne caprina armazenados por até 30 dias

Effect of smoking process and including rosemary as an antioxidant in goat meat burgers stored for up to 30 days

Efecto del ahumado y de la inclusión del romero como antioxidante en la hamburguesa producida con carne de cabra, almacenada por hasta 30 días

Juliana L. M. de Mello* e Hrasilva Borba

Universidade Estadual Paulista (UNESP). Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), São Paulo, Brasil. *Correio eletrônico: julianalolli@zootecnista.com.br

RESUMO

Este estudo avaliou os efeitos da defumação e da inclusão de alecrim, como agente antioxidante, na qualidade de hambúrgueres de carne caprina armazenados por até 30 dias. Foram utilizados carne caprina, gordura suína, cebola e alho em pó, pimenta, sal iodado, proteína texturizada de soja e alecrim in natura (0%, 0,1%, 0,15% e 0,20%). Foram preparados doiscentos dezesseis hambúrgueres, dos quais 108 foram defumados, 36 foram analisados em seguida e 72 foram armazenados. Dos 108 hambúrgueres restantes, 36 foram cozidos e analisados, e 72 foram armazenados cruz para posterior cozimento e análise. Foram avaliados: maciez, composição química, rendimento de preparo, encolhimento, cor (luminosidade - L*, intensidade de vermelho - a* e intensidade de amarelo - b*), pH e oxidação lipídica. Hambúrgueres defumados apresentaram menor maciez e umidade, maior concentração de proteína e gordura, menor encolhimento, maior pH, menor L*, maior a* e maior b* do que hambúrgueres cozidos em grill. Hambúrgueres defumados produzidos com alecrim apresentaram maior oxidação lipídica do que hambúrgueres defumados e sem alecrim e também maior oxidação do que hambúrgueres produzidos com as mesmas formulações, mas cozidos em grill e não defumados. Durante o armazenamento foi observado aumento do pH e de L* e redução de a* em hambúrgueres defumados. A defumação preserva o formato e a composição nutricional de produtos processados e previne a oxidação durante o armazenamento. A inclusão de 0,10% de alecrim in natura nas formulações proporciona melhor estabilidade oxidativa e inibe o aumento da oxidação lipídica durante o armazenamento.

Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis*, antioxidante natural, armazenamento, oxidação, qualidade de carne.

Abstract

This study evaluated the effects of smoking and including rosemary, as antioxidant agents in goat meat burgers, stored for up to 30 days. Were used goat meat, pork fat, onion and garlic powder, iodized salt, textured soy protein and rosemary in natura (0%, 0.10%, 0.15% and 0.20%). Two hundred and sixteen hamburgers were prepared, one hundred and eight of these smoked, 36 analyzed shortly thereafter, and 72 stored at -18°C. Of the remaining one hundred and eight burgers, 36 were cooked and analyzed shortly thereafter, and 72 were stored raw for further cooking and analysis. The following variables were evaluated: tenderness, chemical composition, cooking yield, shrinkage, color (rightness: L*; redness: a* and yellowness: b*), pH and lipid oxidation. Smoked hamburgers had lower tenderness and moisture, higher protein and fat concentration, lower shrinkage, higher pH, lower L*, and higher a* and b*, than cooked burgers. Smoked burgers containing rosemary showed higher lipid oxidation than smoked burgers without rosemary, and also showed higher oxidation than hamburgers produced with the same formulations, but cooked in grill. During storage was observed an increase in pH and L*, and reduction of a* in smoked hamburgers. Smoking process preserves size and nutritional composition of processed products, also prevents lipid oxidation. The inclusion of rosemary in natura (0.10%) provides better oxidative stability and inhibits the increase of lipid oxidation in goat meat hamburgers during storage.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, natural antioxidant, storage, oxidation, meat quality.

Recibido: 31/05/16 Aprobado: 22/02/18

RESUMEN

Este estudio evaluó los efectos del ahumado y la inclusión del romero como antioxidante en la calidad de hamburguesas de carne de cabra, almacenadas hasta por 30 días. Se utilizó carne de cabra, grasa de cerdo, cebolla y ajo en polvo, pimienta, sal yodada, proteína de soya texturizada y romero in natura (0%, 0,1%, 0,15% y 0,20%). Se prepararon 216 hamburguesas, de las cuales 108 fueron ahumadas: 36 analizadas al instante y 72 almacenadas. De las restantes, 36 fueron cocinadas y analizadas y 72 fueron almacenadas crudas para posteriormente cocinar y analizar. Se evaluaron: terneza, composición química, rendimiento de preparación, encogimiento, color (luminosidad - L*, intensidad roja - a*, intensidad amarilla - b*), pH y oxidación de lípidos. Las hamburguesas ahumadas presentaron menor suavidad y humedad, concentraciones más altas de proteína y grasa, menor contracción y pH más alto que las cocinadas en parrilla. También presentaron menor L* y mayor a* y b*. Las hamburguesas ahumadas que contenían romero presentaron oxidación de lípidos más alta que las ahumadas sin romero y oxidación más alta que aquellas producidas con los mismos ingredientes, cocinadas y no ahumadas. Durante el almacenamiento se comprobó el aumento del pH y L*; así como reducción de a* en las hamburguesas ahumadas. El ahumado conserva la forma y la composición nutricional de los productos elaborados y previene la oxidación durante el almacenamiento. La inclusión de 0,10% de romero proporciona mejor estabilidad oxidativa e inhibe el aumento de la oxidación de lípidos durante el almacenamiento.

Palabras clave: *Rosmarinus officinalis*, antioxidante natural, almacenamiento, oxidación, calidad de la carne.

INTRODUÇÃO

O consumo da carne caprina constitui-se de um nicho de mercado atualmente pouco explorado no Brasil. A produtividade e qualidade da carne caprina são afetadas pela falta de padronização dos cortes cárneos e de canais adequados de comercialização. A produção e o consumo desse tipo de carne são influenciados por alguns fatores que estão diretamente relacionados à sua qualidade como a raça do animal, o peso, a idade de abate e a castração. Embora a

produção e o consumo da carne caprina tenham aumentado nos últimos anos, em função de suas propriedades nutricionais, existem ainda limitações na sua apreciação por ser uma carne menos tradicional na maior parte do Brasil e, principalmente, por possuir odor e sabor peculiares e acentuados.

O valor comercial da carne é baseado no grau de aceitabilidade dos consumidores e está diretamente relacionado à palatabilidade do produto (Resosemito et al., 2012). O desenvolvimento de novos produtos cárneos processados tem como função fornecer ao consumidor produtos de paladar variado, fazendo com que a indústria aproveite melhor a carne de animais de descarte, uma vez que possuem comercialização dificultada. O uso para fabricação do hambúrguer apreciado em redes de fast food, passa a ser uma alternativa viável para a elaboração de um novo produto cárneo caprino e com maior valor agregado.

Uma das alternativas para aumentar o potencial de comercialização é o emprego de técnicas, muitas vezes artesanais, que promovem melhorias nas características sensoriais e no tempo de armazenamento destes produtos. A defumação, utilizada desde a antiguidade como técnica de conservação, tem sido um artifício para melhorar a qualidade dos alimentos, pois provoca mudanças nos atributos sensoriais (Souza et al., 2004) e confere aroma, sabor e coloração característicos.

Produtos cárneos tendem à deterioração, principalmente, devido à rancidez oxidativa que pode causar desde extensas alterações de sabor e de coloração e danos estruturais às proteínas, até sutis perdas de frescor, que resultam na insatisfação do consumidor. Produtos processados são particularmente susceptíveis à rancidez oxidativa por conta da exposição ao oxigênio e/ou temperatura durante a manipulação, principalmente aqueles com elevada concentração de gorduras insaturadas (Sebranek et al., 2005). A utilização de antioxidantes em alimentos gordurosos é importante na proteção de seus constituintes insaturados, de modo a evitar sabor e odor indesejáveis e, assim, manter a palatabilidade, aceitabilidade e o valor nutricional dos alimentos (Padilha, 2007).

Os antioxidantes utilizados pela indústria de produtos cárneos são naturais ou sintéticos (Ramalho e Jorge, 2006), entretanto, devido à preocupação com os danos que os antioxidantes sintéticos podem causar à saúde humana, pesquisadores e indústrias têm buscado avaliar a eficiência de ervas e especiarias como antioxidantes naturais (Sebranek *et al.*, 2005), que podem minimizar a rancidez oxidativa e agregar valor aos atributos sensoriais sem causar prejuízos à saúde do consumidor (Shan *et al.*, 2009). Desta forma, este estudo propôs avaliar os efeitos da defumação e da inclusão de alecrim *in natura* (*Rosmarinus officinalis*), como agente antioxidante, na qualidade de hambúrgueres elaborados com carne caprina e armazenados sob congelamento por até 30 dias.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparo das amostras

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°08' S, 48°11' W, 583 m altitude). Para a elaboração dos hambúrgueres foram utilizados 18 kg de carne, obtida da desossa integral de pernas e paletas de cabras, adquiridas em açougue local. Após a retirada do excesso de tecido conjuntivo e gordura superficial, a carne caprina e a gordura suína foram moídas, em máquina de moer convencional, com disco de 10 mm de

diâmetro e, posteriormente, os hambúrgueres foram produzidos utilizando as formulações descritas na Tabela 1. A proteína texturizada de soja foi pesada, hidratada e moída antes de ser adicionada aos demais ingredientes. A carne caprina foi homogeneizada aos demais ingredientes em misturadeira elétrica (MB25IN, Beccaro® Equipamentos Industriais Ltda., Rio Claro, SP, Brasil) e a massa obtida foi mantida sob refrigeração (4°C) por 24 horas.

Duzentos e dezesseis hambúrgueres com peso médio de 95 g foram manualmente moldados com o uso de uma hamburgueira de alumínio e disco modelador com 11,5 cm de diâmetro, sendo 54 hambúrgueres produzidos com cada uma das formulações estudadas. Vinte e sete hambúrgueres de cada formulação (n=108) foram defumados nas bandejas de um defumador de aço galvanizado (DEF72GLV, Defumax® Equipamentos e Produtos Ltda. EPP, Jaboticabal, SP, Brasil) durante, aproximadamente, 90 minutos, utilizando serragem de madeira como combustível para produção da fumaça. Dos hambúrgueres defumados, 36 (nove hambúrgueres de cada formulação) foram analisados logo após a defumação, 36 (nove hambúrgueres de cada formulação) armazenados por 15 dias sob congelamento em freezer (-18°C) e os outros 36 (nove hambúrgueres de cada formulação) armazenados por 30 dias sob as mesmas condições.

Tabela 1. Ingredientes utilizados nas formulações dos hambúrgueres de carne caprina.

Ingredientes (%)	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3	Formulação 4
Carne caprina	89,5	89,4	89,35	89,3
Gordura suína	5	5	5	5
Cebola em pó	1	1	1	1
Alho em pó	0,5	0,5	0,5	0,5
Pimenta em pó	0,2	0,2	0,2	0,2
Sal iodado	1,6	1,6	1,6	1,6
Proteína texturizada de soja	2,2	2,2	2,2	2,2
Alecrim <i>in natura</i>	-	0,10	0,15	0,20

Dos outros 108 hambúrgueres restantes, nove hambúrgueres de cada formulação (n=36) foram submetidos à cocção em grill, até que a temperatura interna atingisse 75°C, e os demais foram congelados ainda crus e armazenados em freezer (-18°C) por 15 dias (n=36; nove hambúrgueres de cada formulação) e 30 dias (n=36; nove hambúrgueres de cada formulação), para posteriormente serem cozidos em grill e analisados. Foram avaliados maciez (força de cisalhamento (FC), composição química, rendimento de preparo, encolhimento, pH, cor e oxidação lipídica (TBARS). Maciez, composição química, rendimento de preparo e encolhimento foram avaliadas apenas em hambúrgueres não armazenados. As variáveis pH, cor e oxidação lipídica foram avaliadas antes e após 15 e 30 dias de congelamento para analisar os possíveis efeitos do armazenamento sobre a qualidade dos hambúrgueres.

Métodos utilizados

Dos hambúrgueres defumados e cozidos foram obtidas subamostras, com área conhecida (cm²), as quais foram submetidas ao corte pelo dispositivo “Warner-Bratzler”, acoplado ao texturômetro “Texture Analyser TA-XT2i” (Stable Micro Systems®, LTD., Godalming, UK), para determinação da maciez. A força necessária para cisalhar as amostras foi expressa em kgf/cm². A composição química foi determinada através da avaliação do conteúdo de proteína, gordura, umidade e cinzas, conforme os métodos nº 977.14, 991.36, 950.46 e 920.153, respectivamente, recomendados pela “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 2005).

O rendimento de preparo de hambúrgueres defumados foi determinado por diferença de peso dos hambúrgueres antes e após a defumação, expressa em porcentagem, de acordo com o cálculo: (Peso final/Peso inicial) x100. Para a determinação do rendimento de preparo de hambúrgueres cozidos, os hambúrgueres foram pesados antes e após o cozimento em grill. O resultado expresso em porcentagem, também foi determinado de acordo com o cálculo: (Peso final/Peso inicial) x100. O encolhimento foi baseado na diferença entre a área (cm²) dos hambúrgueres antes e após os processos de defumação ou cocção. O

percentual de encolhimento foi determinado de acordo com Berry (1992) segundo o cálculo: [(diâmetro inicial- diâmetro final)/diâmetro inicial] x100.

O pH foi determinado com o uso de peagômetro digital Testo® 205 (Testo® Inc., Sparta, NJ, USA), acoplado a um eletrodo de penetração. A coloração (luminosidade - L*, intensidade de vermelho - a* e intensidade de amarelo - b*) foi determinada na superfície de hambúrgueres defumados e cozidos com o uso do colorímetro Minolta® CR-400 (Konica Minolta Inc., Osaka, Japão). A oxidação lipídica foi determinada conforme método descrito por Vyncke (1970) que analisa as substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), com resultados expressos em mg de malonaldeído por quilograma de amostra.

Análise estatística

Resultados de força de cisalhamento, composição química, rendimento de preparo e encolhimento foram analisados utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x4 (hambúrguer defumado e não defumado (cozido em grill); e quatro formulações (quatro percentuais de inclusão de alecrim), com nove repetições. Resultados de pH, cor (L*, a* e b*) e oxidação lipídica (TBARS) foram analisados utilizando um DIC em esquema fatorial 2x4x3 (hambúrguer defumado e não defumado (cozido em grill); quatro formulações (quatro percentuais de inclusão de alecrim); e três períodos de armazenamento (início ou “sem armazenamento”, 15 dias de armazenamento e 30 dias de armazenamento), com nove repetições. Os dados foram analisados pelo procedimento “General Linear Models” do Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste Tukey com significância definida em P<0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maciez e composição química

Hambúrgueres defumados apresentaram maior força de cisalhamento (P=0,0017) do que hambúrgueres cozidos em grill, o que indica que a exposição à fumaça contribuiu para um

produto final menos macio (Tabela 2), em virtude da maior perda de água decorrente do processo de defumação (Tabela 3). Hambúrgueres contendo maior inclusão de alecrim (0,20%) apresentaram maior força de cisalhamento ($P=0,0105$) enquanto hambúrgueres contendo 0,10% de alecrim apresentaram menor força de cisalhamento (Tabela 2). Quanto à composição química, hambúrgueres defumados apresentaram maior percentual ($P<0,0001$) de proteína, gordura e cinzas do que hambúrgueres cozidos em grill. O conteúdo de proteína e gordura é mais elevado em produtos defumados do que em produtos in natura principalmente devido à perda de umidade decorrente do processo de desidratação que ocorre durante a defumação (Ribeiro, 2000; Sigurgisladottir *et al.*, 2000; Assis *et al.*, 2009). Não houve efeito da formulação ($P>0,05$) sobre as concentrações de proteína e de cinzas das formulações estudadas.

Houve interação ($P=0,0066$) entre defumação e inclusão de alecrim para a variável percentual de umidade, cujo desdobramento é mostrado na Tabela 3. Hambúrgueres defumados apresentaram menor umidade ($P<0,0001$)

(46,98%, em média) do que os hambúrgueres cozidos em grill (66,88%, em média). Hambúrgueres defumados formulados com maior inclusão de alecrim (0,15% e 0,20%) apresentaram maior percentual de umidade ($P<0,0001$) do que os demais. Em contrapartida, Assis *et al.* (2009) ao estudarem o efeito do alecrim na defumação de carne de rã observaram que não houve diferença de percentual de umidade para a carne defumada com (60%) e sem (63%) alecrim. A inclusão de alecrim na formulação de hambúrgueres de carne caprina que não foram defumados não influenciou o percentual de umidade das amostras.

Rendimento de preparo e percentual de encolhimento

Com relação ao rendimento de preparo e ao encolhimento proporcionados pela defumação e pelo cozimento, houve interação entre defumação e inclusão de alecrim para ambas as variáveis ($P=0,0116$ e $P=0,0011$, respectivamente), cujos desdobramentos também são mostrados na Tabela 3. Não houve diferença ($P>0,05$) entre hambúrgueres defumados e cozidos quanto

Tabela 2. Valores médios para força de cisalhamento (FC) e porcentagens de proteína, gordura e cinzas de hambúrgueres de carne caprina, elaborados com diferentes percentuais de inclusão de alecrim.

	FC (kgf/cm ²)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%)
Defumação (D)				
Defumado	2,161 ^A	23,97 ^A	13,66 ^A	3,25 ^A
Não defumado	1,716 ^B	15,02 ^B	9,03 ^B	2,24 ^B
Inclusão de Alecrim (I)				
Sem alecrim	1,877 ^{AB}	20,04	12,04 ^A	2,71
0,10%	1,614 ^B	20,19	12,26 ^A	2,76
0,15%	2,007 ^{AB}	19,06	10,89 ^B	2,69
0,20%	2,257 ^A	18,75	10,18 ^B	2,82
P-value (D)	0,0017	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (I)	0,0105	0,3151	<0,0001	0,7848
P-value (DxI)	0,0534	0,1254	0,4681	0,1195

^{A,B}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Tabela 3. Porcentagens médias de umidade, rendimento de preparo e encolhimento de hambúrgueres de carne caprina, elaborados com diferentes percentuais de inclusão de alecrim.

Umidade (%)				
Defumação (D)				
Inclusão de Alecrim (I)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem alecrim	46,12 ^{BCb}	66,62 ^{Aa}	(D)	<0,0001
0,10%	43,06 ^{Cb}	65,93 ^{Aa}	(I)	<0,0001
0,15%	48,82 ^{ABb}	67,31 ^{Aa}	(DxI)	0,0066
0,20%	49,94 ^{Ab}	67,67 ^{Aa}		
Rendimento de preparo (%)				
Defumação (D)				
Inclusão de Alecrim (I)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem alecrim	62,99 ^{ABa}	63,52 ^{Aa}	(D)	0,0690
0,10%	57,92 ^{Ba}	66,61 ^{Aa}	(I)	0,0114
0,15%	66,29 ^{Aa}	68,99 ^{Aa}	(DxI)	0,0116
0,20%	67,85 ^{Aa}	64,58 ^{Aa}		
Encolhimento (%)				
Defumação (D)				
Inclusão de Alecrim (I)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem alecrim	16,00 ^{Bb}	25,83 ^{Aa}	(D)	<0,0001
0,10%	22,82 ^{Aa}	24,99 ^{Aa}	(I)	0,0150
0,15%	19,49 ^{ABb}	24,85 ^{Aa}	(DxI)	0,0011
0,20%	16,59 ^{Bb}	26,03 ^{Aa}		

^{A,C}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{a,b}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

ao percentual de rendimento. Hambúrgueres defumados e com maior inclusão de alecrim (0,15% e 0,20%) apresentaram maior rendimento de preparo do que a formulação contendo 0,10% de alecrim, mas não diferiram estatisticamente da formulação elaborada sem a inclusão de alecrim. Hambúrgueres cozidos em grill apresentaram rendimento de preparo semelhante (P>0,05) para todas as formulações estudadas. Assis et al. (2009) concluíram que não foi verificada diferença quanto ao rendimento da carcaça e percentual de umidade da carne de rã defumada com o uso do alecrim. Entretanto, Santos Junior et al. (2009) ao avaliarem o rendimento de hambúrgueres de carne de ovinos de descarte, encontraram resultados que variaram de 46,53% a 59,39%, valores bastante inferiores aos encontrados neste estudo.

Quanto ao encolhimento, com exceção dos hambúrgueres contendo 0,10% de alecrim, hambúrgueres cozidos em grill apresentaram maior encolhimento (P<0,0001) do que os

hambúrgueres defumados. A inclusão de alecrim não influenciou o encolhimento de hambúrgueres não defumados.

Berry (1992) relatou a relação entre a quantidade de gordura e o percentual de encolhimento de hambúrgueres de carne bovina, sendo que quanto maior a quantidade de gordura menor é o encolhimento do hambúrguer. Neste estudo, como foi observado na Tabela 2, hambúrgueres defumados apresentaram maior percentual de gordura, ou seja, o processo de defumação proporcionou menor perda de gordura e, conseqüentemente, menor encolhimento. Com a defumação ocorrem alterações na qualidade nutricional do produto (Souza et al., 2004). A quantidade de gordura é importante para o processo de defumação, pois interfere no aroma e no sabor do produto defumado atuando como absorvedor de substâncias aromáticas presentes na fumaça (Nunes, 1999; Geromel e Forster, 1982).

pH, coloração e oxidação lipídica

Foram verificadas interações significativas entre defumação e inclusão de alecrim ($P=0,0016$) e entre defumação e armazenamento ($P<0,0001$) para a variável pH de hambúrgueres defumados e não defumados, armazenados por até 30 dias em freezer (-18°C), cujos desdobramentos são mostrados na Tabela 4. O ácido pirolenhoso, um dos principais componentes da fumaça e que atua na carne durante a defumação, é responsável por provocar a queda do pH (Roça, 2011), contudo, observamos que hambúrgueres defumados apresentaram pH superior ($P<0,05$) (5,59, em média) ao de hambúrgueres cozidos em grill (5,43, em média). Hambúrgueres defumados e que continham maior inclusão de alecrim (0,20%) apresentaram pH superior ($P<0,05$) ao das demais formulações, enquanto os produzidos sem a inclusão de alecrim apresentaram o menor valor de pH.

Hambúrgueres defumados apresentaram aumento do pH ao longo do armazenamento, de 5,33 para 5,78, enquanto hambúrgueres cozidos em grill apresentaram redução do pH de 5,56 para 5,39. Inicialmente pode-se observar que hambúrgueres defumados apresentaram pH inferior aos de hambúrgueres cozidos, como foi relatado por Roça (2011), entretanto, após 15 e 30 dias de armazenamento os hambúrgueres

defumados apresentaram pH mais elevado que os hambúrgueres cozidos.

Para que um produto cárneo seja considerado bom para consumo, o ideal é que o pH seja, de até 6,2 (Santos Junior *et al.*, 2009). Valores de pH entre 5,8 e 6,2 indicam que a carne está aceitável para o consumo; pH igual a 6,4 indica que a carne é recomendada apenas para o consumo imediato; e pH superior a 6,4 indica que a carne está imprópria para consumo (Terra y Brum, 1988). Assim, podemos afirmar que mesmo com as variações decorrentes do processo de defumação, da inclusão de alecrim nas formulações e do armazenamento por até 30 dias, os hambúrgueres estudados apresentaram resultados de pH dentro da faixa considerada ideal para consumo.

Shan *et al.* (2009) ao estudarem mudanças de coloração em carne suína tratada com extratos vegetais durante o armazenamento, observaram efeitos positivos dos extratos na estabilidade dos valores de L^* e de a^* , no entanto, a quantidade de alecrim incluída nas formulações não influenciou ($P>0,05$) a coloração dos hambúrgueres (em média $L^* = 45,00$, $a^* = 9,13$, e $b^* = 14,11$). Houve interação significativa entre defumação e armazenamento para as variáveis luminosidade (L^*) [$P<0,0001$], intensidade de vermelho (a^*) [$P<0,0001$] e intensidade de

Tabela 4. Valores médios de pH de hambúrgueres de carne caprina, elaborados com diferentes percentuais de inclusão de alecrim, armazenados por até 30 dias.

Defumação x Inclusão de Alecrim				
Defumação (D)				
Inclusão de Alecrim (I)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem alecrim	5,56 ^{Ba}	5,39 ^{Bb}	(D)	<0,0001
0,10%	5,59 ^{ABa}	5,51 ^{Ab}	(I)	<0,0001
0,15%	5,58 ^{ABa}	5,40 ^{Bb}	(DxI)	0,0016
0,20%	5,64 ^{Aa}	5,44 ^{Bb}		

Defumação x Armazenamento				
Defumação (D)				
Armazenamento (A)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem armazenamento	5,33 ^{Cb}	5,56 ^{Aa}	(D)	<0,0001
15 dias	5,66 ^{Ba}	5,34 ^{Bb}	(A)	<0,0001
30 dias	5,78 ^{Aa}	5,39 ^{Bb}	(DxA)	<0,0001

^{A,C}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

^{a,b}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

amarelo (b^*) [$P=0,0238$], cujos desdobramentos são mostrados na Tabela 5.

De maneira geral, hambúrgueres defumados apresentaram menor valor de L^* ($P<0,0001$) e maiores valores de a^* ($P<0,0001$) e de b^* ($P<0,0001$) do que hambúrgueres cozidos em grill. Durante o armazenamento por 30 dias, hambúrgueres defumados apresentaram aumento ($P=0,0024$) do valor de L^* de 35,14 para 44,72 e redução ($P<0,0001$) do valor de a^* (de 11,58 para 10,36), cujas reduções na intensidade de vermelho podem ser atribuídas a processos oxidativos da carne (Higgins et al., 1998; Lee et al., 1998; Shan et al., 2009), que estão associados com a descoloração da carne e que resultam na formação de pró-oxidantes que reagem com a oximioglobina formando metamioglobina (Milani et al., 2012). O período de armazenamento não influenciou a intensidade de amarelo de amostras defumadas. Hambúrgueres cozidos em grill apresentaram redução ($P<0,05$) da luminosidade de 52,34 para 46,41, do valor de a^* (de 12,05 para 4,09) e do valor de b^* (de 13,00 para 10,67) ao longo do período de armazenamento.

Quanto à análise de oxidação lipídica, foram verificadas interações significativas entre defumação e inclusão de alecrim ($P<0,0001$), entre defumação e armazenamento ($P<0,0001$) e entre inclusão de alecrim e armazenamento ($P=0,0240$) para os níveis de TBARS, cujos desdobramentos são mostrados na Tabela 6.

Hambúrgueres defumados e que continham alecrim nas formulações, independente do percentual de inclusão, apresentaram oxidação lipídica superior à de hambúrgueres cozidos em grill. Com a inclusão de alecrim foi verificado aumento da oxidação lipídica em hambúrgueres defumados, quando comparados com os hambúrgueres produzidos sem a inclusão de alecrim (grupo testemunha) (de 3,515 mg MDA/kg para 3,923 mg MDA/kg); o inverso ocorreu em hambúrgueres cozidos em grill (de 3,458 mg MDA/kg para 2,880 mg MDA/kg). Houve aumento da oxidação lipídica durante o armazenamento ($P<0,0001$) de hambúrgueres cozidos em grill (de 2,580 mg MDA/kg para 3,716 mg MDA/kg), o que indica que o processo de defumação foi eficiente em prevenir a deterioração do produto cárneo avaliado.

Tabela 5. Valores médios de luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) de hambúrgueres de carne caprina armazenados por até 30 dias.

L^*				
Defumação (D)				
Armazenamento (A)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem armazenamento	35,14 ^{Bb}	52,34 ^{Aa}	(D)	<0,0001
15 dias	43,43 ^{Aa}	46,41 ^{Ba}	(A)	0,0024
30 dias	44,72 ^{Ab}	47,94 ^{Ba}	(DxA)	<0,0001
a^*				
Defumação (D)				
Armazenamento (A)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem armazenamento	11,58 ^{Aa}	12,05 ^{Aa}	(D)	<0,0001
15 dias	10,94 ^{ABa}	5,74 ^{Bb}	(A)	<0,0001
30 dias	10,36 ^{Ba}	4,09 ^{Cb}	(DxA)	<0,0001
b^*				
Defumação (D)				
Armazenamento (A)	Defumado	Não defumado	P-value	
Sem armazenamento	16,99 ^{Aa}	13,00 ^{Ab}	(D)	<0,0001
15 dias	17,13 ^{Aa}	11,28 ^{Bb}	(A)	<0,0001
30 dias	15,61 ^{Aa}	10,67 ^{Bb}	(DxA)	0,0238

^{A,C}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

^{a,b}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Tabela 6. Valores médios para oxidação lipídica (TBARS) (mg MDA/kg) de hambúrgueres de carne caprina elaborados com diferentes percentuais de inclusão de alecrim, armazenados por até 30 dias.

Defumação x Inclusão de Alecrim					
Defumação (D)					
Inclusão de Alecrim (I)	Defumado	Não defumado	P-value		
Sem alecrim	3,515 ^{Ba}	3,458 ^{Aa}	(D)	<0,0001	
0,10%	3,727 ^{ABa}	2,880 ^{Bb}	(I)	0,1732	
0,15%	3,923 ^{Aa}	2,950 ^{Bb}	(DxI)	<0,0001	
0,20%	3,886 ^{ABa}	3,015 ^{Bb}			
Defumação x Armazenamento					
Defumação (D)					
Armazenamento (A)	Defumado	Não defumado	P-value		
Sem armazenamento	3,539 ^{Aa}	2,580 ^{Cb}	(D)	<0,0001	
15 dias	3,253 ^{Aa}	2,931 ^{Bb}	(A)	<0,0001	
30 dias	3,496 ^{Aa}	3,716 ^{Aa}	(DxA)	<0,0001	
Inclusão de Alecrim x Armazenamento					
Armazenamento (A)					
Inclusão de Alecrim (I)	Sem armazenamento	15 dias	30 dias	P-value	
Sem alecrim	3,031 ^{Ab}	3,465 ^{Aab}	3,963 ^{Aa}	(A)	<0,0001
0,10%	3,017 ^{Aa}	3,489 ^{Aa}	3,405 ^{Ba}	(I)	0,1732
0,15%	3,064 ^{Ab}	3,684 ^{Aa}	3,562 ^{ABa}	(IxA)	0,0240
0,20%	3,127 ^{Ab}	3,730 ^{Aa}	3,494 ^{ABab}		

^{A,C}Médias seguidas por letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ^{a,b}Médias seguidas por letras minúsculas distintas, nas linhas, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). TBARS: substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico; MDA: malonaldeído.

Após 30 dias de armazenamento foi verificada redução da oxidação lipídica com a inclusão de pelo menos 0,10% de alecrim nas formulações. De todas as formulações estudadas, a inclusão de 0,10% de alecrim proporcionou melhor estabilidade oxidativa ao hambúrguer produzido, uma vez que após 15 e 30 dias de estocagem, os hambúrgueres apresentaram valores de TBARS estatisticamente iguais aos de hambúrgueres que não foram armazenados. Nassu et al. (2003) ao avaliarem a estabilidade oxidativa de salsicha produzidas com carne de cabra e diferentes níveis de antioxidantes naturais, concluíram que as formulações que continham 0,05% de alecrim apresentaram menores valores iniciais de TBARS e melhor estabilidade oxidativa durante a estocagem por 90 dias.

CONCLUSÕES

O processo de defumação provoca a redução da maciez de hambúrgueres, no entanto preserva seu formato e sua composição nutricional e atua na prevenção de processos oxidativos durante o armazenamento, aumentando a vida de prateleira dos hambúrgueres. A inclusão de 0,10% de alecrim in natura nas formulações também proporciona melhor estabilidade oxidativa e, conseqüentemente, previne a deterioração de hambúrgueres de carne caprina durante o armazenamento.

LITERATURA CITADA

AOAC (Association of Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis. 18th ed. Washington, DC. Disponível em: <http://>

- www.eoma.aoac.org/methods/ [Fev. 27, 2016].
- Assis, M. F., M. L. R. S. Franco, M. V. Stéfani, N. P. Franco, L. C. Godoy, A. C. Oliveira, J. V. Visentainer, A. F. Silva e A. L. V. Hoch. 2009. Efeito do alecrim na defumação da carne de rã (*Rana catesbeiana*): características sensoriais, composição e rendimento. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 29:553-556.
- Berry, B. W. 1992. Low fat level effects on sensory, shear, cooking and chemical properties of ground beef patties. *J. Food Sci.* 57:537-540.
- Geromel, E. J. e R. J. Forster. 1982. Princípios fundamentais em tecnologia do pescado. Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia. São Paulo, Brasil. 127 p.
- Higgins, F. M., J. P. Kerry, D. J. Buckley and P. A. Morrissey. 1998. Effect of dietary α -tocopheryl acetate supplementation on α -tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Sci.* 50:373-383.
- Lee, H. S. and Y. J. Ahn. 1998. Growth-inhibiting effects of *Cinnamomum cassia* bark-derived materials on human intestinal bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 46:8-12.
- Milani, L. I. G., N. N. Terra, L. L. M. Fries e E. H. Kubota. 2012. Efeito de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte e do extrato oleoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) nas características sensoriais e na estabilidade da cor de hambúrguer de carne bovina congelado. *Semin-Cienc. Agrar.* 1085-1094.
- Nassu, R. T., L. A. G. Gonçalves, M. A. A. P. Silva and F. J. Beserra. 2003. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidante. *Meat Sci.* 63:43-49.
- Nunes, M. L. 1999. Defumação. En: Ogawa, M. e E. L. Maia (Eds.) *Manual de Pesca - Ciência e Tecnologia do Pescado*. Varela, São Paulo, Brasil. pp. 300-306.
- Padilha, A. D. G. Antioxidante natural de erva mate na conservação da carne de frango in vivo. 2007. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. 97 p.
- Ramalho, V. C. e N. Jorge. 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Quim. Nova.* 29:755-760.
- Resosemito, F. S., J. C. Q. Morais, T. L. S. Queiroz, F. C. S. Ferreira, K. S. Almeida e D. L. Lobato. 2012. Formulação, preparação e avaliação sensorial de hambúrguer da carne de caprinos de descarte com diferentes teores da gordura. In: VII CONNEPI (Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação). Disponível em: <http://prop.i.iftto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/view/4683> [Abr. 09, 2016].
- Ribeiro, S. C. A. 2000. Secagem e defumação líquida de filé de peixe matrinhã (*Brycon cephalus*). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo, Brasil. 101 p.
- Roça, R. O. 2011. Defumação. Disponível em: <http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca112.pdf> [Abr. 10, 2016].
- Santos Junior, L. C. O., R. Rizzatti, A. Brungera, T. J. Schiavini, E. F. M. Campos, J. F. Scalco Neto, L. B. Rodrigues, E. L. Dickel e L. R. Santos. 2009. Desenvolvimento de hambúrguer de carne de ovinos de descarte enriquecido com farinha de aveia. *Ci. Anim. Bras.* 10:1128-1134.
- SAS Institute Inc. (2002-2003) 'SAS Version 9.1.' (SAS Institute Inc.: Cary, NC).
- Sebranek, J. G., V. J. H. Sewalt, K. L. Robbins and T. A. Houser. 2005. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Sci.* 69:289-296.
- Shan, B., Y. Z. Cai, J. D. Brooks and H. Corke. 2009. Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural

preservatives of raw pork. J. Sci. Food Agr. 89:1879-1885.

Sigurgisladottir, S., M. S. Sigurgisladottir, O. Torrissen, J. L. Vallet and H. Hafsteinsson. 2000. Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo solar*) fillets. Food Res. Int. 33:847-855.

Souza, M. L. R., A. E. Baccarin, E. M. M. Viegas e S. N. Kronka. 2004. Defumação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: Aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. R. Bras. Zootec. 33:27-36.

Terra, N. N. e M. A. R. Brum. 1988. Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade. Nobel. São Paulo. Brasil. 119 p.

Vyncke, B. W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fett Wiss. Technol. 72:1084-1087.

Produção e composição do leite e digestibilidade da dieta em vacas mestiças alimentadas com caroço de algodão

Production and composition of milk and digestibility of the diet in mestizo cows fed with cottonseed

Producción y composición de leche y digestibilidad de la dieta en vacas mestizas alimentadas con semilla de algodón

Fagner Machado Ribeiro^{1*}, Alan Soares Machado², Lidiane de Oliveira Silva¹, Marcelo Marcondes Godoy², Oscar Lopes de Farias Júnior², Wiliam Henrique Diniz Buso² e Emizael Menezes de Almeida¹

¹Instituto Federal Goiano – Câmpus Ceres. Curso de Zootecnia. Ceres, Brasil. ²Instituto Federal Goiano – Câmpus Ceres. Departamento de Zootecnia. Ceres, Brasil. *Correio eletrônico: fagnermr@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se, avaliar os efeitos da inclusão de diferentes níveis de caroço de algodão - CA (0,0; 6,0; 11,0; 17,0%) na ração de gado leiteiro, sobre a produção e a composição do leite, assim como na digestibilidade da dieta, em substituição do concentrado com base na matéria seca. Foram utilizadas quatro vacas mestiças (Europeu x Zebu) com aproximadamente 500 kg/PV, produção média de 15 kg/leite/dia. Utilizou-se delineamento em quadrado latino 4 x 4, totalizando 60 dias, subdividido em quatro períodos de 15 dias cada, sendo 10 dias de adaptação e cinco dias coletando dados. Não houve efeito significativo ($P > 0,05$) no consumo de matéria seca, fibra em detergente neutro, proteína bruta, carboidrato não fibroso, carboidratos totais, nutrientes digestíveis totais, coeficiente de digestibilidade aparente total da matéria seca, produção de leite (kg/d), Gordura (%), extrato seco desengordurado (ESD %), extrato seco total (EST %), Proteína (kg/d), relação Proteína: Gordura, eficiência alimentar, eficiência alimentar corrigida, concentração de energia (Mcal/kg). O consumo de extrato etéreo (EE) teve um comportamento linear crescente ($P < 0,05$). A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (kg/d) e energia da lactação (Mcal/d) diminuíram ($P < 0,05$) linearmente, já a o teor e produção de lactose (kg/d) tiveram comportamentos quadráticos. O caroço de algodão pode ser oferecido aos animais com até 15 kg/leite/dia sem comprometer o consumo de matéria seca (CMS). Entretanto, a administração de CA a níveis superiores a 11% demonstrou efeito negativo sobre a produção e composição do leite.

Palavras-chave: coproduto, lipídeos, vacas leiteiras

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of including different levels of whole cottonseed - WC (0.0, 6.0, 11.0, 17.0%) into dairy cattle ration, on milk production and composition, as well as digestibility of the diet, to substitute dry-matter based concentrate food. Four european-zebu cows (nearly 500 kg/LW), with an average in production of 15 kg of milk per day, and a latin square design were used. The experiment was performed during a 60-day period, split into four sub-periods of 15 days, wich consisted of a 10-day adaptation, and a 5-day data collection. There was no significant effect ($P > 0,05$) on dry matter consumption, neutral detergent fiber, crude protein, non-fibrous carbohydrate, total carbohydrates, total digestible nutrients, dry matter apparent digestibility coefficient, milk yield (kg/day), fat (%), defatted dry extract (%), total dry extract (%), protein (kg/day), protein/fat ratio, food efficiency, corrected feed efficiency and energy concentration (Mcal/kg). The intake of ether extract had an increasing lineal behavior ($P < 0.05$). However, milk production, (corrected to 3,5 fat), fat (kg/day) and lactation energy (Mcal/day), showed a decreasing lineal behavior ($P < 0.05$), while lactose content and production (kg/day), had a quadratic response. Therefore, WC can be offered to animals producing up to 15kg milk a day, without compromising dry matter consumption. On the other hand WC supply levels above 11% showed negative effects on milk production and composition.

Key words: coproduct, lipids, milk cows.

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de diferentes niveles de inclusión de semillas de algodón – SA (0,0; 6,0; 11,0; 17,0%) en la ración de vacas lecheras, sobre la producción y composición de la leche, así como en la digestibilidad de la dieta, reemplazando el concentrado con base en la materia seca. Fueron utilizadas cuatro vacas mestizas con aproximadamente 500 kg/PV, producción media de 15 kg/leche/día. Se utilizó un diseño cuadrado latino 4x4, totalizando 60 días, subdivididos en cuatro periodos de 15 días cada uno, siendo 10 días de adaptación y 5 días de recolección de datos. No hubo efecto significativo ($P > 0,05$) en el consumo de materia seca, fibra en detergente neutro, proteína bruta, carbohidrato no fibroso, carbohidratos totales, nutrientes digestibles totales, coeficiente de digestibilidad aparente total de la materia seca, producción de leche (kg/d), grasa (%), extracto seco sin grasa (ESD) (%), extracto seco total (EST %), proteína (Kg/d), relación proteína-grasa, de la eficiencia alimenticia, eficiencia alimenticia corregida, concentración de energía (Mcal/kg). El consumo de extracto etéreo (EE) tuvo un comportamiento lineal creciente ($P < 0,05$). La producción de leche corregida para 3,5% de grasa (kg/d) y energía de lactación (Mcal/d) disminuyeron ($P < 0,05$) linealmente, ya el tenor y producción de lactosa (kg/d) tuvieron comportamientos cuadráticos. La semilla de algodón puede ser ofrecida a los animales con hasta 15 kg/leche/días sin comprometer consumo de materia seca (CMS). Sin embargo, la administración de CA a niveles superiores a 11% demostró un efecto negativo sobre la producción y composición de leche.

Palabras clave: subproductos, lípidos, vacas lecheras

INTRODUÇÃO

Em 2014 a produção nacional de leite sob inspeção federal, estadual e municipal, aumentou 5,0% relativamente ao ano de 2013, alcançando um total de 24,7 bilhões de litros (Fagundes, 2015). O Brasil vem apresentando um constante crescimento na produção de leite, sendo que ainda temos, nos índices de produtividade, indicadores muito desfavoráveis em média, uma vaca brasileira produz por dia pouco mais de quatro litros de leite por dia. A baixa produção

por vaca mostra que existe potencial para incremento da produção nacional.

Dentre os diversos fatores que comprometem a produção de leite, alimentar as vacas lactantes tem sido o um desafio para os nutricionistas que buscam sempre manter um bom estado corporal do animal a fim de maximizar a produção leiteira, de forma que se minimizem os custos da dieta, pois é sabido que a alimentação corresponde cerca de 70% dos custos de produção. Com isso busca-se minimizar os custos de produção utilizando alimentos alternativos, de menor custo e de alto valor nutritivo, em substituição aos convencionais.

Nos últimos anos a utilização do caroço de algodão na dieta de vacas em lactação vem sendo incrementada no Brasil, principalmente pela disponibilidade desse produto em algumas regiões e o alto custo da suplementação proteica.

Pesquisas vêm mostrando que o caroço de algodão pode ser usado de várias formas físicas (inteiro, moído, triturado etc.) na alimentação de ruminantes bem como a sua importância com relação à cinética ruminal e seus efeitos na produção de leite (Teixeira *et al.*, 2002; Pires *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011).

A frequente utilização do caroço de algodão em dietas de bovinos se deve ao fato deste alimento apresentar boa característica como fonte de proteína bruta (PB), de energia e fósforo. Três nutrientes que representa os maiores custos nas dietas e comumente deficientes nas mesmas. Grande parte da proteína do caroço de algodão é degradada no rúmen (77%), uma característica interessante do ponto de vista nutricional, considerando a disponibilidade do nitrogênio desse alimento para síntese de proteína microbiana (Conab, 2012).

Além das demais características nutricionais, o caroço de algodão apresenta em sua composição um considerável teor de fibra. Esta fibra dispõe de uma efetividade relativamente alta, estimulando a ruminação e a preservação do funcionamento ruminal, apresentando alta digestibilidade, permitindo a substituição de alimentos volumosos na dieta sem prejudicar a fermentação ruminal (Costa, 2010).

Segundo Costa *et al.* (2011) a justificativa para a suplementação com caroço de algodão é

baseada em três hipóteses são elas: melhora da resposta animal especialmente na fase inicial da lactação, em que o consumo de alimentos é limitado pelo stress pós-parto (15% em média), evitando, assim, a perda de peso, o balanço energético negativo e, conseqüentemente, a redução da produção total de leite na lactação, pelo aumento do nível de energia na alimentação.

Sendo assim o presente estudo teve como objetivo, avaliar os efeitos da inclusão de diferentes níveis de caroço de algodão (CA) na dieta de vacas lactantes, sobre o consumo e a digestibilidade aparente total da matéria seca, bem como a produção e composição do leite.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de bovinocultura do Instituto Federal Goiano - Câmpus Ceres, a 15° 21'02,5" S e 49° 35'53,8" W Gr, no período de 03 de Novembro de 2013 a 06 de Janeiro de 2014. Foram utilizadas quatro vacas mestiças (Europeu x Zebu) terço médio da lactação com aproximadamente 500 kg/PV, com uma produção média diária de 15 kg de leite. As vacas foram mantidas confinadas em baias individuais, com comedouros e bebedouros e área de 48 m², cobertas por telha de barro na linha central do comedouro e sombrite na área

de descanso. As baias possuíam 50% do piso de bloquete, sobre o qual foi colocado bagaço de cana, com a finalidade de servir de cama e o restante do piso era de chão batido.

As dietas experimentais foram formuladas utilizando como referência o AFRC (1993) para atender as exigências nutricionais das vacas de forma que fossem isoprotéicas, contendo silagem de milho como volumoso. Todas as dietas tiveram a mesma proporção de volumoso concentrado (70:30). Os tratamentos testados foram: dieta controle sem caroço de algodão 0,0; 6,0; 11,0 e 17,0% de CA em substituição do concentrado da dieta em relação da MS.

As dietas foram fornecidas duas vezes por dia às 8h00 e 16h00 na forma de dieta total, tendo como volumoso a silagem de milho, sendo oferecidas 40% pela manhã e 60% à tarde, em quantidade que assegurasse consumo à vontade com sobras de no máximo 10% do total oferecido que foram retiradas e pesadas diariamente. Utilizou-se um quadrado latino 4 x 4, tendo 10 dias para adaptação e cinco dias para coleta dos dados, perfazendo quatro períodos de 15 dias. A proporção dos ingredientes e composição química das dietas experimentais está descrita na Tabela 1. O LIPE® foi utilizado como marcador externo, para determinação da digestibilidade aparente da matéria seca das

Tabela 1. Percentual dos ingredientes e composição química das dietas experimentais com base na matéria seca

Ingredientes	Tratamentos			
	0	6	11	17
Silagem de Milho	70,62	70,8	71,08	74,23
Caroço de Algodão	0	6	11	17
Milho	17,3	13,82	10,5	5,19
Farelo de Soja	10,14	8,1	6,2	3
CalcárioCalcítico	0,65	0,52	0,4	0,19
FriRibe 160	0,97	0,78	0,61	0,29
Sal Comum	0,32	0,26	0,21	0,1
Composição química (%MS)				
Matéria Seca	34,67	34,77	35,11	35,77
Proteína Bruta	12,22	13,11	12,22	13,11
Extrato Etéreo	3,2	4	5,2	5,5
Matéria Mineral	5,2	4,7	5,1	5,1
NDT	70,2	70,9	72,2	73,7

NDT: Nutrientes digestíveis totais.

dietas. O mesmo foi administrado as 8h:00m da manhã na forma de uma cápsula de 500mg/dia, que foi incorporada a dieta, tendo a certeza de sua ingestão. Sendo dois dias de adaptação e cinco de coletas. Foram coletadas cerca de 300g de amostras de fezes, da porção final do reto, nos últimos cinco dias de cada período no horário das 8h:00m da manhã, sendo colocadas em sacos plásticos devidamente identificados e armazenados em freezer a -20°C , ao final do experimento foi realizada uma amostragem composta de 400g para uma secagem em estufas de ventilação forçada ($55-60^{\circ}\text{C}$) por 72 horas, onde foi determinada a matéria seca, de acordo com (AOAC,1990). Posteriormente foi embalada 10g da mesma devidamente identificada, que foi enviada ao laboratório para determinação da digestibilidade.

O alimento oferecido e o recusado foram pesados diariamente para determinação do consumo de matéria seca (MS) por animal/dia, durante os cinco dias de coleta de dados de cada período. Antes do fornecimento das dietas, amostras de alimento oferecido foram coletadas separadamente (a silagem na quantidade de 200 g/d). As sobras de alimento foram amostradas e compostas por vaca e período. As amostras foram conservadas congeladas a -20°C e, posteriormente, foram descongeladas e secas em estufas de ventilação forçada ($55-60^{\circ}\text{C}$) por 72 horas, onde foi determinado o teor de matéria seca, de acordo com (AOAC, 1990).

Depois de secas as amostras de alimento oferecido e recusado, foram moídas em um moinho tipo Willey, provido de peneiras de 1mm e analisadas para matéria seca (105°C durante 15 horas), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB), de acordo com a AOAC (1990), e fibra em detergente neutro (FDN) e fibra detergente ácido (FDA), de acordo com (Van Soest, 1991).

A ordenha mecânica das vacas foi realizada duas vezes ao dia 7h:00m da manhã e 15h:00m da tarde. O leite foi pesado diariamente no período de coleta de dados nas duas ordenhas para controle individual de produção. A produção de leite foi avaliada durante as ordenhas com o auxílio de um medidor automático de leite acoplado no sistema de ordenha, da marca True Test®, fracionado em intervalos de 0,500 kg, com capacidade de estimar até 31 kg de leite por vaca.

A produção, assim como as amostragens do leite para análise de composição, foi realizada durante as duas ordenhas nos últimos dois dias de cada período. Para tanto foram encaminhadas para o Laboratório de Qualidade do Leite (LQL) do Centro de Pesquisa de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (LQL/UFG). Para o cálculo da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, utilizou-se a seguinte equação: $\text{LCG } 3,5\% = (0,4255 \times \text{kg leite}) + [16,425 \times (\% \text{gordura} \div 100) \times \text{kg de leite}]$ (Gaines, 1928).

Para o cálculo do consumo de nutrientes digestíveis totais, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, proteína bruta e carboidrato não fibroso adotou-se a multiplicação do consumo de matéria seca (CMS) pelo percentual de cada nutriente determinado na matéria seca da dieta dividido por 100.

A concentração energética do leite (Mcal/kg) de leite produzido foi estimada a partir da seguinte fórmula: $(\text{Mcal/kg}) = (0,0929 \times \% \text{gordura}) + (0,0547 \times \% \text{proteína}) + (0,0395 \times \% \text{lactose})$. Os valores encontrados foram multiplicados pela produção de leite (kg/d), obtendo-se a energia líquida da lactação expressa em Mcal/dia (NRC, 2001).

Os cálculos para eficiência alimentar e eficiência alimentar corrigida foram realizados segundo Eifert *et al.* (2005) de acordo com a fórmula: $\text{EA} = \text{PL (kg/d)} \div \text{CMS (kg/d)}$; $\text{EA corrigida} = \text{PLC (kg/d)} \div \text{CMS (kg/d)}$, em que: EA = eficiência alimentar; PL = produção de leite; CMS = consumo de matéria seca; EA corrigida = eficiência alimentar corrigida; PLC = produção de leite corrigida.

O experimento instalado foi delineado em quadrado latino 4 x 4 (quatro animais e quatro períodos). As variáveis foram analisadas por meio de modelos de regressão polinomial em função dos tratamentos (níveis de caroço de algodão) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% com o auxílio do *software* SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada interação significativa ($P > 0,05$) para os níveis de inclusão do caroço de algodão (CA) nas dietas de vacas lactantes em relação ao consumo da matéria seca (CMS), nutrientes digestíveis totais (CNDT), fibra em detergente neutro (CFDN), proteína bruta (CPB), carboidrato

não fibroso (CCNF), carboidratos totais (CCT) (Tabela 2).

Observou-se aumento linear ($P < 0,05$) no consumo de extrato etéreo (CEE), de acordo com os níveis crescentes de inclusão de CA (Tabela 2), que é reflexo do conteúdo de EE do caroço de algodão e sua respectiva porcentagem de inclusão na dieta. O CA apresenta na sua composição bromatológica cerca, 20% de extrato etéreo (Manella & Bion 2000). Na literatura encontram-se relatos que avaliaram a inclusão de fontes de gordura na dieta de bovinos e o consumo de EE foi crescente (Duarte *et al.*, 2005; Borba *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2009; Araújo, 2012).

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$), para o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, os resultados obtidos neste estudo foram: 71,67% para os animais que não receberam CA; 71,95% para 6% de CA; 70,09% para 11% de CA; 71,73% para 17% de inclusão de CA, na dieta de vacas mestiças Holandês-Zebu. Costa (2010) em estudo com vacas mestiças holandês x zebu em lactação confinadas recebendo silagem de cana-de-açúcar e concentrado com níveis de 5, 10 e 15% de inclusão de caroço de algodão, também não encontrou diferença significativa para a digestibilidade aparente da MS.

As médias referentes à produção de leite (PL), produção de leite corrigida a 3,5% (PLC 3,5%), porcentagens de gordura, extrato seco desengordurado (ESD), extrato seco total (EST), gordura (kg/d), proteína e lactose em (kg/d); além da relação proteína: gordura, bem como os respectivos coeficientes de variação, equações de regressão em função da proporção de caroço de algodão nas dietas, são mostrados na (Tabela 4).

Verificou-se que a produção de leite, porcentagem de gordura, proteína, ESD, EST, proteína (kg/d) e a relação proteína: gordura não foram alteradas ($P > 0,05$) com a adição de caroço de algodão na dieta (Tabela 3). Os valores apresentados neste estudo para PL e a porcentagem de gordura não diferiram em função da inclusão do caroço de algodão, resultados semelhantes foram encontrados por Mello *et al.* (2006) e Costa *et al.* (2011).

A produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, produção de gordura (kg/d), lactose (kg/d) diminuiu ($P < 0,05$) à medida que os níveis de CA foram aumentando na dieta das vacas (Tabela 3). Isso ocorreu devido o menor valor biológico da proteína do caroço de algodão, que não foi capaz de fornecer os aminoácidos limitantes à produção.

Tabela 2. Consumo de nutrientes por vacas lactantes ingerindo dietas com diferentes níveis de caroço de algodão (CA).

Variável	Tratamentos					Regressão	
	0	6	11	17	CV%	Modelo	R ²
CMS (kg/dia)	15,22	15,21	13,76	14,01	9,17	y=ns	-
CNDT (kg/dia)	10,68	10,79	9,66	10,33	9,19	y=ns	-
CFDN (kg/dia)	5,06	5,28	4,54	4,74	9,11	y=ns	-
CEE (kg/dia)	0,49	0,61	0,72	0,77	10,67	0,5017+0,0159x	0,97
CPB (kg/dia)	1,67	1,81	1,51	1,63	9,08	y=ns	-
CCNF (kg/dia)	7,21	6,35	6,29	6,13	9,17	y=ns	-
CCT (kg/dia)	12,27	11,64	10,83	10,87	9,14	y=ns	-

CMS: Consumo de matéria seca, CNTD: Consumo de nutrientes digestíveis totais, CFDN: Consumo de Fibra em Detergente Neutro, CEE: Consumo de Extrato Etéreo, CPB: Consumo de proteína bruta; CCNF: Consumo de carboidrato não-fibroso; CCT: Consumo de carboidrato total, CV: coeficiente de variação, ns: não significativo, R²: Coeficiente de determinação.

Tabela 3. Produção e composição do leite de vacas lactantes alimentadas com diferentes níveis de caroço de algodão na MS.

Variável	Tratamentos					Regressão	
	0	6	11	17	CV%	Modelo	R ²
PL (kg/dia)	17,13	15,88	14,44	13,5	10,21	y=ns	-
PLC 3,5% (kg/dia)	17,11	15,70	14,73	14,17	6,07	y=16,8917-0,1628x	0,96
Gordura (%)	3,51	3,42	3,64	3,80	10,21	y=ns	-
Proteína (%)	2,98	2,91	2,85	2,94	3,42	y=ns	-
Lactose (%)	4,68	4,62	4,51	4,52	1,59	y=0,684-0,01825x+0,000486x ²	0,92
ESD (%)	8,65	8,58	8,40	8,52	1,58	y=ns	-
EST (%)	12,17	12,0	12,05	12,33	3,57	y=ns	-
Gordura (kg/dia)	0,60	0,54	0,52	0,51	5,36	y=0,5845-0,00452x	0,86
Proteína (kg/dia)	0,11	0,10	0,10	0,11	11,64	y=ns	-
Lactose (kg/dia)	0,80	0,72	0,67	0,64	6,92	y=0,8013-0,015x+0,0003x ²	0,99
Proteína:Gordura	0,85	0,86	0,79	0,77	9,98	y=ns	-

PL: Produção de leite, PLC 3,5%; Produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, ESD: Estrato seco desengordurado, EST: Estrato seco total, CV: coeficiente de variação, R²: Coeficiente de determinação, ns: não significativo.

Tabela 4. Eficiência alimentar, concentração energética do leite e energia da lactação de vacas lactantes alimentadas com diferentes teores de caroço de algodão na dieta.

Variável	Tratamentos					Regressão	
	0	6	11	17	CV%	Modelo	R ²
Eficiência Alimentar (EA)	1,13	1,04	1,05	0,96	10,27	y=ns	-
EA corrigida	1,12	1,03	1,07	1,01	6,24	y=ns	-
Conc. de energia (Mcal/kg)	0,67	0,66	0,67	0,69	5,43	y=ns	-
Energia da lactação (Mcal/dia)	11,49	10,47	9,68	9,35	6,51	y=11,3285-0,12x	0,95

EA = PL/CMS; EA corrigida= PLC/CMS. R²: Coeficiente de determinação, CV: coeficiente de variação, R²: Coeficiente de determinação, ns: não significativo. Sendo PL: e CMS:

Martinez (2008) avaliando o desempenho produtivo, o comportamento ingestivo e o metabolismo ruminal de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação das chuvas e manejadas em sistema de rotação, substituindo-se diferentes proporções do milho por caroço de algodão (7,0; 14,0; e 21,0%) no concentrado oferecido aos animais, relatou que

ocorreram menores produções de leite, gordura, proteína, lactose e de sólidos totais, bem como menores teores de lactose no leite com a inclusão crescente do CA.

A produção de gordura (kg/d) diminuiu linearmente (P<0,05), Tabela 3. Possivelmente com a adição de CA ocorreu uma menor produção ruminal de microrganismos

acarretando assim em inibição da síntese de gordura. Essa inibição se dá principalmente em razão do maior conteúdo de lipídeos insaturados presente no caroço de algodão e, ainda, devido aos efeitos ruminais e pós-ruminais desses ácidos graxos. O efeito ruminal dos lipídios que acarretam diminuição dos teores de gordura do leite geralmente está associado ao efeito tóxico sobre a população bacteriana, resultando em diminuição da produção de acetato e butirato no rúmen, substratos fundamentais para a síntese de gordura na glândula mamária (Costa *et al.*, 2011).

Com o crescente teor lipídico nas dietas, provavelmente ocorreu a formação de isômero *trans*-10 C_{18:1} e seu ácido linoléico conjugado (CLA) correlato, durante a biohidrogenação dos ácidos graxos no rúmen (Eifert *et al.*, 2006; Machado, 2014). Uma vez que, a gordura presente no CA é altamente insaturada e, ainda, devido aos efeitos ruminais e pós-ruminais desse ácido graxo (Costa *et al.*, 2011), há maior probabilidade de formação deste isômero por biohidrogenação incompleta, o CLA *trans*-10, *cis*-12 o que promove inibição da síntese de novo de ácidos graxos de cadeia curta reduzindo a síntese de gordura no leite (Machado, 2014).

A redução na síntese de proteína microbiana pode ter limitado o fluxo de proteína metabolizável para o intestino das vacas e assim afetado negativamente a produção de leite. A possível redução no consumo de MS pode ter afetado o consumo de energia, pode ter causado o efeito negativo na produção composição do leite. A redução na síntese microbiana ruminal, a baixa degradabilidade ruminal da proteína do caroço e sua qualidade inferior à proteína do farelo de soja, certamente resultaram em menor fluxo de proteína metabolizável para o intestino e pior qualidade desta proteína. Estes fatores têm efeito marcante na produção e composição do leite (NRC, 2001).

Houve efeito quadrático com tendência a diminuir ($P < 0,05$) no teor quanto à produção de lactose do leite, com a inclusão crescente de caroço de algodão (Tabela 3). A redução no teor de lactose do leite pode ocorrer em função da menor disponibilidade de compostos gliconeogênicos para o fígado sintetizar glicose.

Tais variações quanto à produção de lactose presente no leite não eram esperadas, pois a lactose é o nutriente mais estável do leite, portanto, é menos susceptível a alterações (Costa *et al.*, 2011). Em estudo Cunha Filho *et al.* (2007), encontraram uma média de 4,4% de lactose em leite bovino. Valores semelhantes foram obtidos neste experimento respectivamente, 4,62; 4,51 e 4,52% para os níveis de inclusão do caroço de algodão 6, 11 e 17%.

Melo *et al.* (2006) e outros autores encontraram que reduções no teor de lactose do leite são frequentemente observadas em animais subnutridos e somente dessa forma ocorreriam alterações. Contudo, neste estudo o comportamento para o teor de lactose é semelhante ao relatado por Pires *et al.* (2010) e Costa *et al.* (2011) que obtiveram uma variação quadrática com ponto de máxima no teor de lactose do leite em vacas lactantes bem nutridas.

Com relação à eficiência alimentar (EA), EA corrigida e concentração de energia (Mcal/kg) (Tabela 4), não foi verificado estatisticamente influência da inclusão do caroço de algodão na dieta. Melo *et al.* (2006) também, relata em seu estudo que, a eficiência alimentar não foi influenciada com a inclusão do caroço de algodão na dieta.

Já a energia da lactação diminuiu linearmente ($P < 0,05$). Fato esse devido à menor PL (kg/), apesar da produção de leite não ter sido significativamente diminuída, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, produção de gordura (kg/d), lactose (kg/d) terem diminuído (Tabela 4).

CONCLUSÃO

A inclusão de caroço de algodão na dieta de vacas leiteiras mantidas confinadas na região de Ceres-GO/Brasil, em clima tropical não alterou o CMS ($P > 0,05$), porém reduziu a produção de leite corrigida 3,5% (kg/dia); e o teor e produção de lactose. No entanto o leite produzido nas condições desse experimento atende a legislação vigente. O caroço de algodão pode ser oferecido aos animais com até 15 kg/leite/dia sem comprometer o CMS. Entretanto, a administração de CA a níveis superiores a 11% demonstrou efeito negativo sobre a produção e composição do leite.

LITERATURA CITADA

- AFRC -Agricultural and Food Research. 1993. Energy and protein requirements of ruminants. Wallingford: CAB International, 176 p.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15. ed. Washington.
- Araújo, E. P. 2012. Substituição do milho triturado pelo gérmen integral de milho em dietas de vacas leiteiras mestiças. Dissertação. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. 54 p.
- Borba, L. R. O., Stumpf, W. J., Fischer, V. 2006. Níveis crescentes de gordura na dieta de vacas leiteiras de alta produção. Revista Brasileira de Agrociência, 12 (1):87-92.
- CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. 2012. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. Brasília. 10ª ed.
- CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. 2015. Conjuntura mensal. Brasília.
- Costa, D. A. da. 2010. Degradabilidade ruminal e parâmetros da fermentação em dietas contendo silagem de cana-de-açúcar e caroço de algodão. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, Brasil. 53 p.
- Costa, D. A. da., J. C. Carneiro, F. C. F. Lopes, M. A. S. Gama, E. O. S. Saliba, G. M. N. Rebouças. 2011. Produção e composição do leite de vacas submetidas à dieta contendo diferentes níveis de caroço de algodão. Semina: Ciênc. Agrár. Londrina - PR, v. 32, suplemento 1, p. 2001-2010.
- Cunha Filho, L. F. C., S. B. Chiacchio, R. C. Gonçalves, P. E. Pardo, L. Gaste, W. Okano, A. J. Crocci. 2007. Avaliação da produção de leite e contagem de células somáticas em bovinos leiteiros suplementados com *Saccharomyces cerevisiae* com fonte de zinco orgânico. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 28(4):685-694.
- Duarte, L. M. D., W. Stumpf Jr, V. Fischer, L. E. Salla. 2005. Efeito de diferentes fontes de gordura na dieta de vacas Jersey sobre o consumo, produção e composição do leite. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(6):2020-2028.
- Eifert, E. C., R. P. Lana, D. P. D. L. Lanna, P. B. Arcuri, M. I. L. Leão, S. C. Valadares Filho, W. M. Leopoldino, J. H. S. S. Silva. 2005. Efeito do Fornecimento de Monensina e Óleo de Soja na Dieta sobre o Desempenho de Vacas Leiteiras na Fase Inicial da Lactação. Revista Brasileira de Zootecnia, 34(6): 2123-2132.
- Eifert, E. C., R. P. Lana, D. P. D. L. Lanna, W. M. Leopoldino, M. V. M. Oliveira, P. B. Arcuri, J. M. S. Campos, M. I. L. Leão, S. C. Valadares Filho. 2006. Consumo, produção e composição do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e diferentes fontes de carboidratos na dieta. Revista Brasileira de Zootecnia, 35(1):211-218.
- Fagundes, M. H. 2015. Leite e derivados: Conjuntura mensal, Brasília, março, 2015. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_10_08_33_53_leite_marco_2015.pdf> [Jun. 15, 2015].
- Gaines, W. L. 1928. The energy basis of measuring milk yield in dairy cows. Illinois Agricultural Experiment Station Bulletin 308, 40 p.
- Machado, A. S. 2014. Suplementação de vacas lactantes com gérmen integral de milho. 118 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia.
- Manella, M. Q., and Bion, C. 2000. Alimentos alternativos: caroço de algodão. Beef point. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/nutricao/alimentos-alternativos-caroco-de-algodao-4805/>
- Martinez, J. C. 2008. Avaliação de coprodutos na alimentação de vacas leiteiras mantidas em pastagens tropicais durante a estação chuvosa e alimentadas no cocho durante a estação de seca. 351 p.: il. Tese (doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

- Melo, A. A. S. de, M. A. Ferreira, A. S. C. Vêras, M. A. Lira, L. E. Lima, R. A. S. Pessoa, S. V. Bispo, A. M. D. Cabral, M. Azevedo. 2006. Desempenho leiteiro de vacas alimentadas com caroço de algodão em dieta à base de palma forrageira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(7):1165-1171.
- Miller, W. F., Shirley, J. E. Shirley, E. C. Titgemeyer, M. J. Brouk. 2009. Comparison of full-fat corn germ, whole cottonseed, and tallow as fat sources for lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 92(7):3386-3391.
- NRC - National Research Council – 2001. Nutrients requirements of dairy cattle. 7.ed. Washington, D. C. National Academy Press, 408 p.
- Pina, D. S., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares. 2006. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 35(4):1543-1551.
- Pires, A. V., I. Susin, J. M. C. Simas, R. C. Oliveira Júnior, J. J. R. Fernandes, R. C. Araujo, C. Q. Mendes. 2010. Substituição de silagem de milho por cana-de-açúcar e caroço de algodão sobre o desempenho de vacas holandesas em lactação. *Ciência Animal Brasileira*, 11(2):251-257.
- Teixeira, J. C., E. A. Silva, R. A. N. Braga, I. R. Moron. 2002. Cinética da digestão ruminal do caroço de algodão e do grão de milho em diferentes formas físicas em vacas holandesas. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 26(4):842-845.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, B. A. Lewis. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.

Qualidade dos ovos de poedeiras alimentadas com dietas contendo farinha da parte aérea da mandioca

Eggs quality of laying hens fed with diets containing cassava leaves and branches flour

Calidad de huevos de gallinas ponedoras alimentadas con dietas conteniendo harina de hojas y ramas de yuca

João Pedro Zabaleta^{1*}, Fernando Rutz², Marcos Anciuti³, João Carlos Maier², Cristiele Contreira², Verônica Lisboa Santos² e Lilian Kurz⁴

¹Embrapa Clima Temperado, ²Universidade Federal de Pelotas UFPel, Departamento de Zootecnia, ³Instituto Federal Sul-Riogrاندense, Campus Pelotas-Visconde da Graça. ⁴Curso de Gestão Ambiental, Centro Universitário Internacional – UNINTER. Correio eletrônico: joao.zabaleta@embrapa.br

RESUMO

A demanda por produtos agroecológicos obtidos com métodos diferentes dos tradicionais, sugere o aproveitamento de resíduos de culturas como a parte aérea (folhas e ramas) da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) para alimentação de aves. Esta pesquisa avaliou o efeito da inclusão da farinha da parte aérea de mandioca (FPAM) em baixas concentrações na dieta de poedeiras sobre a qualidade externa dos ovos (gravidade específica, peso do ovo, peso da casca e espessura da casca) e interna (altura de clara, unidade Haugh, peso da gema e peso da clara). No Aviário Experimental do CAVG/IFSul de Pelotas, no período de agosto a outubro de 2014, em quatro ciclos de postura de 21 dias, foram avaliadas quatro dietas com 16 repetições cada, com três aves por gaiola, em um total de 192 aves da linhagem Isa Brown. Os tratamentos foram: Dieta Basal (T1); Dieta basal + 0,15% FPAM (T2); Dieta basal + 0,30% de FPAM (T3); Dieta basal + 0,45% de FPAM (T4). A inclusão de FPAM, nas baixas concentrações utilizadas, não alterou significativamente a qualidade externa e interna dos ovos.

Palavras chaves: *Manihot esculenta*, alimentação alternativa, folhas de mandioca, poedeiras, ramas de mandioca.

ABSTRACT

Demand for agro-ecological products obtained through different methods from the traditional ones, stimulates the use of crop residues, such as cassava leaves and branches (*Manihot esculenta* Crantz) for feeding birds. This research aims to evaluate the effect of including low concentrations of cassava leaves and branches flour (CLBF), into laying hens diet, on external and internal egg quality (specific gravity, egg weight, shell weight, shell thickness, albumen height, Haugh unit, yolk and albumen weight). This trial was run in the Poultry Research facilities of CAVG/IFSul, in Pelotas city, from August to October 2014, in four 21-day cycles of laying periods. Four treatments, each one with 16 repetitions, in a total of 192 Isa-Brown hens, (three per cage), were made. The treatments consisted of: basal diet (T1); basal diet +0,15% of CLBF on top (T2); basal diet + 0,30% of CLBF on top (T3); basal diet + 0,45% of CLBF on top (T4). Results indicated that the use of CLBF does not affect eggs quality.

Key word: *Manihot esculenta*, alternative feed, cassava leaves, laying hens cassava branches.

RESUMEN

La demanda de productos agroecológicos obtenidos con métodos diferentes a los tradicionales, fomenta el uso de residuos de cultivos, como las hojas y ramas de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) para la alimentación de aves. En este estudio se evaluó el efecto de la adición de harina de yuca (hojas y ramas) [HY] en bajas concentraciones en la dieta de gallinas ponedoras. Se determinó la calidad externa (gravedad específica, peso del huevo, peso de la cáscara y espesor de la cáscara) e interna de los huevos (altura de albúmina, unidad Haugh, peso de yema y peso de albúmina). En el Aviarío Experimental del CAVG / IFSul, durante el periodo de agosto a octubre del año 2014, se llevaron a cabo cuatro ciclos de producción de huevos (21 días cada uno), realizados en cuatro tratamientos con 16 repeticiones. Para el estudio se dispusieron tres aves por jaula, con un total de 192 gallinas Isa Brown. Los tratamientos fueron: Dieta basal (T1); Dieta basal + 0,15% FPAM (T2); dieta basal + 0,30% de FPAM (T3); dieta basal + 0,45% de FPAM (T4). La inclusión de HY, a las concentraciones bajas utilizadas, no altera significativamente la calidad externa e interna de los huevos.

Palabras clave: *Manihot esculenta*, alimentación alternativa, hojas de yuca, ponedoras, ramas de yuca.

INTRODUÇÃO

A demanda dos consumidores por produtos agroecológicos ou diferenciados em suas formas de produção, estimula o aproveitamento de resíduos de culturas como a parte aérea (folhas e ramas) da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) para alimentação de aves. A mandioca, planta nativa da América do Sul, era cultivada pelos índios guaranis antes da chegada dos europeus (Oliveira, 2011) e permanece como base alimentar das culturas indígenas e em significativa parcela da agricultura familiar brasileira.

A cultura da mandioca disponibiliza resíduos de folhas e ramas para aproveitamento em rações animais. Montaldo e Montilla (1977) citam um potencial de produção de parte aérea da mandioca (folhas e ramas) superior a 150 t/ha/ano, em mais de um corte, quando destinada

especificamente para a produção de folhas e ramas, na região de Maracay, Venezuela.

Existem evidências do alto valor nutritivo (proteínas, betacaroteno, vitamina C, minerais Ca e P) da parte aérea da mandioca (Silva et al., 2000).

A palatabilidade da parte aérea, na forma de farinha ou feno para aves foi relatada por Mazzuco e Bertol (2000). Apesar de seu elevado conteúdo proteico, presença de aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais, a farinha da parte aérea de mandioca (FPAM) apresenta substâncias antinutritivas como polifenóis (taninos), nitrato, ácido oxálico, lectinas, saponinas e inibidores de tripsina (Corrêa et al., 2004).

A farinha da parte aérea da mandioca (FPAM) contém folhas, pecíolos, caules e caulículos, sendo normalmente colhido o terço superior das plantas, para diminuir o percentual de caules mais fibrosos na farinha e aumentar o percentual de folhas, as quais apresentam maior teor de proteínas e carotenóides (Gerhard, 2011).

Uma vantagem da utilização da parte aérea da mandioca seria a obtenção de produtos “limpos”, com menor “pegada ecológica”, devido ao aproveitamento de resíduos de lavouras, demandados pelos mercados e que agregam atributos agroecológicos em seus sistemas de produção. A utilização da mandioca é interessante também para a avicultura colonial, um sistema de produção regido por normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (Ofício Circular DOI/DIPOA nº 007/99 e Ofício Circular/DIPOA nº 60/99) que permite maior período de produção (85 dias para abate de frangos) e consequentemente maior utilização de insumos alternativos ao milho e a soja. Este sistema colonial apresenta aspectos positivos do ponto de vista agroecológico como o encurtamento dos circuitos de produção/consumo, a utilização de rações a partir de insumos locais, além da saúde e do bem estar animal.

A mandioca, utilizada tradicionalmente na forma de raízes, poderia ter aproveitamento de sua parte aérea neste sistema de menor intensidade, contribuindo com a pigmentação da carne e gemas de ovos. A intensidade de pigmentação da gema dos ovos é devida ao maior ou menor teor de pigmentos carotenóides presentes na

gema ou na carne das aves, sendo obtidos através da alimentação das aves.

Os pigmentos carotenóides, luteína [(3R, 3'R,6'R)- β,ϵ -caroteno-3,3'-diol]] e zeaxantina [(3R, 3'R)- β,β -caroteno-3,3'-diol]], são referidos como pigmentos importantes na constituição da mácula ocular de humanos, com a função de filtragem de luz e proteção da retina (Torres et al., 2008). As concentrações destes pigmentos na mácula são da ordem de 500 a 1.000 vezes maior que as concentrações em outros tecidos e sua absorção está ligada a proteção contra a Degeneração Macular Relacionada à Idade (DMRI) (Chung et al., 2004).

Segundo Mazzuco e Bertol (2000), a parte aérea da mandioca pode contribuir como fonte natural de xantofilas e Cesar (1981), observa a presença de 160mg/kg de carotenóides na farinha de folhas de mandioca (FFM), sendo a presença de betacarotenos avaliada em 77,39mg/100g de FPAM por Corrêa et al. (2004). Valores muito superiores foram encontrados por Gil e Buitrago (2002) ao trabalharem com folhas de mandioca, onde observaram 605mg/kg de xantofilas totais e 508mg/kg de xantofilas pigmentantes. O milho,

alimento de referência para a avicultura mundial, apresenta teor de 25mg/kg de xantofilas totais, segundo Gil e Buitrago (2002).

O objetivo desta pesquisa foi a identificação do efeito da inclusão de FPAM, em baixas concentrações, na dieta de poedeiras sobre a qualidade externa e interna de ovos de poedeiras.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (CAVG) do Sul, Pelotas-RS, em sistema dark house, no período de 25 de julho a 17 de outubro de 2014, em um período experimental de 84 dias, divididos em quatro ciclos de 21 dias, utilizando-se na dieta incrementos crescentes de FPAM (04 tratamentos). Foram utilizadas 48 poedeiras Isa-Brown por tratamento (repetições=16), com três poedeiras por gaiola, em um total de 192 poedeiras e 64 gaiolas.

A composição da FPAM, a composição das dietas experimentais e seus níveis nutricionais são apresentadas nas Tabelas 1 e 2. As dietas

Tabela 1. Composição da farinha da parte aérea da mandioca (folhas e ramas).

Análises	Unidade	Matéria Original	Matéria Seca
Matéria Seca	%	70,71	-
Proteína Bruta	%	17,48	24,71
Extrato Etéreo	%	2,01	2,84
Fibra Bruta	%	17,60	24,89
Energia Bruta	kcal/kg	3 068,00	4 338,85
Cálcio	%	0,95	1,34
Matéria Mineral	%	7,65	10,82
Fósforo	%	0,28	0,40
Carotenóides Totais	mg/kg	198,03	280,05
Carotenos totais	mg/kg	31,58	44,66
Betacaroteno	mg/kg	31,06	43,93
Xantofilas	mg/kg	166,45	235,40

Fonte: Resultados fornecidos pelo Laboratório CBO, SP, 2014

Tabela 2. Composição percentual das dietas experimentais.

Ingredientes	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T4 (%)
Milho 8%	62,60	62,60	62,60	62,60
Farelo de soja 44%	24,91	24,91	24,91	24,91
Calcário calcítico 36 %	8,00	8,00	8,00	8,00
Sal iodado	0,40	0,40	0,40	0,40
Óleo de soja	1,08	1,08	1,08	1,08
Núcleo mineral vitamínico ¹	3,00	3,00	3,00	3,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>FPAM on top</i>	0,00	0,15	0,30	0,45
Valores calculados				
Proteína bruta (%)	16,00	16,00	16,00	16,00
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2 750	2 750	2 750	2 750
Metionina + Cistina (%)	0,582	0,582	0,582	0,582
Metionina total (%)	0,31	0,31	0,31	0,31
Lisina total (%)	0,854	0,854	0,854	0,854
Colina total (mg/kg)	1 082	1 082	1 082	1 082
Sódio total (%)	0,18	0,18	0,18	0,18
Cálcio (%)	3,74	3,74	3,74	3,74
Fósforo disponível (%)	0,376	0,376	0,376	0,376
<i>FPAM on top</i>				
Carotenóides Totais (mg/kg)	0	29,70	59,41	89,11
Carotenos totais (mg/kg)	0	4,74	9,47	14,21
Betacaroteno (mg/kg)	0	4,67	9,32	13,98
Xantofilas (mg/kg)	0	24,97	49,93	74,90

¹ Núcleo vitamínico, mineral e de aminoácidos de poedeiras em produção (ORG 193). **Composição:** Sulfato de ferro, cloreto de colina, óxido de manganês, sulfato de cobre, vitamina A, vitamina D₃, veículo q.s.p, ácido fólico, vitamina B₁, vitamina B₆, ácido nicotínico, vitamina B₂, vitamina B₁₂, selenito de sódio, vitamina K₃, DL-metionina, ácido pantotênico, óxido de zinco, vitamina E, iodato de cálcio, fosfato bicálcico, calcário. **Níveis de Garantia por kg do núcleo:** Colina: 2 667 mg; ácido fólico: 3,33 mg; vitamina E: 66 UI; vitamina K₃: 9,34 mg; vitamina B₂: 28 mg; vitamina B₆: 18,67 mg; ferro 1 800 mg; zinco: 1 667 mg; vitamina D₃: 9 338 UI; vitamina A: 53 360 UI; metionina: 19,10 g; vitamina B₁: 8,61 mg; cobre: 300 mg; iodo: 20 mg; ácido nicotínico: 120 mg; ácido pantotênico: 44 mg; vitamina B₁₂: 44 mcg; manganês: 2 100 mg; selênio: 10 mg; cálcio: 287,6 g; fósforo: 91,60 g.

foram formuladas para atender as exigências nutricionais de poedeiras (Rostagno *et al.*, 2011), sendo constituídas de milho, farelo de soja, núcleo mineral-vitâmico com aminoácidos essenciais, calcário calcítico, sal iodado, óleo de soja, de formas a satisfazer as exigências de todos nutrientes para poedeiras. As dietas foram isocalóricas e isoproteicas. A FPAM foi sempre adicionada on top. As dietas (tratamentos) em cada ciclo foram: T1: Dieta Basal; T2: Dieta basal + 0,15% de farinha da parte aérea de mandioca; T3: Dieta basal + 0,30% de farinha da parte aérea de mandioca; T4: Dieta basal + 0,45% de farinha da parte aérea de mandioca.

Para o preparo da farinha da parte aérea de mandioca (FPAM) as plantas foram colhidas, em sua parte aérea (folhas, pecíolos, caules e caulículos), priorizando o corte no terço superior das plantas, para maior aproveitamento de folhas. A seguir as plantas foram reunidas em feixes, picadas em triturador de grãos (com a peneira e martelos retirados). Para a picagem utilizou-se um triturador da marca Nogueira, modelo DPM-2, fabricado no Brasil. Após a picagem o material foi seco em secador de leito fixo, modelo colonial sem fumaça, de construção artesanal, conforme modelo desenvolvido pela Emater/RS, Brasil. A temperatura de entrada do ar aquecido na massa de folhas foi de 70 °C.

O fornecimento de luz diário para as aves foi de 16 horas, 60 lux, sendo acesa às 4h e desligadas às 20h. No Laboratório de ovos do CAVG/IFSul os ovos viáveis, coletados ao 21º dia dos tratamentos, foram analisados individualmente, para as características de qualidade externa (gravidade específica, peso do ovo, peso da casca e espessura da casca) e interna (cor da gema, altura de clara, unidade Haugh, peso da gema e peso da clara). A cor da gema foi obtida através do uso do leque colorimétrico de Roche. A altura da clara foi obtida com o uso de paquímetro analógico posicionado junto a borda externa da gema do ovo e borda do albúmen espesso.

A Unidade Haugh (UH), unidade padrão para a avaliação da qualidade dos ovos, correlaciona a altura do albúmen e o peso do ovo, sendo que maiores valores indicam ovos de maior qualidade. À medida que o ovo perde qualidade a clara se espalha ocupando maior área, o que diminui a UH (Harder, 2005). Segundo este

autor, valores superiores a 72 são considerados ovos “AA” (de maior qualidade); de 71 a 60, ovos “A”; de 59 a 30, ovos “B” e de 29 a 0, ovos “C”.

O delineamento utilizado foi o delineamento inteiramente ao acaso. Os dados foram analisados seguindo análise de variância para os tratamentos e características avaliadas. As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o software SAS (Statistical Analysis System - Analytics Pro) e nível de significância de 5%, e havendo necessidade o teste de comparação de médias utilizado foi o teste de Tukey (Pimentel-Gomes, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que os tratamentos T1, T2, T3 e T4 para as variáveis analisadas, por ciclo (21 dias) e por período total acumulado (84 dias), não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabelas 3 e 4), o que evidencia que a FPAM, não exerceu efeitos negativos para os parâmetros de qualidade externa (gravidade específica, peso do ovo, peso da casca e espessura da casca) e interna (cor da gema, altura da clara, unidade Haugh, peso da gema e peso da clara) dos ovos obtidos no experimento.

As características de qualidade externa são apresentadas na Tabela 3.

- Gravidade específica: Foram observados valores médios entre 1,086 (mínimo) e 1,097 (máximo), o que classifica os ovos obtidos no experimento como de alta qualidade de casca. Segundo Peebles e McDaniel (2004) a gravidade específica no valor de 1,080 ou superior, indica ovos de alta qualidade. A gravidade específica e espessura da casca são parâmetros correlacionados positivamente (Aderemi *et al.*, 2012). Os resultados obtidos concordam parcialmente com estes autores que, ao avaliarem a substituição de milho por farinha integral de mandioca (raízes, folhas e hastes), observaram não existir diferenças significativas sobre a espessura da casca para um nível de inclusão de 25% desta farinha. Segundo esses autores a inclusão de farinha integral de mandioca não afeta o metabolismo do cálcio em poedeiras, portanto não alterando a gravidade específica.

Tabela 3. Médias e erro padrão das variáveis ligadas a qualidade externa dos ovos em diferentes tratamentos de inclusão de farinha da parte aérea da mandioca (FPAM) nas dietas⁽¹⁾.

Ciclos/Trat.	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Médias	P
Gravidade específica						
1º Ciclo	1,086	1,088	1,089	1,090	1,088±0,005	ns
2º Ciclo	1,089	1,091	1,090	1,090	1,090±0,005	ns
3º Ciclo	1,093	1,093	1,092	1,092	1,092±0,005	ns
4º Ciclo	1,094	1,094	1,093	1,097	1,094±0,006	ns
Acumulada	1,091	1,092	1,091	1,092	1,091±0,003	ns
Espessura da casca (mm)						
1º Ciclo	0,406	0,421	0,433	0,423	0,421±2,92	ns
2º Ciclo	0,416	0,423	0,425	0,420	0,421±2,89	ns
3º Ciclo	0,412	0,428	0,420	0,421	0,420±2,83	ns
4º Ciclo	0,401	0,424	0,417	0,416	0,415±3,75	ns
Acumulada	0,408	0,422	0,420	0,419	0,417±2,16	ns
Peso da casca (g)						
1º Ciclo	5,97	6,32	6,55	6,32	6,29±0,60	ns
2º Ciclo	6,09	6,45	6,50	6,26	6,32±0,66	ns
3º Ciclo	6,24	6,60	6,24	6,50	6,39±0,58	ns
4º Ciclo	6,16	6,36	6,23	6,35	6,27±0,70	ns
Acumulado	6,16	6,49	6,29	6,42	6,33±0,50	ns
Peso do ovo (g)						
1º Ciclo	61,70	64,00	65,87	63,04	63,68±4,99	ns
2º Ciclo	64,53	66,41	66,76	64,38	65,51±4,81	ns
3º Ciclo	64,40	67,08	64,42	65,07	65,24±4,49	ns
4º Ciclo	63,62	64,94	65,17	64,98	64,68±5,44	ns
Acumulado	63,34	65,81	65,44	64,97	64,91±3,45	ns

⁽¹⁾ Dietas: T₁: Basal; T₂: 0,15% FPAM; T₃: 0,30% FPAM, T₄: 0,45% FPAM. P: significância estatística. ns, não significativo pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4. Médias e erro padrão das variáveis ligadas a qualidade interna dos ovos em diferentes tratamentos de inclusão de farinha da parte aérea da mandioca (FPAM) nas dietas ⁽¹⁾.

Ciclos/Trat.	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	Médias	P
Cor da gema						
1º Ciclo	7,60	7,00	7,31	7,50	7,36±0,85	ns
2º Ciclo	7,06	7,14	7,44	6,73	7,10±0,97	ns
3º Ciclo	7,36	7,73	7,87	7,40	7,59±0,95	ns
4º Ciclo	6,85	6,21	6,94	6,58	6,65±0,97	ns
Acumulada	7,27	6,92	7,27	7,00	7,12±0,63	ns
Altura da clara (mm)						
1º Ciclo	8,61	8,91	8,42	8,28	8,54±1,04	ns
2º Ciclo	7,44	7,10	7,01	7,53	7,27±1,19	ns
3º Ciclo	7,96	7,53	7,41	7,83	7,68±1,31	ns
4º Ciclo	8,02	8,04	7,67	8,52	8,03±1,13	ns
Acumulada	7,91	7,59	7,35	8,17	7,71±0,87	ns
Unidade Haugh						
1º Ciclo	91,93	93,00	90,00	89,87	91,13±5,66	ns
2º Ciclo	84,37	81,43	80,44	85,13	82,85±8,71	ns
3º Ciclo	87,50	84,27	83,93	86,33	85,47±8,24	ns
4º Ciclo	88,54	87,93	85,69	90,42	87,96±6,41	ns
Acumulada	87,82	85,00	83,73	88,58	86,12±5,26	ns
Peso da gema (g)						
1º Ciclo	16,05	16,56	16,48	16,07	16,28±1,55	ns
2º Ciclo	15,71	15,73	16,76	15,93	16,04±1,42	ns
3º Ciclo	15,97	16,33	17,03	16,37	16,43±1,20	ns
4º Ciclo	15,39	15,67	16,60	16,19	15,99±1,51	ns
Acumulado	15,81	16,12	16,72	16,13	16,20±0,99	ns
Peso da clara (g)						
1º Ciclo	38,36	38,56	39,30	38,85	38,79±3,87	ns
2º Ciclo	39,04	40,34	40,55	38,94	39,71±3,52	ns
3º Ciclo	39,78	41,19	39,59	40,67	40,29±4,09	ns
4º Ciclo	38,70	40,10	39,61	39,74	39,55±4,44	ns
Acumulado	39,03	41,14	39,92	40,23	40,07±2,97	ns

⁽¹⁾ Dietas: T₁: Basal; T₂: 0,15% FPAM; T₃: 0,30% FPAM, T₄: 0,45% FPAM. P: significância estatística. ns, não significativo pelo teste de Tukey (P<0,05).

- Espessura da casca: A espessura da casca é um parâmetro importante na qualidade dos ovos e correlaciona-se com a ingestão de minerais, principalmente cálcio (Leeson et al., 2001) e ao metabolismo de cálcio e fósforo (Aderemi et al., 2012). Neste sentido, a oferta de FPAM nos tratamentos parece não ter ocasionado prejuízos à deposição de cálcio na casca dos ovos.

- Peso da casca: Os resultados concordam com observações de Zanu et al. (2013) em experimento conduzido com FFM nos níveis de inclusão de 0, 5 e 10% em dietas isoproteicas para poedeiras, onde observaram não existir diferenças significativas em relação ao peso da casca dos ovos.

- Peso do ovo: O teor de proteína na ração, segundo Leeson et al. (2001) é o principal fator que influencia o peso dos ovos. A inexistência de diferenças com relação a esta variável concorda com a citação destes autores, sendo que as dietas deste trabalho foram isoproteicas.

As características de qualidade interna (cor da gema, altura da clara, unidade Haugh, peso da gema e peso da clara) são apresentadas na Tabela 4.

- Cor da gema: A cor da gema, avaliada com o uso de leque colorimétrico da Roche, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, apresentando escores extremos entre 6,21 (mínimo) e 7,87 (máximo). Uma justificativa para estes resultados não diferirem significativamente poderia ser devido à forma química complexa dos pigmentos presentes nas folhas e ramos de mandioca, que poderiam apresentar-se na forma esterificada e similar ao que ocorre com a flor de calêndula (Williams, 1989). Klassing (1998) ao analisar a deposição de pigmentos, observa que quando o pigmento está esterificado aos ácidos graxos o fator limitante ao seu aproveitamento é o ataque hidrolítico de esterases intestinais específicas. A esterificação dos pigmentos presentes na FPAM poderia ser um fator que contribuiu para a ausência de resultados sobre a pigmentação das gemas.

Williams (1989) relata que a alfafa, cujo teor de pigmentantes está relacionado ao teor de proteína, pode ser processada com antioxidantes e peletizada para a manutenção dos pigmentantes e vitaminas, o que não foi

realizado no presente estudo com a FPAM. Na amostra de FPAM analisada foi detectada um valor de 17,60% de Fibra Bruta (FB) (Tabela 1). Este valor é similar ao obtido por Montaldo e Montilla (1977), que relatam teores de 13,8 a 22,3% de FB ou Fazenda (1986), que cita valor de 19,1% de FB em FPAM. A presença de FB em valores elevados diminui a digestibilidade das rações e contribui para o menor aproveitamento dos carotenóides (Torres, 1979).

A análise bromatológica da FPAM utilizada no experimento (Tabela 1) mostrou a presença de betacarotenos (31,06mg/kg) e xantofilas (166,45mg/kg) em um total de 198,03mg/kg de carotenóides totais. Os resultados obtidos, nos níveis utilizados, não mostraram eficácia da utilização da parte aérea da mandioca como pigmentante, apesar de seu elevado conteúdo em xantofilas. Um fator que contribui, provavelmente, para a não diferenciação na cor da gema nos tratamentos estudados, refere-se que os betacarotenos são compostos precursores da vitamina A e apresentam baixo valor pigmentante.

Resultados positivos na utilização da parte aérea da mandioca como pigmentante de gemas foram obtidos por Cesar (1981), entretanto com inclusão de FPAM de 1,5% até 4,5%, valores muito superiores aos deste trabalho.

- Altura da clara: Os resultados deste trabalho são similares aos observados por Aderemi et al. (2012) ao avaliarem o peso da clara em experimento com substituição de milho por farinha integral de mandioca (raízes, folhas e hastes). A falta de diferenças sobre a variável altura da clara obtidas neste trabalho concorda também com citações de Fasuyi et al. (2007) ao analisarem a inclusão de farinha de folhas de caruru (*Amaranthus cruentus*) na dieta de poedeiras, nos níveis de 0, 10, 15 e 20%.

- Unidade Haugh: O menor valor obtido nos tratamentos foi de 80,44 e o maior foi de 93,00, valores que classificam os ovos obtidos no experimento como ovos "AA", de qualidade superior (Harder, 2005).

- Peso da gema: Os resultados obtidos concordam parcialmente com relatos de Aderemi et al. (2012) que, em experimento com inclusão de 25% de farinha integral de mandioca

em substituição ao milho, não observaram diferenças significativas sobre esta variável.

- Peso da clara: Os resultados obtidos concordam parcialmente com relato de Minh *et al.* (2004) que, ao trabalharem com farinha de folhas de mandioca (FFM) e farinha de peixe em substituição total à soja, em dietas isonutricionais, observaram ausência de efeitos significativos sobre o peso da clara. Resultados diferentes foram obtidos por Abou-Elezz *et al.* (2011) ao estudarem a inclusão de farinha de folhas de moringa em dieta de poedeiras. Os autores citados observaram aumento no peso de clara e na proporção de clara em relação à gema, em peso, com inclusão de até 15%. Esta observação é interessante para a produção de ovos com menor concentração de colesterol, pelo menor percentual de gema, o que pode ser um atributo de qualidade para consumidores diferenciados. Resultados similares aos destes autores foram relatados por Odunsi *et al.* (2002) em estudos com farinha de folhas de gliricidia.

CONCLUSÕES

A inclusão da farinha da parte aérea de mandioca (folhas e ramas) em baixas concentrações não altera a qualidade externa e interna dos ovos.

AGRADECIMENTOS

Ao CAVG, Instituto Federal Sul-rio-grandense/ Campus Pelotas, pelo apoio, pela estrutura oferecida e possibilidade de desenvolver este trabalho.

À equipe de pesquisa pela competência com a qual contribuiu para a condução do experimento e obtenção de dados: Prof. Sergio Ávila e funcionários; Jennifer Veiga Mendes; estagiários e alunos do CAVG: Daniela Dias Peverada, Inácio da Rosa Machado, Thaís Mendes Oliveira, Cássia Marilda Duarte Lima, Cauana Islabão dos Santos e Magali Bastos Martins.

REFERÊNCIAS

Abou-Elezz, F. M. K., I. Sarmiento-Franco, R. Santos-Ricalde and F. Solorio-Sanchez. 2011. Nutritional effects of dietary inclusion of *Leucaena leucocephala* and *Moringa oleifera* leaf meal on Rhode Island Red

hens' performance. Cuban Journal of Agricult. Science. 45(2):163-169.

Aderemi, F. A., T. K. Adenowo and A. O. Oguntunji. 2012. Effect of whole cassava meal on performance and egg quality characteristics of layers. Bowen University Iwo, Nigeria. Journal of Agricult. Science. 4(2):195.

Cesar, J. S. 1981. Efeitos da utilização dos fenos de confrei e da rama de mandioca sobre o desempenho de poedeiras e na coloração da gema do ovo. Tese Mestrado Universidade Federal de Lavras, Lavras. Brasil. 42 p.

Chung, H. Y., H. M. Rasmussen and E. J. Johnson 2004. Lutein bioavailability in higher from lutein enriched egg than from supplements and spinach in men. J. Nutr. 134:1887-1893.

Corrêa, A. D., S. R. Santos, C. M. P. de Abreu, L. Jokl e C. D. dos Santos. 2004. Remoção de polifenóis da farinha de folhas de mandioca. Ciênc. Tecnol. Aliment. 24(2):159-164.

Costa, F. G. P., J. S. D. Costa, C. D. C. Goulart, D. F. Figueiredo-Lima, L. Neto, R. da Cunha and B. J. D. S. Quirino. 2009. Metabolizable energy levels for semi-heavy laying hens at the second production cycle. Revista Brasileira de Zootecnia. 38(5):857-862.

Facenda, J. C. 1986. Valor pigmentante de los follajes de yuca (*Manihot esculenta*) y *Leucaena bucocephala* en raciones para gallinas ponedoras. Universidad Simón Rodriguez. Caracas, Venezuela. 155 p.

Fasuyi, A. O., F. A. S. Dairo and O. T. Olujimi. 2007. Protein supplementary quality of vegetable leaf meal (*Amaranthus cruentus*) in the diet of laying hens: Egg laying performance, egg quality and hematological implications. Journal of Food, Agriculture & Environment. 5(3):294-300.

Gerhard, L. F. 2011. Aproveitamento integral da mandioca na propriedade rural En: Encontro de Avicultura Colonial, 2º., Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil. Disponível em: http://www.cpact.embrapa.br/programas_projetos/projetos/ avicultura/. [Nov. 29, 2011].

- Gil, J. L. y J. A. Buitrago. 2002. La yuca en la alimentación animal. **En:** B. Ospina y H. Ceballos, comps. La yuca en el Tercer Milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Consorcio Latinoamericano para la Investigación y el Desarrollo de la Yuca (CLAYUCA). Proyecto IP-3: Mejoramiento de Yuca. Publicación CIAT. 327:527-569.
- Harder, M. N. C. 2005. Efeito do urucum (*Bixa orellana*) na alteração de características de ovos de galinhas poedeiras. Dissertação de mestrado, ESALQ, Piracicaba, Brasil. 74 p.
- Klassing, K. C. 1998. Comparative avian nutrition. New York: CAB International. 350 p.
- Leeson, S., J. D. Summers and L. J. Caston. 2001. Response of layers to low nutrient density diets. *Journal of Applied Poultry Research*. 10(1):46-52.
- Mazzuco, H. e T. M. Bertol. 2000. Mandioca e seus subprodutos na alimentação de aves e suínos. Circular Técnica 25, Embrapa Suínos e Aves. Concórdia, Brasil. 37 p.
- Minh, D. V., J. E. Lindberg and B. Ogle. 2004. Effect of scavenging and protein supplement on the feed intake and performance of improved pullets and laying hens in Northern Vietnam. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17(11):1553-1561.
- Montaldo, A. and J. J. Montilla. 1977. Production of cassava foliage. In: Cock, James H.; MacIntyre, Reginald; Graham, Michael (Ed.). Symposium of the International Society for Tropical Root Crops (4, Cali, Colombia). Proceedings. International Development Research Centre, Ottawa, Canadá. pp. 142-143.
- Odunsi, A. A., M. O. Ogunleke, O. S. Alagbe and T. O. Ajani. 2002. Effect of feeding *Gliricidia sepium* leaf meal on the performance and egg quality of layers. *International Journal of Poultry Science*. 1(1):26-28.
- Oliveira, J. R. 2011. Pedido de perdão ao triunfo da humanidade: a importância dos 160 anos das missões Jesuítico-Guaraní. Ed. Martins Livreiro. Porto Alegre, Brasil. 2ª ed. 234 p.
- Peebles, E. D. and C. D. McDaniel. 2004. A practical manual for understanding the shell structure of broiler hatching eggs and measurements of their quality. Office of Agricultural Communications, a unit of the Division of Agriculture, Forestry, and Veterinary Medicine at Mississippi State University, Bulletin 1139. 16 p.
- Pimentel-Gomes, F. 2009. Curso de Estatística Experimental. Ed. FEALQ. Piracicaba, Brasil. 15ª ed. 451 p.
- Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira e R. F. Euclides. 2011. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos, Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais (. Departamento de Zootecnia, Univ. Federal de Viçosa, Brasil. 3ªed. 252 p.
- Silva, H. O., R. A. Fonseca e R. S. Guedes-Filho. 2000. Características produtivas e digestibilidade da farinha de folhas de mandioca em dietas de frangos de corte com e sem adição de enzimas. *Rev. Bras. Zootec.* 29(3):823-829.
- Torres, A. P. 1979. Alimento e nutrição das aves domésticas. Ed. Nobel, São Paulo, Brasil. 2ª ed. 324p.
- Torres, R. J. A., D. B. Précoma, M. Maia, F. Kaiber, C. Prim, A. Luchini, R. S. Matos e M. E. Farah. 2008. Conceitos atuais e perspectivas na prevenção da degeneração macular relacionada à idade. *Rev. Bras. Oftalmol.* Rio de Janeiro, Brasil. 67(3):142-155. disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-72802008000300008&script=sci_arttext. [Nov. 29,2013].
- Williams, W. D. 1989. La pigmentación en la aves. *Rev. Avicult. Profesional*. 7(2):60-68.
- Zanu, H. K., J. K. Kagya-Agyemang and C. M. Avukpor. 2013. Effects of enzyme (Xzyme) supplementation on the performance of laying hens fed diets containing different levels of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) leaf meal. *Online Journal of Animal and Feed Research*. 3(1):9-14. Tus, que

Efecto del pH y de la osmolalidad sobre la activación y tiempo de movilidad espermática en cachamas y bagres suramericanos

Effect of pH and osmolality on activation and time sperm motility in pacu and South Americans catfishes

David D. Rincón Rodríguez¹, Yoeli C. R. Méndez López² y Germán A. Poleo Camejo³

¹Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Decanato de Agronomía, Estación de Piscicultura. Correo electrónico: david.rincon@ucla.edu.ve. ²Universidad del Zulia (LUZ), Facultad Experimental de Ciencias, Laboratorio de Citogenética, Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. ³Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Decanato de Agronomía, Estación de Piscicultura.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el tiempo de activación y la movilidad espermática del semen de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), cachama negra (*Colossoma macropomum*), bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y bagre sierra (*Oxydoras sifontesi*), bajo el efecto de diferentes pH (2,0 – 4,0 – 6,0 – 6,5 – 7,0 – 7,5 – 8,0 – 8,5 y 9,0) y osmolalidades (0, 100, 200, 250, 300, 350 y 400 mOsm kg⁻¹). El semen de ambas especies de cachama fue recolectado 18 horas luego de la inducción hormonal, utilizando 1 µgkg⁻¹ de Ova-RH®. Los bagres no fueron inducidos hormonalmente. Luego de recolectar el semen, se determinó su volumen y color, así como el tiempo de activación (TA) y la movilidad espermática (MOV) al colocar 10 µL de semen fresco y 10 µL de cada solución para su observación en el microscopio. Los tratamientos se evaluaron por duplicado y los datos fueron comparados mediante el procedimiento GLM (LSMEANS) en el programa estadístico SAS. Se observaron diferencias significativas para la MOV en el semen de cachama blanca y negra por efecto de la osmolalidad y pH (P<0,05). También se obtuvieron diferencias significativas (P<0,01) para el TA y la MOV por efecto de la osmolalidad en ambos bagres, no así para el pH. Los espermatozoides de cachama blanca y negra fueron activados, tanto por diferencias en la osmolalidad como por cambios en el pH de la solución externa, mientras que los espermatozoides de los bagres sierra y rayado solo fueron activados por cambios osmóticos.

Palabras clave: espermatozoides, semen, peces óseos, presión osmótica, maduración gonadal.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate motility and activation time in spermatozoa of red-bellied pacu (*Piaractus brachypomus*), black pacu (*Colossoma macropomum*), striped catfish (*Pseudoplatystoma fasciatum*) and ripsaw catfish (*Oxydoras sifontesi*), under the effect of different pH (2.0, 4.0, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 and 9.0), and osmolality (0, 100, 200, 250, 300, 350, and 400 mOsmKg⁻¹). While semen from both species of Pacus were collected 18 hours after induction with ova-RH at 1ug kg⁻¹, catfish were not hormonally induced. Immediately, after semen collection, volume and seminal color were determined. Assessment of the percentage of motility (MOV) and activation time (TA) was carried out under a light microscope by placing 10 mL of fresh semen, and 10 mL of each solution with different pH and osmolality. Treatments were evaluated by duplicate, and data compared using the GLM (LSMEANS) procedure. There were observed significant differences in the MOV of semen of black and red-bellied pacu by the effects of changes in osmolality and pH (P<0.05). Spermatozoa of catfish only showed significant differences (P <0,01) in MOV and TA with changes in osmolality. Both, osmolality and pH were revealed as factors that affect sperm motility in Pacus, while sperm from catfishes is only activated by changes in osmotic pressure. **Keywords:** spermatozoid, semen, bony fish, osmotic pressure, gonadal maturation.

Key words: spermatozoid, semen, bony fish, osmotic pressure, gonadal maturation.

INTRODUCCIÓN

En algunos peces neotropicales, como la cachama blanca, cachama negra, coporos y bagres, los procesos de reproducción no culminan en cautiverio, persistiendo el desarrollo progresivo de las gónadas hasta las etapas finales de la maduración de los gametos; solo se detiene la secuencia antes de la liberación de éstos. Tanto la maduración gonadal como el desove, son dependientes de estímulos ambientales como la temperatura, fotoperíodo, pluviosidad, cambios de pH, transparencia del agua, conductividad y concentración de oxígeno, entre otros factores (Harvey y Hoar, 1980; Guerrero *et al.*, 2008). En peces, las variables movilidad espermática progresiva, duración del movimiento y concentración espermática han sido tradicionalmente utilizadas como predictores de la calidad seminal. Sin embargo, estas metodologías están basadas en observaciones subjetivas y de alta variabilidad según la precisión del evaluador (Ramírez *et al.*, 2011; Tiersch y Green, 2011).

Los espermatozoides de peces teleósteos difieren de los espermatozoides de mamíferos en aspectos importantes, tales como la inmovilidad en el fluido seminal, activación de la movilidad por contacto con el agua, corto tiempo de activación y la ausencia de acrosoma (Valdebenito *et al.*, 2009; Ren *et al.*, 2001). Mientras los espermatozoides de los peces se encuentren en el líquido seminal, permanecerán inmóviles y desarrollarán progresivamente la capacidad de desplazarse durante su tránsito por el conducto espermático.

Una vez liberados al medio, durante el desove, los espermatozoides son activados al entrar en contacto con el agua o algún líquido que altere el medio isosmótico del fluido seminal que los envuelve. El medio activador es propicio en ambientes naturales, siendo el agua salada para peces marinos y, por su parte, el agua dulce para peces de aguas continentales.

Estando activados, los espermatozoides cuentan con un periodo de movilidad limitado a pocos segundos: en este lapso de tiempo los espermatozoides pueden lograr la fecundación. Se ha determinado que los cambios en la presión osmótica, balance iónico o diferencias en el pH, son algunas de las condiciones fisicoquímicas

del medio que se relacionan con la activación de la movilidad espermática (Tanimoto *et al.*, 1994; Takai and Morisawa, 1995; Ren *et al.*, 2001).

Las variables activación y tiempo de movilidad espermática son específicas para cada especie; por tanto, el estudio de éstas es significativo en peces de relevancia comercial, ya que permite mejorar los protocolos de reproducción e incrementar la productividad.

Por consiguiente, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del pH y la osmolalidad sobre el tiempo de activación y la movilidad espermática de los peces: cachama blanca, cachama negra, bagre rayado y bagre sierra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Los peces utilizados en la investigación pertenecían al inventario de reproductores de la Estación Piscícola de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”, ubicada en el caserío Cañaveral, Yaritagua (estado Yaracuy, Venezuela), a los 10°7'3" Norte, 69°6'48" Oeste y 500 msnm.

Se seleccionaron cuatro ejemplares machos de cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818); cuatro de cachama negra, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816); cuatro de bagre rayado, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus 1766) y cuatro de bagre sierra, *Oxydoras sifontesi* (Fernández-Yépez, 1968), todos sexualmente maduros y expuestos a fotoperíodo natural.

La ingesta de los reproductores se realizó una vez al día, utilizando alimento concentrado comercial para peces (Puricachama®; Purina, Venezuela) con 28% de proteína cruda.

Condiciones experimentales

Osmolalidad. Se prepararon soluciones fisiológicas de Hank (Tiersch *et al.*, 1994), con ajuste de la presión osmótica, utilizando un osmómetro de punto de congelación (Micro-Osmette, PrecisionSystem INC, MA, USA). Para cada especie se evaluaron siete tratamientos experimentales: el primero (T₁) como grupo control (0 mOsmkg⁻¹) y los seis tratamientos

restantes se desglosaron de la siguiente forma: T₂ (100 mOsmkg⁻¹), T₃ (200 mOsm kg⁻¹), T₄ (250 mOsmkg⁻¹), T₅ (300 mOsm kg⁻¹), T₆ (350 mOsmkg⁻¹) y T₇ (400 mOsmkg⁻¹). Cada tratamiento se evaluó por duplicado.

pH. Se prepararon soluciones fisiológicas de Hank (Tiersch *et al.*, 1994) a las cuales se ajustaron el pH con HCl o NaOH, utilizando un potenciómetro (Oakton, PC510, IL, USA). Para cada especie se evaluaron nueve tratamientos experimentales, conformados bajo el siguiente esquema: T₁ (pH 2), T₂ (pH 4), T₃ (pH 6), T₄ (pH 6,5), T₅ (pH 7), T₆ (pH 7,5), T₇ (pH 8), T₈ (pH 8,5) y T₉ (pH 9). Cada tratamiento se evaluó por duplicado.

Tratamiento hormonal

Para la inducción hormonal se empleó una dosis única del análogo sintético comercial de hipófisis de salmón OVA-RH®, a razón de 1 µgkg⁻¹ de peso corporal para los machos de cachama blanca y cachama negra (Poleo y Mora, 2008; Rincón *et al.*, 2012). En los bagres no se empleó tratamiento hormonal para la obtención del semen.

Obtención del semen

Transcurridas 18 h desde la administración del inductor hormonal, las cachamas blancas y negras se extrajeron del agua, secando cuidadosamente sus aletas y abdomen para evitar el contacto del semen con el agua y de esta forma, prevenir su activación. Luego, se procedió a presionar levemente la papila urogenital, con el objeto de eliminar restos de agua, orina o heces (Fresnada *et al.*, 2004).

Al realizar masaje abdominal en sentido cráneo-caudal, se extrajo el semen a los peces, siendo recolectado directamente en tubos plásticos estériles de 15 ml que contenían solución fisiológica de Hank, ajustada a 280 mOsm kg⁻¹, en proporción 1:1, a fin de impedir la activación de los espermatozoides. El masaje fue suspendido de inmediato al evidenciarse contaminantes en el semen, tales como sangre, bilis, orina o heces (Cruz-Casallas *et al.*, 2006; Poleo y Mora, 2008).

Evaluación del volumen y color del semen

Cuando se obtuvo el semen de cada uno de los peces en estudio, se procedió a evaluar su volumen y color, a fin de obtener la cantidad

en mL requeridos y descartar la presencia de contaminantes (sangre, orina o heces) que pudiesen afectar su calidad (Cruz-Casallas, 2001; Navarro *et al.*, 2004; Cruz-Casallas *et al.*, 2006).

Evaluación del tiempo de activación y la movilidad espermática bajo efecto de la osmolalidad y pH

Para la evaluación del efecto de la osmolalidad sobre la movilidad espermática, se colocaron en siete portaobjetos por separado, 10 µL de semen y 10 µL de cada tratamiento. El porcentaje de los espermatozoides moviéndose activamente fue determinado mediante la utilización de un microscopio óptico con 40X de amplificación (Tiersch *et al.*, 1997).

La evaluación del efecto del pH sobre la movilidad se realizó de la misma manera, a excepción del agente de activación utilizado; en este caso, se emplearon 10 µL de cada tratamiento de pH a evaluar (Rincón *et al.*, 2012).

El tiempo de activación espermática se determinó empleando un cronómetro para registrar los segundos transcurridos desde el momento en que se activaron los espermatozoides hasta la inmovilidad del 90% de los mismos. Esta variable se midió en la misma lámina portaobjeto donde se evaluó la movilidad para cada uno de los tratamientos de osmolalidad y pH. Cada una de las evaluaciones de movilidad y tiempo de activación espermática de los tratamientos de osmolalidad y pH se realizaron por duplicado.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos para la variable volumen se expresaron como estadísticos descriptivos (M ± DE). Los valores de las variables de movilidad y tiempo de activación espermática fueron analizados mediante el procedimiento de modelos lineales generalizados (GLM) y el estadístico LSMEANS, a un nivel de significancia de P<0,05, mediante el paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En peces continentales de interés productivo, los espermatozoides se encuentran en reposo en el líquido seminal (alrededor 300 mOsmkg⁻¹) y se activan cuando disminuye la presión

osmótica (<250 mOsm kg⁻¹) de la solución externa (Morisawa *et al.*, 1983). Lo contrario ocurre en peces marinos, donde la osmolalidad debe aumentar en el medio circundante para la activación de los espermatozoides, ya que el choque hiperosmótico induce un aumento de la concentración de K⁺ y Ca²⁺ intracelular, lo que provoca una acidificación interna (Morisawa *et al.*, 1983). Estas variaciones en los valores de osmolalidad han sido propuestas como parte del mecanismo activador/inhibidor de la movilidad espermática en peces (Takai y Morisawa, 1995; Tanimoto *et al.*, 1994; Cosson, 2004; Alavi y Cosson, 2006).

En las figuras 1, 2, 3 y 4 se observan los valores obtenidos para las variables estudiadas, en cada tratamiento de osmolalidad y pH aplicados al semen de cachama blanca y cachama negra.

Al comparar los datos de los tratamientos para la osmolalidad, estos mostraron diferencias significativas para el semen de cachamas (P<0,05). La disminución en la presión osmótica ocasionó la activación espermática en ambas especies, concordando con lo expuesto por Tabares *et al.* (2005), quienes expresan que el

semen de peces tropicales se activa de manera inmediata al hacer contacto con el medio acuoso, por alteración de la composición del líquido seminal, ocasionada por la baja osmolalidad que presenta el agua dulce.

Los resultados mostraron que los espermatozoides de cachama blanca y cachama negra, se mantuvieron completamente inmóviles en la solución de 300 mOsm kg⁻¹, lo que probablemente corresponde a la osmolalidad isotónica del líquido seminal. Para activar completamente a los espermatozoides se requirió de soluciones por debajo de los 100 mOsm kg⁻¹ (Figura 1).

Comportamientos similares han sido observados en los espermatozoides de otros peces de agua dulce como el *Ictalurus punctatus*, *Xyrauchente xanus* y *Danio rerio* (Tiersch *et al.*, 1997; Tiersch *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 2007). Un comportamiento interesante, no reportado en otras especies, es la activación de un pequeño porcentaje de espermatozoides de cachamas cuando se expusieron a presiones osmóticas de 350 y 400 mOsm kg⁻¹, mayores a la isotónica (Figura 1).

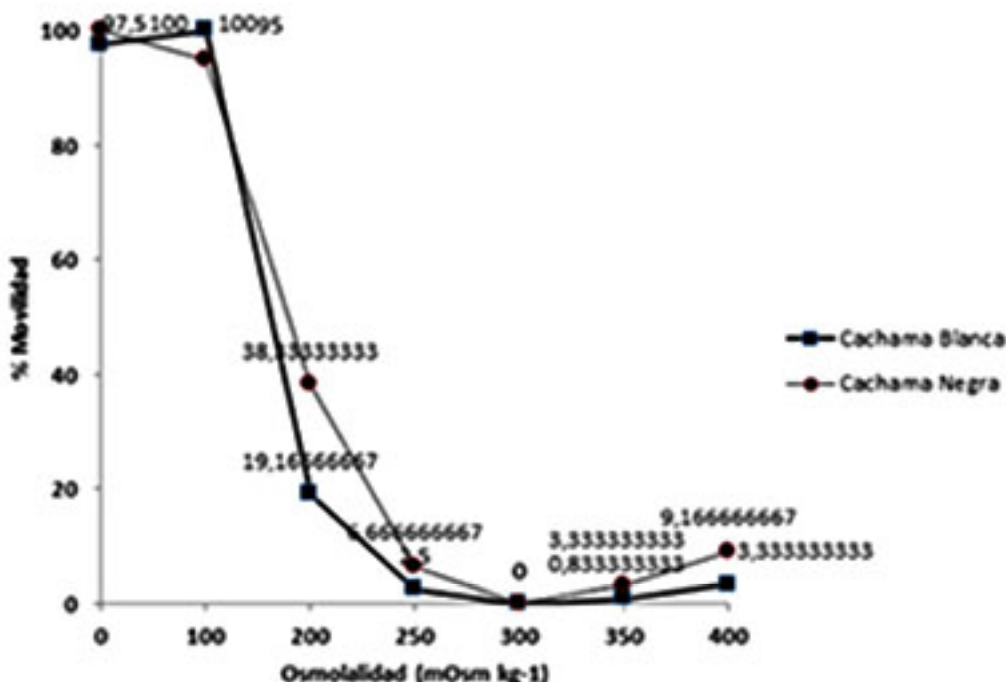


Figura 1. Efecto de la osmolalidad sobre la activación de la movilidad espermática de cachama blanca y cachama negra.

Durante los desoves artificiales, el tiempo de movilidad de los espermatozoides, una vez activados, constituye un factor de importancia debido a que estos se mueven por pocos segundos y, una vez inmóviles, pierden su capacidad de fecundar al ovocito por medios naturales. El incremento de este tiempo de movilidad, permitirá aumentar la probabilidad de fecundación. En la Figura 2 se observa que la activación de los espermatozoides de cachama con soluciones hipotónicas entre 0 y 100 mOsmkg⁻¹, permite la obtención de un mayor lapso de tiempo.

Diferentes investigaciones han demostrado que el pH intracelular y extracelular son elementos importantes en la regulación de la movilidad espermática en salmonidos, ciprinidos, esturiones y la lubina europea (Ingermann *et al.*, 2002; Alavi y Cosson, 2006; Öğretmen *et al.*, 2016). Cambios en el pH extracelular afectan el tiempo que permanecen los espermatozoides en movimiento, o bien pueden inhibir o potenciar la movilidad (Alavi y Cosson, 2005; Öğretmen *et al.*, 2016). Sin embargo, no se conocen reportes que señalen al pH como activador directo de la movilidad espermática en cachamas.

En el presente trabajo se pudo observar que los espermatozoides de cachama blanca y cachama

negra, se activan cuando son colocados en soluciones con distintos pH. Al comparar los valores obtenidos para los distintos tratamientos de pH se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el semen de ambas especies (Figura 3), a diferencia de otras especies como ciprinidos, salmónidos y esturiones, en los cuales el pH del medio tiene poca influencia en la movilidad espermática (Alavi y Cosson, 2005).

Los espermatozoides de cachama blanca mostraron actividad en medios con pH ácido, mientras que los de cachama negra se activaron con pH neutro, básico y ligeramente ácido (Figura 3). Esta información es particularmente importante para la preservación a corto o mediano plazo de los espermatozoides (Tiersch *et al.*, 1997; Marquez y Godinho, 2004), ya que una solución de extensión ajustada a un pH fuera del intervalo de inactivación, resultaría en la pérdida del potencial de fecundación.

Es importante señalar que las soluciones fisiológicas utilizadas para la extensión de la viabilidad de los espermatozoides, ya sean solución de Hank, Ringer o cualquier otra, deben prepararse al momento, ya que el pH en ellas puede variar considerablemente con el tiempo. Por ejemplo, el buffer de la solución de Hank y de Ringer está determinado por el bicarbonato

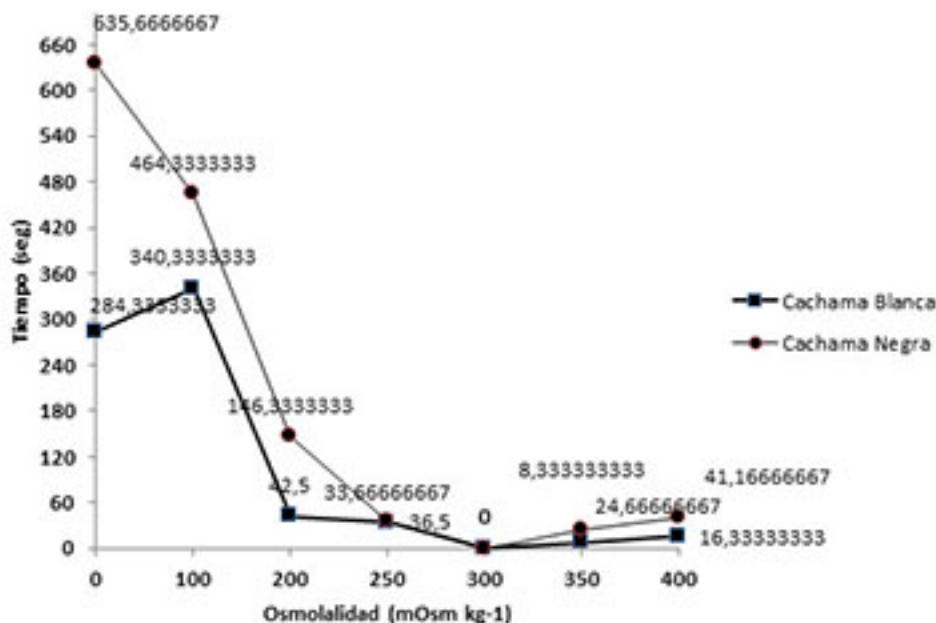


Figura 2. Efecto de la osmolalidad sobre el tiempo de movilidad espermática de cachama blanca y cachama negra.

de sodio; de tal forma, en la reacción del carbono inorgánico se puede liberar dióxido de carbono, el cual produce una disminución del pH de la solución.

Los espermatozoides de cachama blanca se movieron por más tiempo en soluciones ácidas

(pH 4 y 6), a diferencia de los espermatozoides de cachama negra que lo hicieron en pH básicos (Figura 4). Es probable que la susceptibilidad de los espermatozoides de *C. macropomum* y *P. brachypomus* a los cambios de pH puedan tener alguna implicación fisiológica y ecológica,

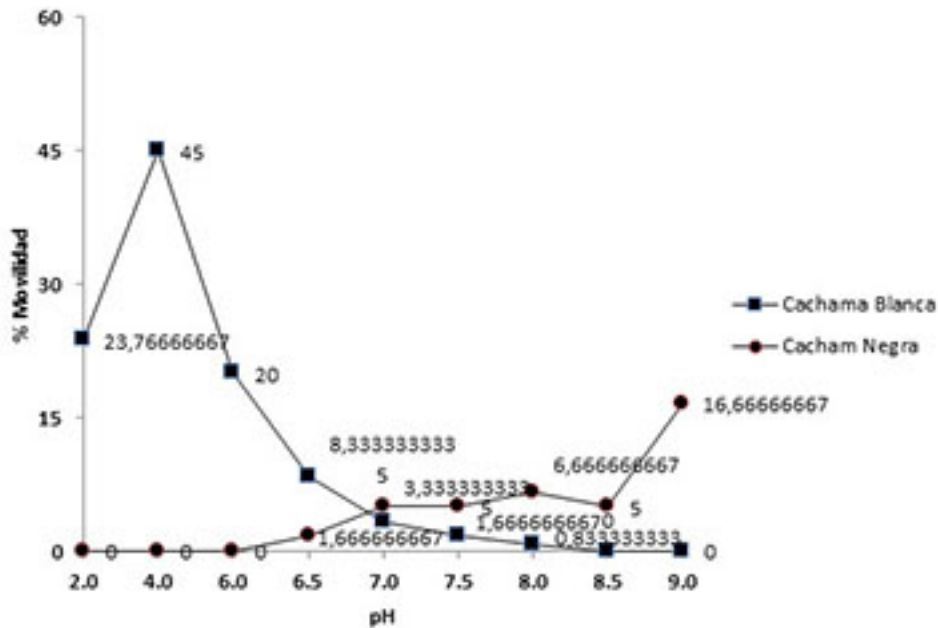


Figura 3. Efecto del pH sobre el comportamiento de la activación de la movilidad espermática de cachama blanca y cachama negra.

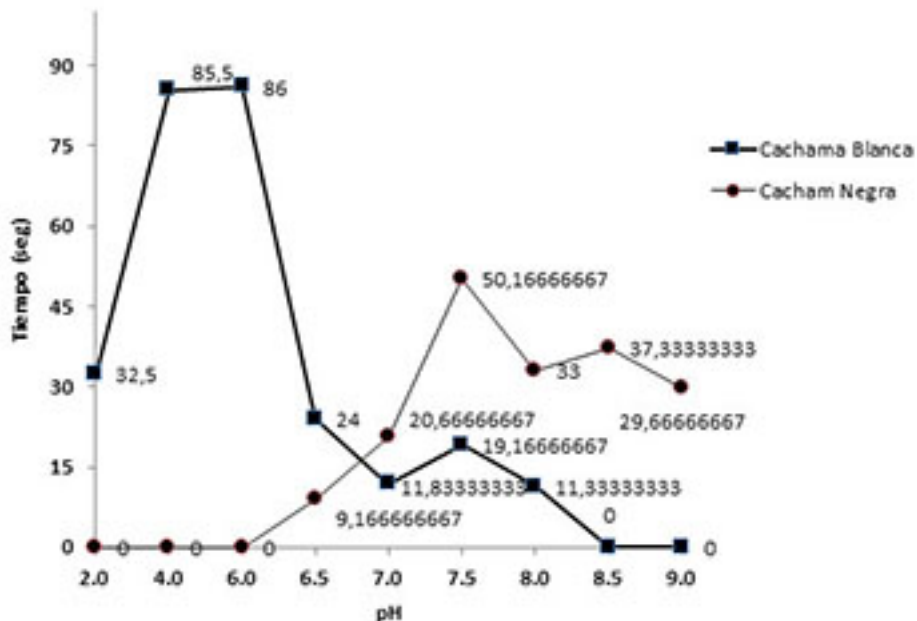


Figura 4. Efecto del pH sobre el tiempo de movilidad espermática de cachama blanca y cachama negra.

determinada por las características del entorno donde la fecundación de estos peces ocurre naturalmente.

Sin embargo, verificar esta hipótesis requiere una investigación dirigida al análisis de las características fisicoquímicas del agua de desove para estas dos especies.

En las figuras 5 y 6 se muestran los valores obtenidos de movilidad espermática para el bagre rayado y el bagre sierra, frente a soluciones con diferente osmolalidad. A diferencia de las cachamas, los espermatozoides de los bagres presentaron un comportamiento muy similar a los de otros peces de agua dulce (Tiersch *et al.*, 1994; Tiersch *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2007), los cuales son activados por cambios en la presión osmótica del medio acuático donde viven.

Se observaron diferencias significativas entre la movilidad de los espermatozoides activados con soluciones de diferente presión osmótica ($P < 0,05$). Soluciones entre 250 y 400 mOsm kg⁻¹, inactivaron por completo a los espermatozoides; aquellas con presión osmótica por debajo de la isotónica (<280 mOsm kg⁻¹), los activaron completamente (Figura 5).

Gracias a la abundancia de líquido seminal que se obtuvo del bagre rayado, se pudo calcular su osmolalidad, la cual se determinó en $254,5 \pm 18$ mOsm kg⁻¹. Esto concuerda con los resultados obtenidos (Figura 5 y 6), donde se evidenció que los espermatozoides se inactivaron completamente cuando se colocaron en una solución con 250 mOsm kg⁻¹.

Con respecto a la duración de la movilidad espermática luego de la activación, se observaron diferencias entre ambas especies (Figura 6). Los espermatozoides de bagre rayado permanecieron mayor tiempo en movimiento en las soluciones hipotónicas utilizadas (0, 100 y 200 mOsm kg⁻¹), respecto a los espermatozoides del pez sierra.

A diferencia de los resultados obtenidos en cachamas, el pH del medio externo no tuvo efecto sobre la activación de los espermatozoides de bagre rayado ni del bagre sierra, pues estos se comportaron de manera similar a otros peces de agua dulce (Tiersch *et al.*, 1994; Tiersch *et al.*, 1997; Yang *et al.*, 2007).

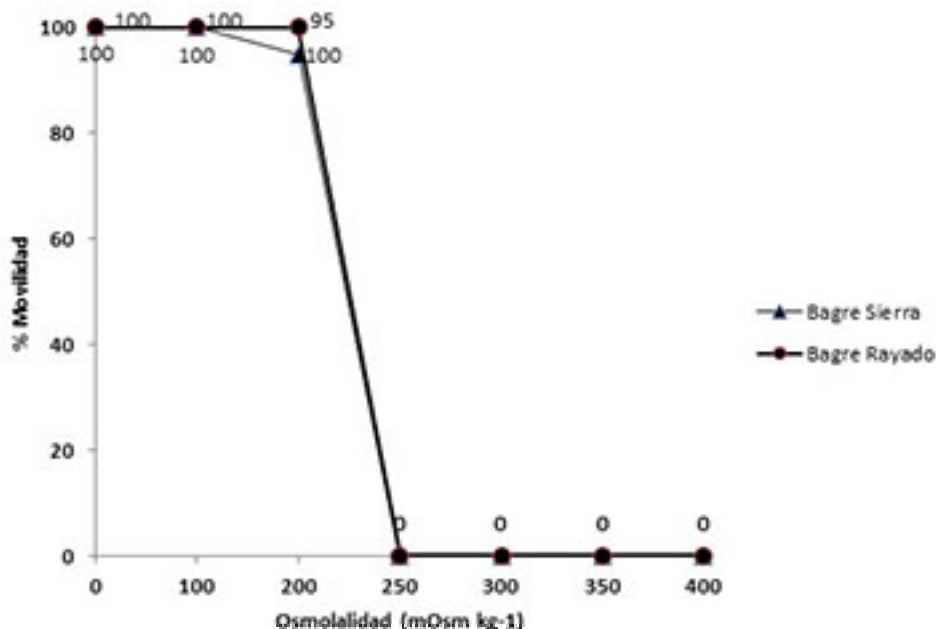


Figura 5. Efecto de la osmolalidad sobre la activación de la movilidad espermática de bagre sierra y bagre rayado.

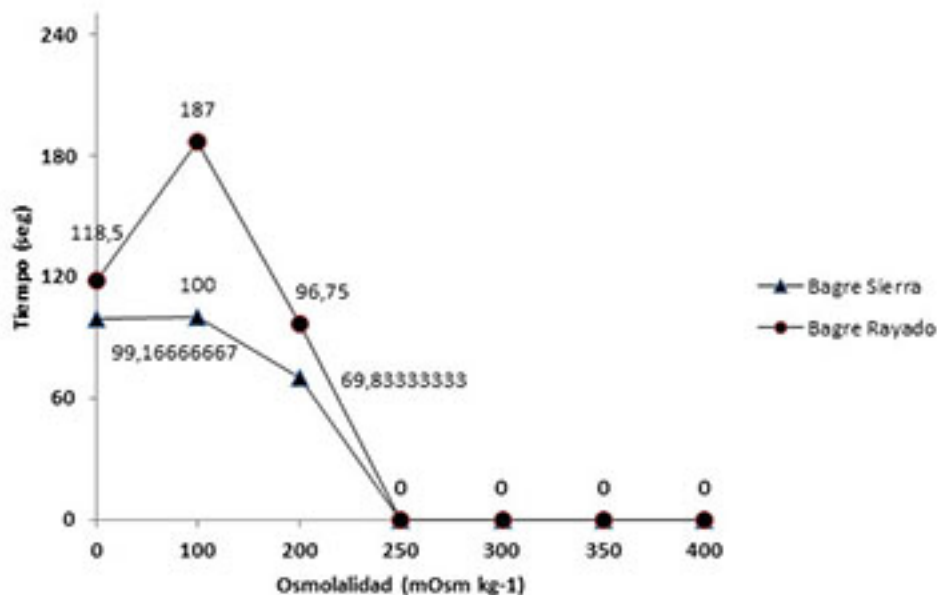


Figura 6. Efecto de la osmolalidad sobre el tiempo de movilidad espermática de bagre sierra y bagre rayado.

CONCLUSIONES

En ambas especies de cachamas (*P. brachypomus* y *C. macropomun*) la movilidad seminal se presentó entre 0 y 250 mOsm kg⁻¹, mostrando la mayor actividad a 0 mOsm (osmolalidad del agua destilada). Para las especies de bagres (*P. fasciatum* y *O. sifontesi*), la movilidad seminal se presentó en soluciones entre 0 y 200 mOsm kg⁻¹, con mayor actividad para el intervalo de 0 a 100 mOsm kg⁻¹.

El semen de cachama blanca fue activado en medios con pH ácido, mientras que para la cachama negra el intervalo fue más amplio, registrándose movilidad en soluciones con pH ligeramente ácidos, neutros y básicos.

Por su parte, el semen de bagre sierra y bagre rayado no es susceptible a la activación por acción de la variación del pH en las soluciones evaluadas.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación de Piscicultura de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", por su apoyo en el manejo de los peces

reproductores. Este trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto Nro. 634-FAG-2014 (2013002359) del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) y por el Premio Estímulo a la Investigación "Lisandro Alvarado" (PEILA) del Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado".

LITERATURA CITADA

- Alavi, S. M. and J. Cosson. 2005. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*. 29(2):101-110.
- Alavi, S. M. and J. Cosson. 2006. Sperm motility in fishes. I. Effects of ion and osmolality: a review. *Cell Biology International*. 30(1):1-14.
- Cosson, J. 2004. The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*. 12:69-85.
- Cruz-Casallas, P. 2001. Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad seminal en peces. *Orinoquia*. 5(1):1-11.

- Cruz-Casallas, P., V. Medina-Robles y Y. Velasco-Santamaría. 2006. Protocolo para la crioconservación de semen de yamú (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz 1829). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 19(2):146-151.
- Cuvier, G. 1817. Le règne animal distribué d'après son organization pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée. Avec figures, dessinées d'après nature. Tome II, contenant les reptiles, les poissons, les mollusques et les annélides. Paris, Francia. pp. 1-532.
- Fernández-Yépez, A. 1968. Contribución al conocimiento de los peces Gymnotiformes. Evencias. 20:1-7.
- Fresnada, A., G. Lenis, E. Agudelo y M. Olivera. 2004. Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 17(suplemento):46-52.
- Guerrero, H. Y., E. Cardillo, G. Poleo and D. Marcano. 2008. Reproductive biology of freshwater fishes from the Venezuelan floodplains. Fish Physiology and Biochemistry. 35(1):189-196.
- Harvey, B. y W. Hoar. 1980. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Ottawa, Canadá. 47 p.
- Ingermann, R. L., M. Holcomb, M. L. Robinson and J. G. Cloud. 2002. Carbon dioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). Journal of Experimental Biology. 205:2885-2890.
- Linné, C. 1766. Caroli Linnaei... Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. 12th ed, reformata. Holmiae: Impensis direct. Laurentii Salvii. pp. 1-532.
- Marques, S. and H. P. Godinho. 2004. Short-term cold storage of sperm from six neotropical characiformes fishes. Brazilian Archives of Biology and Technology. 47(5):799-804.
- Morisawa, M., K. Susuki, H. Shimizu, S. Morisawa and K. Yasuda. 1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. Journal of Experimental Biology. 107:95-103.
- Navarro, O., Y. Velasco-Santamaría y P. Cruz-Casallas. 2004. Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 17:53-59.
- Öğretmen, F., B. E. Inanan and F. Kutluyer. 2016. Combined effects of physicochemical variables (pH and salinity) on sperm motility: characterization of sperm motility in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology. 49:217-222.
- Poleo, G. y A. Mora. 2008. Ensayos preliminares de preservación a corto plazo de semen de los bagres yaque (*Leiarius marmoratus*) y sierra (*Oxidoras sifontesi*). Ciencia. 16(4):396-401.
- Ren, D., B. Navarro, G. Perez, A. Jackson, S. Hsu, Q. Shi, J. Tilly and D. Clapham. 2001. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. Nature. 413:603-609.
- Rincón D., Y. Méndez, J. Hernández y P. Villamediana. 2012. Evaluación de los parámetros espermáticos de semen fresco y criopreservado de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). 1^{er} Congreso Venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación LOCTI-PEII, septiembre 2012. Caracas, Venezuela. Faltan paginas consultadas
- Tabares, C., A. Tarazona y M. Olivera. 2005. Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 18(2):149-161.
- Tanimoto, S., Y. Kudo, T. Nakazawa and M. Morisawa. 1994. Implication that potassium flux and increase in intracellular calcium are necessary for the initiation of sperm motility in salmonid fishes. Molecular Reproduction and Development. 39:409-414.

- Takai, H. and M. Morisawa. 1995. Change in intracellular K⁺ concentration caused by external osmolality change regulates sperm motility of marine and freshwater teleost. *Journal of Cell Science*. 108:1175-1181.
- Tiersch, T. R., C. A. Goudie and G. J. Carmichael. 1994. Cryopreservation of channel catfish sperm: storage in cryoprotectants, fertilization trials, and growth of channel catfish produced with cryopreserved sperm. *Transactions of the American Fisheries Society*. 123:580-586.
- Tiersch T. R., W. R. Wayman and C. R. Figiel. 1997. Field collection, handling, and storage of sperm of the endangered Razorback Sucker. *North American Journal of Fisheries Management*. 17:167-173.
- Tiersch, T. R and C. C. Green. 2011. (Eds) *Cryopreservation in Aquatic Species*, 2nd edition. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana. USA. 1003 p.
- Valdebenito, I., C. Fletcher, V. Vera y J. Fernández. 2009. Factores fisicoquímicos que regulan la motilidad espermática en peces: aspectos básicos y aplicados. Una revisión. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 41:97-106.
- Yang, H., C. Carmichael, Z. M. Varga and T. R. Tiersch. 2007. Development of a simplified and standardized protocol with potential for high-throughput for sperm cryopreservation in zebrafish *Danio rerio*. *Theriogenology*. 68:128-136.

Estructura de tallas y aspectos reproductivos del Corocoro, en el Golfo de Venezuela

Size structure and reproductive aspects of Corocoro, in the Venezuela Gulf

Rodolfo A. Álvarez Castillo, Ángel A. Díaz Lugo*, Luis V. González Rodríguez,
Jesús A. Méndez Martínez, y María V. Guanipa Maldonado

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Campo Experimental Las Piedras. *Correo electrónico: adiazlugo@gmail.com

RESUMEN

El Corocoro (*Orthopristis ruber*, Cuvier, 1830), es un pez del orden perciforme, común en los desembarques del Golfo de Venezuela, y es considerado uno de los principales atractivos gastronómicos del estado Falcón. A pesar de la relevancia económica de ésta especie, son escasos los estudios sobre sus aspectos biológicos en el occidente venezolano. Se estudió la estructura de tallas, relación talla peso, sexo y aspectos reproductivos de las muestras recolectadas mensualmente, desde enero a diciembre del año 1999. Se analizaron un total de 1602 individuos provenientes de los desembarques de la pesca industrial de arrastre camaronera que se realizaba en el Golfo. Se determinó la longitud total, el peso total, el sexo y la madurez gonadal a nivel macroscópico, en cada ejemplar. La estructura de la población oscilo entre 20 y 32,1 cm, siendo ligeramente mayor en las hembras. Se determinó que el crecimiento es alométrico minorante $PT = 0,044 * LT^{2,66}$. La proporción de hembras y machos obtenida (1:1,2) fue diferente de la proporción teórica esperada (1:1). La talla de madurez del 50% de la población fue 27,3 cm para hembras y machos. El 52% del total de individuos analizados no alcanzó L_{50} , evitando que la mitad de la fracción capturada no se reprodujera al menos una vez en su vida, lo que pudo comprometer la renovación de la población, factor que pudiera generar sobreexplotación.

Palabras clave: *Orthopristis ruber*, pesca de arrastre, proporción de sexos, madurez sexual, Golfo de Venezuela.

ABSTRACT

Corocoro (*Orthopristis ruber*, Cuvier, 1830) is a fish of the perciform order, common in the Gulf of Venezuela fishing landings, and is considered one of the main gastronomic attractions of the western Falcon State. Despite its economic importance, there has been lack of studies on biological aspects. Size structure, relative size weight, sex and reproductive aspects have been studied in samples collected monthly, from January to December of 1999. There were analyzed a total of 1602 individuals from shrimp trawl industrial fishing landing places that operated in that region. Total length and weight, sex and macroscopic gonadal maturity of each specimen were determined. Population structure ranged between 20 and 32,1 cm., being slightly higher at females. It was determined that growth is allometric minorant $PT=0,044* LT^{2,66}$. The proportion female: male obtained (1:1,2) was different of the expected theoretical ratio 1:1. Maturity size of 50% of the population was 27,3 cm for males and females. 52% of the total of analyzed individuals did not reach L_{50} . This promoted that a half of the captured fraction did not reproduce at least once in their life. This could affect the renewal of the population generating overexploitation.

Key words: *Orthopristis ruber*, trawling, sex ratio, sexual maturity, Gulf of Venezuela.

INTRODUCCIÓN

El Corocoro *Orthopristis ruber* (Cuvier, 1830), pertenece al orden perciformes y a la familia Haemulidae. Se encuentra distribuido por todo el Mar Caribe, incluyendo la costa norte de las Antillas y las Bahamas, así como en costas de suramérica hasta el Brasil (Cervigón y Fischer, 1979). En Venezuela, esta familia está conformada por 6 géneros y 20 especies (Cervigón, 1994). El Corocoro es considerado uno de los principales atractivos gastronómicos del estado Falcón; históricamente es una de las especies con mayores desembarques en el Golfo de Venezuela, mostrando importantes volúmenes durante los años 1996 (1 820 909 Kg), 1997 (2 339 585 Kg), 1998 (2 802 452 Kg), 1999 (1 072 480 Kg), donde la mayor proporción provenía de la flota industrial de arrastre. En la actualidad los desembarcos proceden en gran medida de la flota artesanal, alcanzando en 2015, 83 944 Kg (INSOPESCA, 2015), siendo esta última, considerablemente inferior a los reportados en años anteriores.

A pesar de su relevancia socioeconómica y cultural, son inexistentes los estudios en el occidente venezolano, que traten aspectos biológicos del Corocoro. No obstante, hacia el oriente del país ha habido interés en el estudio de la familia Haemulidae y en especial del *O. ruber* (Carvajal, 1973; González, 1981; Etchevers, 1975; Parra, 1996; Parra *et al.*, 2007; Acosta, 2011 y Guerrieri *et al.*, 2015). La evaluación de esta especie puede contribuir al conocimiento de sus características biológicas en la zona de estudio, que servirán de complemento importante para ordenar y manejar correctamente los recursos sometidos al aprovechamiento pesquero y que pueden ser susceptibles de sobreexplotación.

En base a lo expuesto anteriormente, se propuso como objetivo de este estudio, determinar la estructura de tallas, la relación talla-peso, el sexo, grado de madurez sexual y la fracción explotada de la población del *O. ruber*, en el Golfo de Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se realizó en el municipio Carirubana, en las poblaciones pesqueras

de Carirubana y Las Piedras, ubicadas en la Península de Paraguaná, estado Falcón; en las cuales se concentran la totalidad de la flota pesquera de arrastre industrial (Figura 1).

El estudio fue realizado en la zona marino-costera del Golfo de Venezuela, descrita por Zeigler (1964) como una bahía, con profundidades no mayores a 50 metros. Por su parte, el Golfo de Venezuela mantiene contacto directo con el Mar Caribe (aguas oceánicas, hasta 37ups, Golfete de Coro), aguas muy salinas (hasta 45ups) y aguas del Lago de Maracaibo (aguas estuarinas, hasta ~6,7ups) [Polo *et al.*, 2014], por lo cual posee características físico-químicas peculiares (Ginés *et al.*, 1982).

Las aguas de estas regiones se mezclan vigorosamente, producto de las persistentes y constantes fricciones de los vientos alisios y fluyen obedeciendo al balance producido por algunos factores como: 1) gradientes de presión que inducen cambios de densidad; 2) fricción del viento; 3) corrientes y mareas; y 4) la fuerza de Coriolis (Prospecto Paraguaipoa, 2014).

Por lo general las características hidrográficas del Golfo de Venezuela en la Ensenada de Calabozo dependen de la época del año. La columna de agua presenta una notable variación estacional de salinidad y el área occidental se comporta como un estuario, sin embargo, su clasificación dependería de la época del año ya que algunas veces se presenta como un estuario verticalmente mezclado con aguas más salinas en su fondo, mientras que otras veces aparece verticalmente homogéneo, pero con variaciones laterales lo cual debería ser su condición normal debido a que la relación ancho-profundidad es suficientemente grande. (Prospecto Paraguaipoa, 2014).

Aspectos biológicos pesqueros

Las muestras fueron obtenidas a través de un muestreo de seguimiento realizado a la pesca industrial de arrastre camaronera. Los muestreos se efectuaron mensualmente entre enero y diciembre del año 1999; estos se realizaron en tierra, durante los desembarques. Los individuos se identificaron siguiendo las claves propuestas por Cervigón *et al.* (1992).

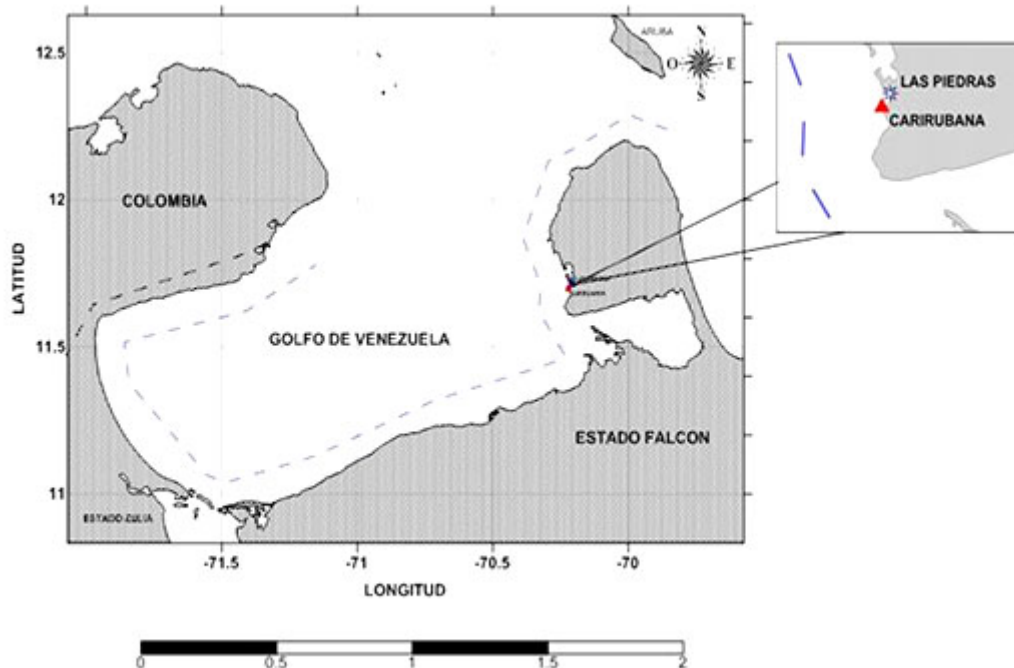


Figura 1. Ubicación geográfica del estado Falcón y la zona marino-costera del Golfo de Venezuela, línea imaginaria a seis millas de la costa (límite de pesca de la flota industrial de arrastre).

Se determinó en cada individuo la longitud total (LT, cm) con un ictiómetro de 1,0 mm de apreciación y el peso total (PT, g) se determinó con una balanza digital con una precisión de 0,1 g. Por su parte, sexo y madurez sexual se determinaron de acuerdo a las características morfológicas internas de las gónadas, tales como tamaño, coloración y grado de desarrollo, según la escala para peces tropicales con desoves parciales de Holden y Raitt (1975), la cual establece cinco rangos: Fase I (inmaduro), Fase II (virgen maduro y recuperado), Fase III (madurando), Fase IV (maduro) y Fase V (después de la puesta).

Estructura de tallas

La descripción de la estructura de tallas se realizó mediante un análisis mensual de frecuencias, agrupando en intervalos de clase de 1 cm; la misma se realizó para cada sexo y sexos combinados.

Relación longitud-peso

La relación longitud-peso de los sexos combinados y para cada sexo, se calculó por

medio de un ajuste de mínimos cuadrados según la ecuación propuesta por Teisser (1948), $PT = a * LT^b$; donde PT = peso total del cuerpo, LT = longitud total, a y b son los parámetros de la ecuación. Si el parámetro b no difiere significativamente de 3, se aprecia entonces que el crecimiento es isométrico. En caso contrario, se considera que es alométrico mayorante si el valor de b es mayor que 3; y si b es menor que 3 será considerado alométrico minorante (Ricker, 1979).

Se comparó el valor del parámetro (a) y la constante (b=3) a través de una prueba t Student (Sokal y Rohlf, 1981), para establecer posibles diferencias significativas entre las pendientes.

Proporción de sexos

Se calculó la proporción de sexos para cada mes de muestreo, con la finalidad de determinar la existencia o no de segregación sexual y posibles cambios de estas proporciones en el tiempo. Se utilizó la prueba estadística χ^2 ($P < 0,05$) para comparar la proporción de

sexos encontrada, con respecto a la proporción esperada (1:1), durante el período de estudio.

Talla de madurez sexual

La madurez sexual se estableció analíticamente, mediante la representación gráfica de la frecuencia acumulada de individuos maduros (III-V) y la variable longitud agrupada, en clases de tallas por sexo. Los puntos observados se ajustaron a la función logística $Y = \frac{1}{1 + a \cdot e^{bx}}$, linealizada, $\ln(a) + bx = \ln\left(\frac{1-y}{y}\right)$. Luego, mediante un análisis de regresión (Sokal y Rohlf, 1981) entre la marca de clase (X) y el $\ln\left(\frac{1-y}{y}\right)$; donde Y=frecuencias relativas acumuladas, se obtuvieron las constantes de regresión (a y b), que al ser sustituidas en la ecuación logística por su valor, permitieron el ajuste de los puntos observados y el cálculo de la talla de madurez del 50% de la población (L_{50}) según la ecuación $x = 0.5 \frac{(\ln a)}{b}$ indicada por Somerton (1980) y Gaertner y Laloe (1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estructura de talla

En total se analizaron 1602 individuos, de los cuales 886 fueron machos y 716 hembras. El intervalo de tallas osciló entre 20 y 32,1 cm para el total de la población analizada; el promedio general para los sexos combinados fue de 26 cm (Figura 2).

La longitud total de las hembras osciló entre 20 y 32,1 cm (Figura 3), siendo ligeramente mayor a la de los machos, los cuales oscilaron entre 20 y 31 cm (Figura 4). Al comparar los resultados obtenidos en esta investigación con lo reportado en otros estudios para la misma especie (Cuadro 1), se detectaron coincidencias con el trabajo de Guerrieri *et al.* (2015), quienes reportaron longitudes comprendidas entre los 19 y 30 cm. Sin embargo, difieren del rango 9 - 12 cm reportado por Acosta (2011) en el oriente venezolano, correspondiente a ejemplares juveniles y relacionado a la zona de toma de muestras (área de cría).

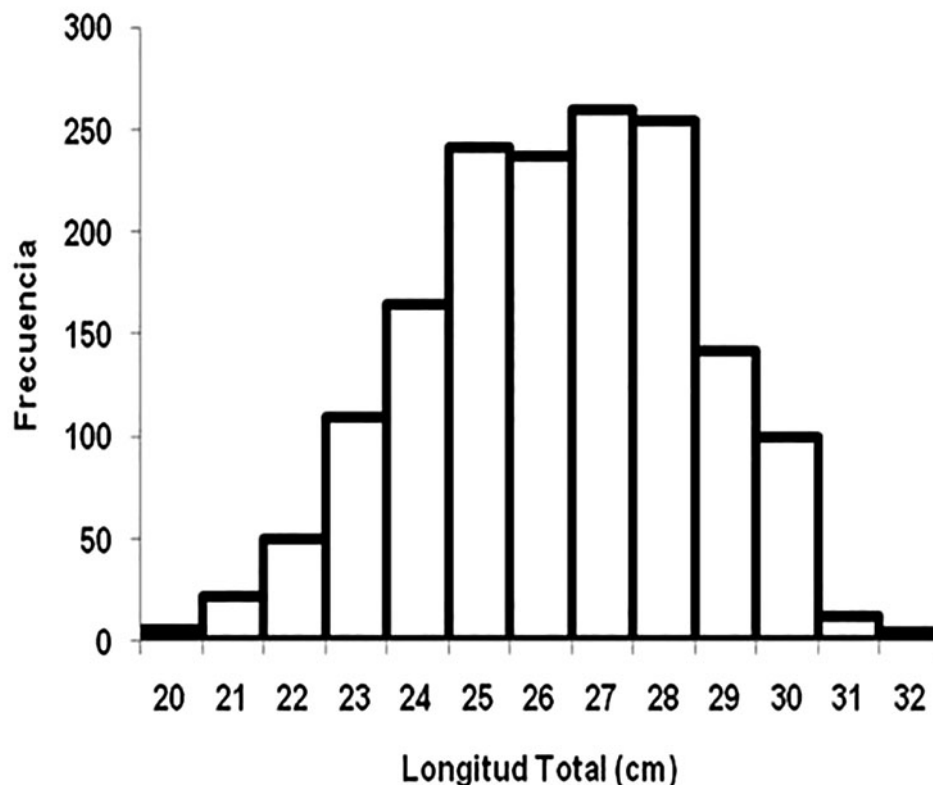


Figura 2. Estructura de talla del Corocoro (*Orthopristis ruber*), en el Golfo de Venezuela, sexos combinados, entre enero y diciembre del año 1999.

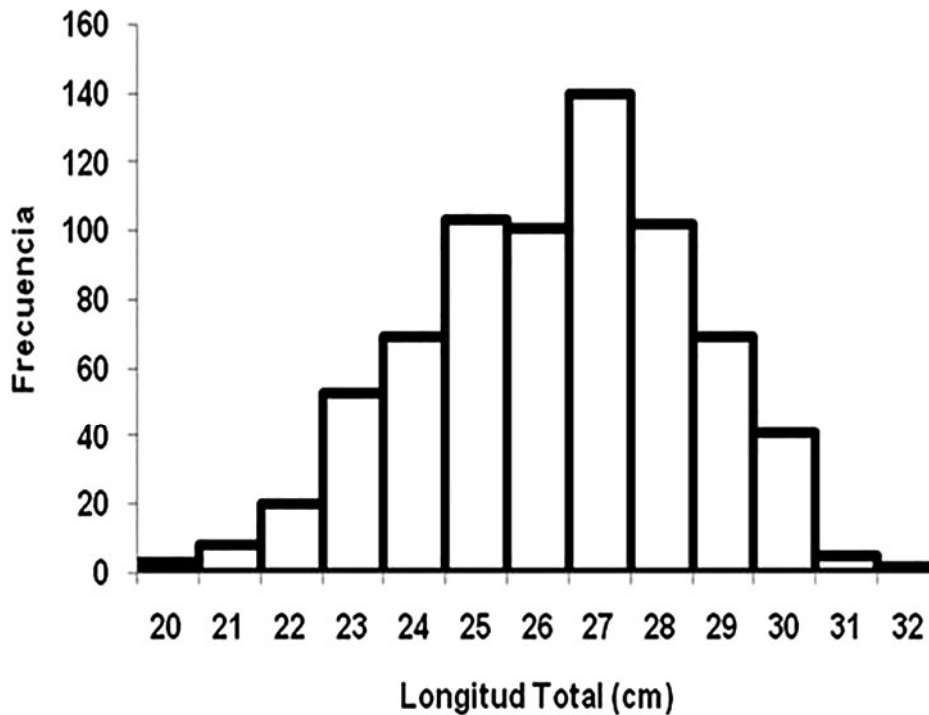


Figura 3. Estructura de talla de hembras del Corocoro (*Orthopristis ruber*), en el Golfo de Venezuela, entre enero y diciembre del año 1999.

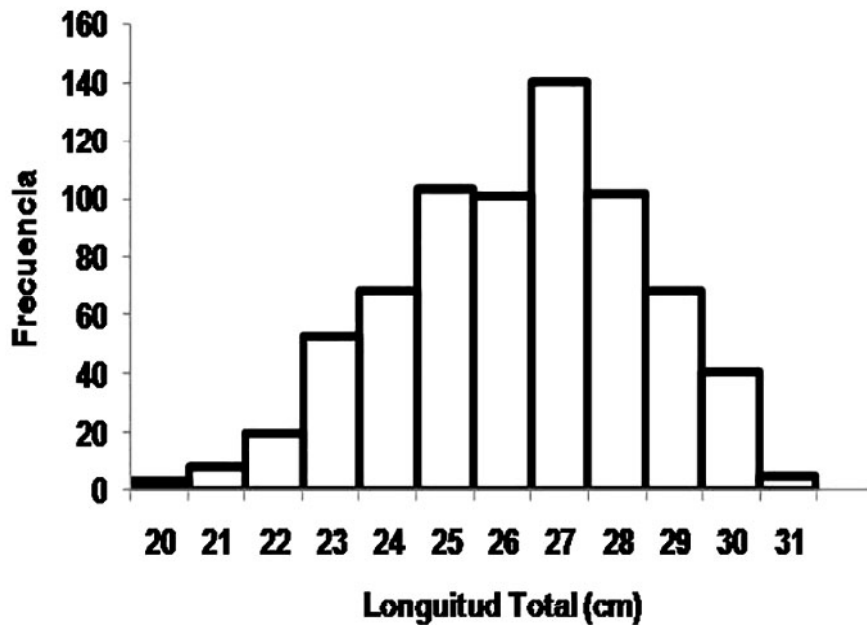


Figura 4. Estructura de talla de machos del Corocoro (*Orthopristis ruber*), en el Golfo de Venezuela, entre enero y diciembre del año 1999.

Al contrastar la talla mínima detectada en este estudio, se observa un valor superior al resto de los reportes analizados, lo cual puede estar relacionado con el muestreo de ejemplares seleccionados con fines comerciales y la exclusión de individuos de menor talla por su bajo valor comercial. Adicionalmente, pueden influir factores como la selectividad de las artes de pesca, las zonas de pesca frecuentadas, régimen de explotación, estabilidad de la población, entre otras.

Otro elemento a considerar, es que los peces exhiben historias de vida complejas, que incluyen características tales como: crecimiento, supervivencia, edad de maduración, fecundidad, distribución y abundancia que distinguen diferentes stocks de peces (Ferrer, 2008). Por tanto, obtener una representación uniforme de todas las tallas de la población, es extremadamente complejo.

Gorman y Karr, (1978), mencionan que las comunidades biológicas varían en el tiempo y el espacio, como resultado de las diferencias

en la estructura del hábitat, la disponibilidad de recursos y los patrones biogeográficos.

Por ejemplo, Rossi-Wongtschowski y Paes (1993), según estudio realizado en el Litoral Norte del Estado de São Paulo-Ubatuba en Brasil, hacen referencia a la distribución que ocupan los ejemplares de *O. ruber*, según su edad. Se indicó que los juveniles se localizan en áreas costeras, con aguas de temperatura entre 22-25 °C; mientras que los adultos suelen ocupar aguas con temperaturas más bajas, entre 19-22 °C. Por su parte Menezes y Figueiredo (1980) asociaron la ocurrencia de *O. ruber* juveniles en fondos con algas, a diferencia de los adultos, que predominaron en fondos arenosos.

Relación talla-peso

El análisis de la relación talla-peso indicó que el crecimiento del Corocoro es alométrico minorante, ya que el valor del parámetro b de la ecuación fue <3,0 sin mostrar diferencias significativas entre las ecuaciones para machos y hembras $t_{Student} = 1,96$; $P > 0,05$ (Cuadro 2 y Figura 5). Esto indica que la especie crece

Cuadro 1. Estructura de tallas reportadas en la literatura para especies del género *Orthopristis*.

Área de estudio	Talla mínima cm	Talla máxima cm	Referencia
Falcón, Venezuela	20	32	Este estudio
Falcón, Venezuela	8	32	Ginés et al. (1982)
Sucre, Venezuela	16,5	33,5	Novoa et al.(1998)
Sucre, Venezuela	13,1	25,4	Guzmán (1989)
Sureste, Brasil	7,5	27,5	Vianna&Verani (2002)
Bahía de Sepetiba, Brasil	6	27,6	Dos Santos et al. (2004)
Caribe, Colombia	14	30	Duarte et al. (2006)
Margarita, Venezuela	8	28	Parra et al. (2007)

Cuadro 2. Regresión longitud-peso del *Orthopristis ruber*, capturado en las zonas de pesca del Golfo de Venezuela, entre enero y diciembre del año 1999.

Sexos combinados	PT= 0,044*LT ^{2,66}	n=1.602	r=0,90
Machos	PT= 0,040*LT ^{2,69}	n=886	r=0,91
Hembras	PT= 0,050*LT ^{2,62}	n=716	r=0,90

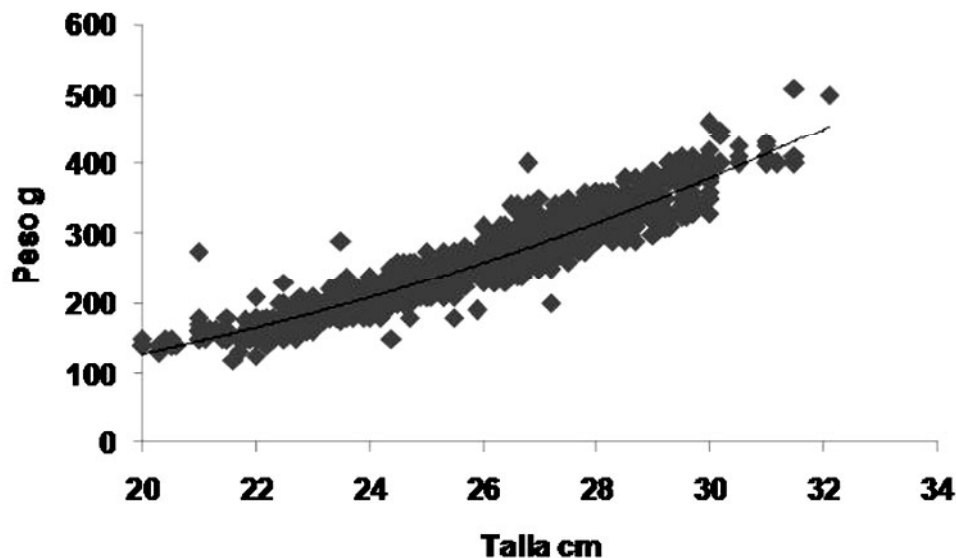


Figura 5. Regresión longitud peso para sexos combinados del *Orthopristis ruber*, capturado en las zonas de pesca del Golfo de Venezuela, entre enero y diciembre del año 1999.

más rápidamente en longitud y profundidad que en peso. Dos Santos *et al.* (2004), reportaron un crecimiento alométrico mayorante en la Bahía de Sepetiba Brasil, para *O. ruber* con diferencias significativas entre sexos.

Parra *et al.* (2007), estimaron los coeficientes de regresión de especies pertenecientes a la familia Haemulidae en el nororiente de Venezuela, y observaron valores > 3 con crecimiento que oscilaron entre isometría (*H. steindachneri*, *H. aurolineatum* y *O. ruber*) y alometría mayorante (*H. boschmae*). Este tipo de diferencias referidas al crecimiento, son comunes en peces de una misma especie, en áreas geográficas diferentes, lo cual se ha asociado a la estructura de talla en particular de cada especie y área de pesca (Squire y Susuki, 1990; Parra *et al.* 2007).

También, pueden estar asociadas al lugar y tiempo de los muestreos, tipo de pesquería, nivel de explotación de una especie a otra, disponibilidad de recursos alimenticios, perturbaciones del hábitat (ej: zona impactada por actividades petroleras).

La relación talla-peso es de gran importancia para la ciencia pesquera y manejo; esta variable puede ser utilizada en diversas aplicaciones, tales como: (a) la estimación de la biomasa a partir de datos de longitud (b), la estimación

de un factor de condición de especies, y (c) las comparaciones entre la historia de vida y variaciones morfológicas de la misma especie en diferentes áreas (Pauly, 1993; Petrakis y Stergiou, 1995; Binohlan y Pauly, 2000).

Al no existir diferencias significativas en talla y peso entre sexos, las regulaciones pesqueras pueden ser más precisas para establecer la talla de captura común; además, los parámetros de la dinámica poblacional de esta especie pueden ser estudiados como sexos combinados en los modelos de evaluación de su abundancia poblacional y del estado de explotación de la pesquería.

Proporción de sexos

Del total de individuos analizados, 45% resultaron hembras y 55% fueron machos (Cuadro 3), siendo la proporción de hembras y machos 1:1,2, respectivamente, lo cual difiere significativamente de la relación teórica 1:1 esperada ($\chi^2 = 18,04$; $P > 0,05$).

El análisis mensual de las capturas realizadas, muestra que los machos fueron más abundantes; esta diferencia en la proporción de hembras y machos, fue significativa únicamente para los meses de junio, julio, agosto, septiembre y diciembre. La razón de este patrón no es

del todo clara, quizás pudiera deberse a los procesos de cortejo y cópula propios de la época de reproducción y otros factores como variables climáticas.

Los meses citados anteriormente corresponden a la época de lluvias (Ginés *et al.*, 1982), la cual puede ocasionar variaciones en la salinidad; esto con ayuda de las mezclas, las cuales son vigorosamente fuertes gracias a la turbulencia generada por la fricción de los persistentes e intensos vientos alisios. Además, estas fluyen obedeciendo, principalmente, al balance de: fuerzas de los gradientes de presión que inducen los cambios de densidad, fuerza de fricción del viento, corrientes de marea y la fuerza de Corioli (Prospecto Cardon I, 2014).

La proporción sexual varía entre poblaciones y de un año a otro (Cousseau y Christiansen, 1971; Nikolsky, 1963). Las causas de tales diferencias en la proporción de sexos se relacionan al crecimiento, mortalidad, costos energéticos de la reproducción y migración diferencial o segregación espacial por sexo (Sadovy y Shapiro, 1987; Stergiou *et al.*, 1996). La proporción de sexo es uno de muchos elementos clave que permiten comprender

los procesos que intervienen en la estabilidad poblacional de una especie.

Una disminución importante de la población puede ocurrir por la inhabilidad de encontrar parejas para aparearse o por la reducción del éxito en la fertilización, también conocido como el efecto Allee (Allee, 1938); es por ello que deben ser estudiados a fin de reconocer cambios que puedan colocar en riesgo a la población.

Talla de madurez sexual

La talla de madurez a la cual el 50% de la población es capaz de reproducirse por primera vez fue de 27,3cm de longitud total (Figura 6), sin diferencias significativas entre sexos ($t_{Student}=1,27$; $P=0,20$).

Igualmente se registró la existencia de un mayor número de individuos inmaduros entre julio y diciembre, mientras que los ejemplares maduros se observaron durante todo el periodo de estudio. Esto confirma su condición de reproductores parciales durante gran parte del año, típico de especies tropicales, (Holden y Raitt, 1975).

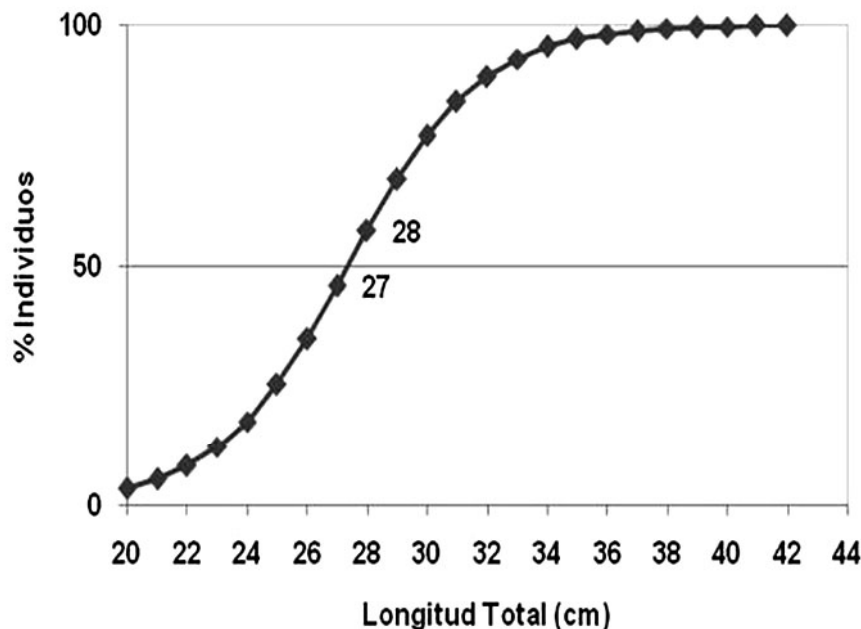


Figura 6. Talla de madurez sexual poblacional del Corocoro (*Orthopristis ruber*), entre enero y diciembre del año 1999.

También puede apreciarse que la mayor cantidad de individuos en estado de reposo o desovados (Figura 7), se observa entre los meses de febrero a julio, coincidiendo con la mayor proporción de individuos maduros, siendo los más importantes junio y julio, coincidiendo con la época de lluvias y mayor abundancia de machos, quizás evidenciando un periodo de reproducción bien definido durante el primer semestre del año.

Al contrastar las tallas de los individuos capturados con el valor de la L_{50} , se observa que el 52% del total de individuos analizados no alcanzó la talla de primera madurez sexual. Por tanto, si consideramos que para ese mismo año la producción total de Corocoro alcanzó 1 072 480 Kg (aportada casi en su totalidad por la pesca industrial de arrastre), podría estimarse un impacto negativo para el futuro de la especie, ya que la mitad de la fracción explotada no logró reproducirse una vez en su vida.

Adicionalmente, el Corocoro tiene un atractivo económico y gastronómico, y al no existir restricciones a la pesca del mismo, se promueve su captura sin limitación alguna, por lo que se convierte en una especie propensa a la sobrepesca y su población puede disminuir peligrosamente, lo que compromete la renovación

de la misma, generando sobreexplotación de la especie. Otro factor que debe ser tomado en cuenta es que las capturas del Corocoro son en la mayoría de los casos, producto de la pesca incidental, lo cual dificulta su manejo.

Existen diversos factores no analizados en este trabajo, que están establecidos científicamente. Por ejemplo, Saborido-Rey (2008), explica que la talla y edad de primera maduración varían con el tiempo en las poblaciones de peces, y que no está definido que sea la talla el factor decisivo en la maduración.

La explicación principal afirma que los parámetros varían debido a cambios en el crecimiento, como una respuesta compensatoria a ciertos factores poblacionales y ambientales. Una segunda hipótesis afirma que la variación proviene de una selección genética, esto significa que el cambio hacia edades y tallas menores es producto de los cambios de las frecuencias genotípicas en la población, a lo largo del tiempo. Por ello, en poblaciones sobreexplotadas es normal que se produzca una reducción en la edad y talla de primera maduración, bien por efectos denso dependientes, por selección genética o por ambos efectos.

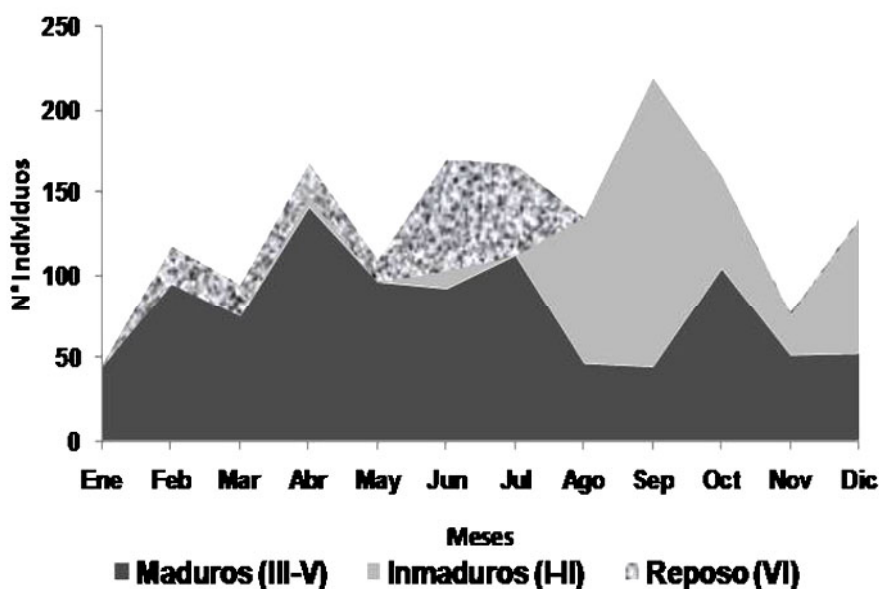


Figura 7. Proporción de individuos del Corocoro (*Orthopristis ruber*) según estado de madurez sexual, entre enero y diciembre del año 1999.

El 14 de marzo de 2009, con base en el artículo 23 del Decreto 5930 con Rango, Valor y Fuerza de la Ley de Pesca y Acuicultura de la República Bolivariana de Venezuela, se prohibió la pesca industrial de arrastre de camarón, la cual capturaba incidentalmente al Cororoco, por lo que fue eliminado el efecto que causaba esta pesquería sobre las existencias de la especie. Sin embargo, sigue siendo objeto de captura debido a la pesquería artesanal que faena en el Golfo de Venezuela sin restricciones legales.

En la actualidad existe una considerable diferencia entre los volúmenes capturados en la década de 1990 con respecto a los actuales (2015); esto puede ser un efecto directo de la eliminación de la pesca industrial de arrastre, la cual suministraba grandes volúmenes de la especie y como consecuencia directa de su prohibición, la cantidad capturada de la especie, se redujo. Igualmente, puede tratarse de una disminución importante de la población, debido a la reducción del stock desovante de la especie, la cual puede estar motivado a varios factores como disponibilidad de alimento, la condición del medio ambiente o el nivel de saturación de la población. Estos fenómenos promueven una tendencia a la disminución de la población.

Por tanto, resulta necesario establecer prioridades de investigación que permitan instalar proyectos de monitoreo a largo plazo, incluyendo aspectos biológicos, tecnológicos, socioeconómicos, dinámicas poblacionales y variables ambientales, considerados factores claves que inciden en la distribución y abundancia de los recursos en la zona de estudio.

CONCLUSIONES

La población total estudiada presentó un rango de talla entre 20 y 32,1 cm, siendo de 26 cm el promedio general para los sexos combinados. Este promedio corresponde a la longitud total de la fracción explotada, que crece más rápidamente en longitud y profundidad que en peso, sin mostrar diferencias significativas entre las ecuaciones para hembras y machos.

Los parámetros de la dinámica poblacional de esta especie pueden ser utilizados sin ser discriminados por sexo.

La relación talla peso indicó que el crecimiento del Cororoco es alométrico minorante, sin mostrar diferencias significativas entre las ecuaciones para machos y hembras (TStudent = 1,96; P>0,05).

Los machos fueron más abundantes y la L_{50} quedó determinada para machos y hembras en 27,3 cm de longitud total, con un 52% de individuos analizados que no alcanzó L_{50} . El periodo reproductivo se evidencia durante gran parte del año, reflejando la mejor época reproductiva durante el primer semestre del año.

LITERATURA CITADA

- Acosta, J. 2011. Distribución, abundancia y parámetros poblacionales de cuatro especies de peces de la familia Haemulidae en el Golfo de Cariaco, Venezuela (tesis de licenciatura). Universidad de Oriente, Cumaná. Disponible en línea: http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2440/1/TESES_JA.pdf [Jul. 14, 2014].
- Allee, W. C. 1938. The Social Life of Animals. Beacon Press, Boston, MA, USA. pp. 126-127
- Binohlan, C. and D. Pauly. 2000. The length-weight table, En: Fishbase 2000: concepts, design and data sources, Froese, R. and D. Pauly (Eds). ICLARM, Manila, Philippines. pp. 121-123.
- Carvajal, J. 1973. Capturas comerciales y reproducción de *Orthopristis ruber* al Nor-este de la isla de Margarita, Venezuela. Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. 12(1):33-40.
- Cervigón, F. y W. Fischer. 1979. INSOPESCA. Catálogo de especies marinas de interés económico actual o potencial para América Latina. Parte 1. Atlántico Centro y Sur Occidental. Roma. FAO/UNDP, SIC/79. 1372 p.
- Cervigón, F., R. Cipriani, W. Fischer, L. Garibaldi, M. Hendrickx, A. J. Lemus, R. Márquez, J. M. Pourtiers, G. Robaina y B. Rodríguez. 1992. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas

- salobres de la costa septentrional del Sur América. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de pesca. Roma, FAO. 513 p.
- Cervigón, F. 1994. Los peces marinos de Venezuela. Vol III. Ex Libris. Caracas Venezuela. 295 p.
- Cousseau, M. y H. Christiansen. 1971. La reproducción de la merluza y su relación con otros aspectos biológicos de la especie. Bol. Inst. Biol. Mar. Argentina. 20:44-74.
- Dos Santos, A., A. Pessanha, M. Da Costa e F. Araújo. 2004. Relação peso-comprimento de *Orthopristis ruber* (Cuvier) (Teleostei, Haemulidae) na Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. Rev. Bras. Zool. pp. 185-187.
- Duarte, L., P. Canchong, L. Manjarrés, C. García, F. Escobar, J. Altamar, J. Viaña, K. Tejada, J. Sánchez y F. Cuello. 2006. Variabilidad circadiana de la tasa de captura y la estructura de tallas en camarones e ictiofauna acompañante en la pesquería de arrastre del Mar Caribe de Colombia. Invest. Mar., Valparaíso. 34(1):23-42.
- Etchevers, S. 1975. La relación longitud-peso en 7 especies de interés comercial en el nororiente de Venezuela. Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela Universidad de Oriente. 14(2):243-246.
- Ferrer, O. 2008. Libro de Ciencias Pesqueras. Ed. Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias Departamento de Biología, Unidad Académica Ecología Acuática. Maracaibo. pp. 147-184.
- Gaertner D. et F. Laloe. 1986. Etude biometrique de la taille a'premier maturité sexuelle de *Geryonmaritae*, Maning et Holthuis, 1981 de Senegal. Oceanol. Acta. 9(4):479-487.
- Ginés, Hno., J. Monente, A. Lozano, E. Breman, G. Voltolina, D. Prinz, L. González, C. Jiménez, W. Brownell, G. Pastor, P. Gutiérrez, Guedez, T. y T. Mago. 1982. Carta Pesquera de Venezuela. II. Áreas Central y Occidente. Ed. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Monografías 17 y 18. Caracas. 227 p.
- Gorman, O. T. and J. R. Karr. 1978. Habitat structure and stream fish communities. Ecology. 59:507-515.
- González, L. W. 1981. Régimen alimentario del Corocoro, *Orthopristis ruber* (Cuvier, 1830) (Pisces: Pomadasydae) en las zonas adyacentes a la isla de Margarita, Venezuela. Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela Universidad de Oriente. 20(1-2):23-32.
- Guerrieri, A., N. Eslava, L. W. González y F. Guevara. 2015. Parámetros de crecimiento y mortalidad de *Orthopristis ruber* (Perciformes: Haemulidae) en el archipiélago Los Frailes, Venezuela. Rev. Biol. Trop. Vol. 63 (1):189-198.
- Guzmán, R. 1989. Aspectos biológicos y pesqueros del Corocoro *Orthopristis ruber* en el área Norte y Noroeste de la Isla de Margarita y costa norte del estado Sucre, Venezuela. Tesis de Magister Sciansariatum en Ciencias Marinas. Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad De Oriente, Cumaná. 99 p.
- Holden M. y D. Raitt. 1975. Manual de ciencias pesqueras. Parte 2. Métodos para investigar los recursos y su aplicación. Roma. Doc. Tec. FAO. pp. 115-214.
- INSOPESCA (Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura). 2015. Histórico de producción pesquera del estado Falcón. Documento técnico no publicado. Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura, Falcón, Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras. Venezuela. 25 p.
- Menezes, N. A. e J. L. Figueiredo. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. Ed. Univ. São Paulo, Museu de Zool., IV. Teleostei (3), 90 p.
- Novoa, D. J. Mendoza, L. Marcano y J. Cárdenas. 1998. El atlas pesquero marítimo de Venezuela. Ed. Ministerio de Agricultura y Cría, Servicio Autónomo de

- los Recursos Pesqueros y Acuícolas y VECEP. Caracas. 71 p.
- Nikolsky, G. V. 1963. The ecology of fishes. Ed. Academic Press, Londres. 352 p.
- Parra, B. 1996. Relación longitud-peso, factor de condición e índice hepático de *Haemulon aurolineatum* (Cuvier, 1830) (Pisces: Haemulidae) de la isla de Cubagua, Venezuela. Acta Científica de Venezolana. 47(1):122-134.
- Parra, B. L. Ruiz y A. Prieto. 2007. Índices ecológicos y parámetros biométricos de Haemulidae (Pisces: Perciformes) en la zona costera de la Isla de Cubagua, Venezuela. Zootecnia Trop. 25(1):51-61.
- Pauly, D. 1993. Fishbyte Section. Editorial. NAGA, The ICLARM Quarterly. 16:26.
- Petrakis, G. and K. I. Stergiou. 1995. Weight-Length relationships for 33 fish species in greek waters. Fisheries Research. 21:465-469.
- Polo, C., J. C. Marín, J. Rojas, E. Behling, M. Meza, A. Fernández y J. Flores. 2014. Variaciones espaciales de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en sedimentos costeros del Lago de Maracaibo, estado, Zulia, Venezuela. Bol. Cent. Inv. Biol. Vol. 48:21-38.
- Prospecto Paraguaipoa. 2014. Proyecto 04. Informe Final, Línea Base ambiental y de la Biodiversidad en las Prospecciones Barracuda, Cardon I y Paraguaipoa. PDVSA Exploración e Intecmar (Instituto de Tecnología y Ciencias Marinas). Universidad Simón Bolívar. Prospecto Cardon 1., 2014. Proyecto 04.- Línea Base Ambiental y de Biodiversidad en los Prospectos Barracuda, Cardón i y Paraguay
- Ricker, W. E. 1979. Growth rates and models. En: Hoar, W. S., Randall, D. J. and Brett, J. R. (Eds). Fish physiology. Bioenergetics and growth. pp. 677-744.
- Rossi-Wongtschowski, C. L. D. B. e E. T. Paes. 1993. Padrões espaciais e temporais da comunidade de peixes demersais do litoral norte do Estado de São Paulo-Ubatuba, Brasil. Publção. Esp. Inst. Oceanogr., S. Paulo, 10:169-188.
- Saborido-Rey, F. 2008. Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC) Universidad de Vigo, España. Disponible en línea: <http://digital.csic.es/handle/10261/7260> [Oct. 10, 2014].
- Sadovy, Y. and D. Shapiro. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. Copeia. 1987:136-156.
- Sokal, R. R. and F. J. Rohlf. 1981. Biometry the principles and practice of statistics in biological research. (2nd Ed.) W. H. Freeman and Co. San Francisco. 859 p.
- Somerton, D. 1980. A computer technique for estimating the size of sexual maturity in crabs. Canadian J. Fish. Aquatic. Sci. 37:1488-1494.
- Squire, J. and Z. Susuki. 1990. Migration trends of striped marlin (*Tetrapturus audax*) in the Pacific Ocean. En: Straud R. H. (Ed) Planning the Future of Billfishes. Proc. Second Inter. Billfish Symposium, Kailua-Kona, Hawaii. Part 2. pp. 67-80.
- Stergiou, K. P. Economidis and A. Sinis. 1996. Sex ratio, spawning season and size at maturity of red brand fish in the western Aegean Sea. J. Fish Biol. 49:561-572.
- Teisser, G. 1948. La relation d'Allometrie. La signification statistique et biologique. Biometrics. 4(1):14-53.
- Vianna, M e J. Verani. 2002. Biología populacional de *Orthopristis ruber* (teleostei, Haemulidae) espécie acompanhante da pesca de arrasto do camarão-rosa, no sudeste brasileiro. Atlântica, Rio Grande. 23(1):27-36.
- Zeigler, J. 1964. The hidrography and sediments of the Gulf of Venezuela. Limnology and Oceanogr. 9:397-411.

Nota Técnica

Seroprevalencia de brucelosis en el personal de plantas de beneficio del estado Lara, Venezuela. Estudio exploratorio

Brucellosis seroprevalence in slaughter houses personnel in Lara state, Venezuela. Exploratory study

Ana M. Pacheco Requena^{1*}, María V. Benítez², Tonny E. Quijada Láres³, y Jesús E. Quijada Pacheco⁴

¹Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPPS), Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria (SACS). Lara, Venezuela. *Correo electrónico: anapacher@hotmail.com. ²Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPPS), Epidemiología Regional del estado Lara, ³Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). ⁴Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPPS), Servicio Autónomo de Contraloría Sanitaria (SACS). estado Lara, Venezuela.

RESUMEN

Para evaluar la seroprevalencia de la brucelosis en trabajadores de plantas de beneficio ubicadas en el estado Lara, Venezuela, se realizó un estudio epidemiológico de campo, tipo descriptivo, de corte transversal durante el año 2013. La muestra censal fue de 480 trabajadores de las plantas: Industrial Centro Occidental, Semi-Industrial La Fé, Municipal de Carora y Municipal de El Tocuyo. Se recolectaron sueros sanguíneos, los cuales fueron analizados a través de las pruebas Card Test, aglutinación lenta en tubo de Wright y 2-Mercapto Étanol, en el Laboratorio Comunal de Diagnóstico Zoonosológico de Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral en Carora. Se consideraron el sexo, edad, antigüedad, actividad laboral de los trabajadores, así como sus síntomas. Se aplicó ficha epidemiológica a los seroreaccionantes. La seroprevalencia global de los mataderos fue de 0,21%, mientras que en el matadero municipal de El Tocuyo se observaron valores de 2,50%. El sexo masculino mostró valores de 2,63%, el grupo etario más afectado fue el ubicado entre 31 y 40 años de edad, con 5,55%. Se observaron valores de 5,26 y 2,94%, para el personal con menos de 10 años de servicio y de ocupación obreros respectivamente. El reactor a la prueba diagnóstica presentó fiebre diurna ondulante durante varias semanas, temperaturas entre 39 y 40 °C, mialgias, insomnio y pérdida de peso. Solo un matadero presentó un caso positivo considerándose una seroprevalencia de 2,63%.

Palabras clave: Brucelosis, seroprevalencia, personal de planta, mataderos.

ABSTRACT

To evaluate brucellosis seroprevalence in workers of Venezuelan slaughter houses, located in the state of Lara, an epidemiological, descriptive and cross-sectional study was carried out during 2013. The census sample included 480 plant workers of Industrial Centro-occidental, Semi-industrial La Fé, Municipal de Carora y Municipal de El Tocuyo. Blood sera were collected, and analyzed through the Card, slow tube and 2-mercaptoethanol tests, in the Zoonosology Diagnostic Community Laboratory, National Institute of Integral Agricultural Health, Carora, Lara state, Venezuela. The sex, age, seniority, work activity of the workers, as well as their symptoms were considered. Epidemiological data was applied to seroreactors. Overall seroprevalence of the slaughterhouses was 0.21%, while in El Tocuyo municipal slaughterhouse, values of 2.50% were observed. The male showed values of 2.63%, being the most affected age group between 31 and 40 years, with 5.55%. Values of 5.26 and 2.94% were observed, for personnel with less than 10 years of service and occupation workers respectively. The reactor to diagnostic test presented undulating diurnal fever for several weeks, temperatures between 39 and 40 °C, myalgias, insomnia and weight loss. Only one slaughterhouse presented a positive case, considering a seroprevalence of 2.63%.

Key words: Brucellosis seroprevalence plant personnel, slaughter houses.

Recibido: 13/08/15 Aprobado: 10/11/17

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica infecciosa producida por una bacteria del género *Brucella* (Acha y Szyfres, 2001) y constituye un problema en el área económica, social y de salud pública para Venezuela y el mundo. De acuerdo a Acha y Szyfres (2001), se producen 500.000 casos anuales de brucelosis humana a nivel mundial, lo cual tiene relación directa con la prevalencia en los animales infectados; lo anterior puede variar desde valores inferiores a 0,01/100.000 habitantes, en los países desarrollados, hasta cifras superiores a 200/100.000 habitantes en los países menos desarrollados (Ibáñez, 2007). De 9 países latinoamericanos, 8 han reportado a la brucelosis como la principal zoonosis relevante en el continente (Gil y Samartino (2000).

Se considera una enfermedad ocupacional que afecta veterinarios, personal de laboratorio, personal de mataderos, cabreros, entre otros (Luna-Sánchez y col., 1998). Se ha reportado que los mataderos y salas de matanzas constituyen los establecimientos con mayor implicación en la transmisión de la brucelosis a humanos (Ruiz, 1995).

En Venezuela, se han realizado estudios esporádicos sobre brucelosis en humanos. De acuerdo con estas investigaciones, para el año 2006 existía una prevalencia del 19% en el personal de la sala de matanza de Ticoporo, estado Barinas (Jozic y Mosquera, 2006); mientras que en mataderos del estado Bolívar y Anzoátegui, se reportaba una seroprevalencia de 5,6% (De Grazia, 2006). En años subsiguientes,

estudios realizados en el personal de mataderos ubicados en el estado Monagas, reportaron prevalencias de 10% y 9,1% respectivamente (Jugeshuarsingh y Orta, 2010; Montilla, 2010).

No obstante, aún con los datos mostrados en el párrafo anterior, la información disponible sobre brucelosis humana y animal en Venezuela es insuficiente. A esta situación se añade la inexistencia de reportes provenientes de los programas de vigilancia epidemiológica y zoonosis, particularmente en el estado Lara, por lo que no se cuenta con datos oficiales de la presencia de brucelosis en el personal que labora en las plantas de beneficio de esta entidad federal.

Por lo antes señalado, se plantea la ejecución de éste estudio exploratorio cuyo objetivo fue determinar la seroprevalencia de la brucelosis en el personal de cuatro plantas de beneficio del estado Lara.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El estudio se realizó en el estado Lara, ubicado en la región centro occidental de Venezuela, en las coordenadas 09° 23' y 10° 45' de Latitud Norte y entre 68° 52' y 70° 58' de Longitud Oeste, con una superficie de 19.800 km², precipitaciones promedio de 650 mm al año y temperatura media anual entre 19 y 29 °C (PROINLARA, 2013). En el Cuadro 1, se describe la ubicación geográfica y política de los cuatro mataderos evaluados en el estado Lara.

Cuadro 1. Ubicación de los mataderos en estudio

Matadero	Ubicación
Industrial Centro Occidental	Km 6 Autopista vía a Yaritagua, sector Veragacha, parroquia Santa Rosa, municipio Iribarren, estado Lara.
Semi-industrial La Fe municipal de Carora	Sector El Rodeo, parroquia Tintorero, municipio Jiménez, estado Lara.
municipal de El Tocuyo	Sector Los Olivos, parroquia Trinidad Samuel, municipio Torres, estado Lara.
	Sector Francisco Suarez, parroquia Bolívar, municipio Moran, estado Lara.

Población

Se realizó un estudio epidemiológico de tipo descriptivo de corte transversal, cuya población objeto de estudio estuvo conformada por 480 personas que laboran en cuatro plantas de beneficio del estado Lara, distribuidas de la siguiente manera: Matadero Industrial Centro occidental con 310 personas; Matadero Semi-Industrial la Fe con 100 personas; Matadero Municipal de Carora con 30 personas y Matadero Municipal de El Tocuyo con 40 personas. La muestra fue de tipo censal, puesto que se seleccionó toda la población en estudio, considerando los siguientes criterios: actividad ocupacional (obrero que interviene en la matanza, personal profesional, técnicos de laboratorio, personal de mantenimiento), la edad, el sexo y los años de servicio.

Procedimientos

La información del personal que se incluyó en el estudio, fue obtenida de la nómina de obreros y empleados de la que se extrajo la identificación, ubicación y clasificación del personal. Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción venosa de cada trabajador y depositada en tubos Vacutainer, sin anticoagulantes, debidamente rotulados; las mismas fueron centrifugadas para separar los sueros sanguíneos, los cuales fueron remitidos al Laboratorio Comunal de Diagnóstico Zoonosario del Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral, en Carora, estado Lara. Para el tamizaje, se aplicó la prueba de aglutinación en placa con antígeno tamponado (Card Test), luego las pruebas de aglutinación lenta en tubo de Wright (SAT) y la prueba 2-Mercaptoetanol, siendo estas las pruebas de campo contempladas en el Programa de prevención, control y erradicación de la

brucelosis del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras de Venezuela.

Todo trabajador que resultó seroreaccionante a las pruebas diagnósticas, se le aplicó la ficha epidemiológica para el diagnóstico de la brucelosis de la Coordinación Regional de Zoonosis del Ministerio para el Poder Popular de la Salud.

Análisis de Datos

Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva utilizando el programa Microsoft Excel®.

Consideraciones Bioéticas

No existieron problemas éticos, ya que la aplicación de procedimientos, técnicas y tratamientos no fueron perjudiciales ni atentaron contra la dignidad y moral de las personas que formaron parte del estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectó un reactor en una de las plantas de beneficio evaluadas, obteniéndose un valor global de seroprevalencia de 0,21% (Cuadro 2); para las plantas de beneficio Industrial Centrooccidental, Semi-Industrial La Fe, Municipal Carora y Municipal El Tocuyo fue de 0, 0, 0 y 2,5%, respectivamente.

El resultado de seroprevalencia (2,50%) obtenido en la planta de beneficio de El Tocuyo (Cuadro 3), es menor al 19% obtenido en una planta de beneficio ubicada en el estado Barinas (Jozic y Mosquera, 2006); igualmente es inferior al valor de 5,6% observado en el estado Bolívar y Anzoátegui por De Gracia (2006), y al 9,1% reportado en el estado Monagas (Montilla, 2010) y 10% reportado por Jugeshuarsingh (2010).

Cuadro 2. Seroprevalencia global de la brucelosis en el personal de planta de mataderos del estado Lara. 2013.

Personal de Planta	Número de Personas	Prevalencia (%)
No reactores	479	99,79
Reactores	1	0,21
Total	480	100,00

La brucelosis se asocia más frecuentemente al sexo masculino (Serra y Godoy, 2000). En este estudio, con un total de 38 muestras masculinas analizadas, se presentó un solo paciente seropositivo constituyendo una seroprevalencia de 2,63% (Cuadro 4). Este resultado coincide con lo reportado por Jugeshuarsingh (2010), quien señala que el hombre presenta mayor riesgo de contraer la enfermedad debido a su mayor exposición por la idiosincrasia y modo de vida que determinan su orientación a un tipo de trabajo y un mayor contacto con los animales.

Con relación a la edad, se ha descrito una mayor frecuencia de seropositividad en edades superiores a los 20 años de edad, como consecuencia del mayor grado de exposición (González y Navarro, 1980). En la presente investigación se observó una mayor seroprevalencia (5,55%) en el grupo etario de 31 a 40 años, en una población de 18 personas

(Cuadro 5). Este resultado coincide con lo reportado por Jugeshuarsingh (2010) y Montilla (2010), quienes detectaron que este grupo etario fue el más afectado con una prevalencia de 66,7%.

Contrariamente, Jozic y Mosquera (2006), reportaron el mayor número de prevalentes (65%) en el grupo etario comprendido entre los 41 y 50 años de edad, Sin embargo, la edad no sería significativa al momento de adquirir la infección (Luna, 1996).

Con respecto a los años de servicio o antigüedad del personal que labora en planta, se observó una mayor seropositividad (5,26%) en el personal con menos de 10 años de servicio (Cuadro 6). Este resultado coincide con lo expresado por Jozic y Mosquera (2006) y Jugeshuarsing (2010) quienes reportan las mayores seroprevalencias (60% y 6,56%) en el personal con menos de 10 años de servicio.

Cuadro 3. Seroprevalencia de la brucelosis en el personal de planta por mataderos del estado Lara. 2013.

Matadero	No Reactores		Reactores		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Matadero Industrial Centroccidental	310	0	0	0	310	65
Matadero Semi-Industrial La Fe	100	0	0	0	100	21
Matadero Municipal de Carora	30	0	0	0	30	6
Matadero municipal de El Tocuyo	39	97,50	1	2,5	40	8
Total	479	99,79	1	0,21	480	100

Cuadro 4. Seroprevalencia de la brucelosis en el personal de planta de acuerdo al género en el Matadero Municipal de El Tocuyo. 2013.

Género	Reactores		No Reactores		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Femenino	0	0	2	100	2	100
Masculino	1	2,63	37	97,37	38	100
Total	1	2,5	39	97,5	40	100

Cuadro 5. Seroprevalencia de la brucelosis en el personal de planta de acuerdo a la edad en el Matadero Municipal de El Tocuyo. 2013.

Edad (años)	Reactores		No Reactores		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
< 20	0	0	2	100	2	100
21- 30	0	0	11	100	11	100
31-40	1	5,55	17	94,44	18	100
41- 50	0	0	5	100	5	100
51- 60	0	0	4	100	5	100
Total	1	2,5	39	97,5	40	100

Cuadro 6. Seroprevalencia de la brucelosis en el personal de planta de acuerdo a los años de servicio en el Matadero Municipal de El Tocuyo. 2013.

Tiempo (años)	Reactores		No Reactores		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
< 10	1	5,26	18	94,74	18	100
>10	0	0	21	100	21	100
Total	1	2,5	39	97,5	40	100

En cuanto a la actividad ocupacional, se observó que la más afectada fue la actividad de obrero con una seroprevalencia de 2,94% en una población de 24 personas (Cuadro 7), resultado que coincide con lo reportado por De Gracia (2006). Por el contrario, Jugeshuarsingh (2010), expresa que el personal de limpieza fue la población con mayor seropositividad. Luna (1996), menciona que la frecuencia de seropositividad contra *Brucella abortus* depende del tiempo de exposición al riesgo y del contacto directo con animales infectados o derivados contaminados con la bacteria.

Por otra parte, los síntomas reportados en la ficha epidemiológica fueron, fiebre diurna con tiempo de duración de varios días, con fiebre ondulante de 39-40 °C, mialgias, insomnio y pérdida de peso (Cuadro 8). Esto coincide con lo reportado por Benenson (1992), quien expresa que la brucelosis es una enfermedad de comienzo agudo o insidioso, caracterizado con mialgias no continuas, dolor articular y

muscular en diferentes partes del cuerpo, fiebre continua, intermitente de duración variable, debilidad, sudor profuso, pérdida de peso, dolor de columna, malestar general, cansancio, entre otros.

Una vez evaluados los datos obtenidos en la presente investigación, es importante destacar que a pesar de considerarse una enfermedad ocupacional, no existe una normativa legal por parte del MPPS o el MPPAT, que exija a las empresas de alimentos públicas o privadas, realizar el despistaje de la brucelosis antes, durante y después de la estadía del personal en la empresa; esto último es de suprema importancia debido a las consecuencias laborales, económicas y de salud pública que representa esta zoonosis.

Igualmente importante es el fortalecimiento y mantenimiento de la vigilancia epidemiológica por parte de los organismos oficiales a través de la investigación activa, extendiéndola a las salas de matanza e implementando medidas

Cuadro 7. Seroprevalencia de la brucelosis en el personal de planta según la actividad ocupacional en el Matadero Municipal de El Tocuyo. 2013.

Ocupación actual de	Reactores		No Reactores		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Obreros	1	2,94	33	97,06	34	100
Limpieza	0	0	2	100	2	100
Mantenimiento	0	0	2	100	2	100
Supervisor y Profesionales	0	0	2	100	2	100
Total	1	2,5	39	97,5	40	100

Cuadro 8. Signos y Síntomas del personal de planta reactor a anticuerpos de la brucelosis en el Matadero Municipal El Tocuyo. 2013.

Nº de Personas	Signos y Síntomas
1	<ul style="list-style-type: none"> - Fiebre ondulante, diurna de 39-40°C con tiempo de duración de varios días. - Mialgias - Insomnio - Pérdida de Peso

Fuente: Ministerio del Poder Popular para la Salud. Coordinación Regional de Zoonosis. Ficha Epidemiológica para el Diagnóstico de Brucelosis. 2013.

de control que coadyuven a la erradicación de esta zoonosis en el estado Lara. Parte de este fortalecimiento implica la incorporación de un mayor número de pruebas diagnósticas en humanos, como la Prueba de Coombs, ELISA competitiva o reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

CONCLUSIONES

El estudio mostró una seroprevalencia global para brucelosis de 0,21%, en los trabajadores de las cuatro (4) plantas de beneficio estudiadas en el estado Lara, detectándose un reactor y seroprevalencia de 2,5% en el matadero municipal de El Tocuyo.

El reactor fue un paciente de sexo masculino, con edad comprendida entre 31 y 40 años, perteneciente al personal obrero (matarife),

con antigüedad menor a los diez (10) años de servicio en la planta; se considera personal con alto riesgo de contacto con el agente etiológico.

El caso seropositivo mostró dentro de sus signos y síntomas fiebre diurna ondulante de 39-40 °C durante varios días, mialgias, insomnio y pérdida de peso.

LITERATURA CITADA

- Acha. P. y B. Szyfres. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen 1. Bacteriosis y Micosis. 3ª edición. Washington. Editorial OPS. pp 28-175.
- Benenson, A. 1992. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Informe oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. Washington, D. C., Organización

- Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud. 651 p.
- De Grazia R. 2006. Estudio serológico de brucelosis en mataderos del Estado Bolívar y Soledad, Estado Anzoátegui. Trabajo de Grado. Dpto. de Parasitología y Microbiología. Esc. Cs. Salud. Bolívar U.D.O. (monografía). 39 p.
- Gil, A. y L. Samartino. 2000. Zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Livestock Policy Discussion Paper. N° 2. Food and Agriculture Organization. (FAO). Livestock Information and Policy Branch. AGAL. <http://www.fao.org/ag/AGA/AGAL/paperspolicypaper.02.pdf>
- González, I. y M. Navarro. 1980. Prevalencia de la brucelosis en el personal de los mataderos en el Departamento de Caldas, Colombia. Consultado el 10 de Mayo de 2012. www.telesalud.Ucaldas.edu.co/rme/articulos/v2e4a.4.
- Ibáñez, C. 2007. Epidemiología de la brucelosis. Consultado el 10 de Mayo del 2012 de: www.madrimasd.org/blogs/salud_publica/2007/05/30/66687.
- Jozic B. y O. Mosquera. 2006. Prevalencia de brucelosis humana en personal de riesgo y brucelosis bovina en la sala de matanza Ticoporo del municipio Antonio José de Sucre, Barinas, Venezuela, durante el primer semestre del 2004. *Gaceta Ciencias Veterinarias* 8(2):69-78.
- Jugeshuarsingh A. y A. Orta 2010. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en los trabajadores de mataderos, estado Monagas. Universidad de Oriente. Escuela de Ciencias de la Salud "Dr. Francisco Battistini Casalta". (Trabajo de Grado). 46 p.
- Luna, D. 1996. Análisis de brote epidemiológico de brucelosis en trabajadores de un matadero en distritos sanitarios Aljarafe. Sevilla. *Rev. Española de Salud Pública*. 3(1):45-55.
- Luna-Sánchez, A., A. Rodríguez, T. Suarez-Morano. 1998. Analysis of an epidemic outbreak of brucellosis in slaughterhouse workers. *Rev. Esp. Salud Pública*. 72(2):137-146.
- Montilla, A. 2010. Seroprevalencia de la Brucelosis en el personal de Temblador, municipio Libertador, estado Monagas. Instituto de Altos Estudio Arnaldo Gabaldon. (Trabajo de Grado). 27 p.
- PROINLARA. 2013. Atlas del estado Lara. Disponible en línea: www.laraenred.com/disenio/atlas.asp [Jun. 12, 2012].
- Ruiz, L. 1995. Principales enfermedades zoonóticas en Venezuela. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto, Lara. 218 p.
- Serra, J. y P. Godoy. 2000. Incidencia, etiología y epidemiología de la brucelosis en un área rural de la provincia de Lleida. *Rev. Esp. Salud Pública*. 74(1):45-53.

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 encabezado 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: