



INIA  
Instituto Nacional  
de Investigaciones  
Agrícolas

# Zootecnia Tropical

ISSN: 0798 - 7269

AÑO 26 VOL. 26 No. 1 2008



---

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRICOLAS - VENEZUELA

---

# ZOOTECNIA TROPICAL

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

<http://www.ceniap.gob.ve/pbd/RevistasCientificas/ZootecniaTropical/zooinde.htm>

Portada:

Vaquillonas en el Chaco árido argentino.  
(Cortesía del Dr. Carlos Rosi)

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

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



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS  
ZOOTECNIA TROPICAL

Dr. Yván Gil  
PRESIDENTE

Dra. Jorman Rodríguez  
GERENTE GENERAL

Dr. Luís Dickson  
GERENTE DE INVESTIGACIÓN

Ing. David A. Diaz  
GERENTE DE NEGOCIACIÓN TECNOLÓGICA

**COORDINACIÓN EDITORIAL REVISTA ZOOTECNIA TROPICAL**

Dr. José L. Gil  
EDITOR JEFE

Dr. Néstor E. Obispo  
EDITOR ASISTENTE

Rosa Terán  
SECRETARIA

**EDITORES ASOCIADOS**

Sección Fisiología y Reproducción  
Dra. Thais Díaz (UCV, Fac. Cien. Vet.)

Sección Nutrición  
Dra. Susmira Godoy (INIA)

Sección Piscicultura y Acuicultura  
Dr. José Alió (INIA)

Sección Pastos y Forrajes  
Ing. M.Sc.. Freddy Espinoza (INIA)

Sección Sanidad  
Dr. Nestor E. Obispo (INIA)

Sección Genética  
Dr. Gonzalo Martínez (UCV, Fac. Agron.)

**CONSEJO ASESOR**

Dr. Carlos Lascano (Colombia)

Dr. Rainer Schultze-Kraft (Alemania)

Dra. Alicia Rabasa (Argentina)

Dr. Manuel Fondevilla (España)

Dr. Lee McDowell (EEUU)

Dr. Alcidez De Amorin (Brasil)

Dr. Julio Lee (Cuba)

Dr. Rony Tejos (Venezuela)

Dr. Rodolfo Vaccaro (Venezuela)

Dr. Ricardo Bitter (Venezuela)

Dr. Armando Fuentes (Venezuela)

M Sc. Julio Rodríguez (Venezuela)

Dra. Josefina Combellas (Venezuela)

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

Direcciones electrónicas: [zootrop@inia.gob.ve](mailto:zootrop@inia.gob.ve); [jgil@inia.gob.ve](mailto:jgil@inia.gob.ve); [nobispo@inia.gob.ve](mailto:nobispo@inia.gob.ve)

**VALOR DE LA SUSCRIPCIÓN:**

VENEZUELA (Bs F.)

EXTERIOR (US \$)

Un año: 65,00

One year: 75.00

Ejemplar: 15,00

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

## ZOOTECNIA TROPICAL

ISSN: 0798 -7269 Dep. Legal: pp. 198302AR214

Revista trimestral del Instituto nacional de Investigaciones Agrícolas, Venezuela

Sitio Web: <http://www.ceniap.gob.ve/pbd/RevistasCientificas/ZootecniaTropical/zooindex.htm>

### COMITÉ *Ad hoc*

Los artículos publicados en ZOOTECNIA TROPICAL son sometidos a un proceso de  
**Arbitraje Científico Externo**

### BOARD OF SCIENTIFIC REVIEWERS

Articles published in ZOOTECNIA TROPICAL are submitted to  
**Scientific Reviewers**

**ZOOTECNIA TROPICAL / (FONAIAP) Fondo Nacional de  
Investigaciones Agropecuarias. Vol. 1 N° 1-2. 1983**

Continuación a partir de 1983 de la Serie Zootécnica de  
la revista Agronomía Tropical, Vol. 29 N° 6, 1979

### INDIZACIÓN

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

### SE ACEPTA EL INTERCAMBIO CON OTRAS REVISTAS

**Exchange requested      Wir bitten um austausch      On demande l'échange**

**Gradiremmo cambio**

**Deseamos permuta**

Tiraje: 500 Ejemplares

Esta publicación se imprime en papel libre de ácido, cumpliendo con los requisitos mínimos de la American Standard for Information Sciences – Permanence for paper for printed library materials, ANSI Z39.48 – 1984.

## SUMARIO Vol. 26 No.1

## ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- García-Castillo C. G., Martínez-Tinajero J. J., Montañez-Valdez O. D., Sánchez-Orozco L., Posada-Cruz S., Izaguirre-Flores F. y Martínez-Priego G. Degradación ruminal de la materia seca del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis*) ..... 1
- García D. E., Wencomo H. B., Gonzalez M. E., Medina M. G., Cova L. J. y Spengler I. Evaluación de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* basada en la calidad nutritiva del forraje ..... 9
- De Jesús R. y Quintero Z. Comparación del crecimiento, parámetros reproductivos y de hematología y glicemia en hámsters (*Mesocricetus auratus*) alojados a diferentes niveles de intensidad de luz ..... 19
- Cabrera P, Fernández A., Bastidas P., Perozo E., Molina M, Bethencourt A., Vivas I., Reyes Y. y Díaz T. Efecto de la vitrificación sobre la viabilidad morfológica de embriones murinos (*Mus musculus*)..... 27
- Bravo M. J., Coronado A. y Henríquez H. Eficacia in vitro del amitraz sobre poblaciones de *Boophilus microplus* provenientes de explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela ..... 35
- Bravo M. J., Coronado A. y Henríquez H. Susceptibilidad de larvas y adultos de *Boophilus microplus* al ixodicida coumafos en explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela ..... 41
- Pinilla L. J. C. y Coronado F. J. Prevalencia de *Isospora suis* en lechones criados en granjas de la región centro-occidental de Venezuela ..... 47
- Prieto A., Marcano J., Villegas L. y Lodeiros C. Estructura poblacional de la almeja, *Asaphis deflorata*, en la localidad de Caurantica, golfo de Paria, estado Sucre, Venezuela ..... 55
- González A., Mendoza J., Arocha F. y Márquez A. Selectividad de la red de enmalle en la captura del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* de la cuenca del Orinoco medio ..... 63

## NOTA TÉCNICA

- Hernández A., Molina. M, Morales G., Garmendia J. y Nava Z. Efecto como desparasitante del metronidazol y tinidazol frente a *Trichomonas muris* en hamsters.. 71

## TABLE OF CONTENTS Vol. 26 No. 1

## SCIENTIFIC ARTICLES

- García-Castillo C. G., Martínez-Tinajero J. J., Montañez-Valdez O. D., Sánchez-Orozco L., Posada-Cruz S., Izaguirre-Flores F. and Martínez-Priego G. Ruminal degradation of the dry matter of the cuajilote fruit (*Parmentiera edulis*).....1
- García D. E., Wencomo H. B., Gonzalez M. E., Medina M. G., Cova L. J. and Spengler I. Evaluation of nineteen accessions of *Leucaena leucocephala* based in the nutritive quality of forage .....9
- De Jesús R. and Quintero Z. Comparison of growth, reproductive parameters, and hematology and glicemy on hamsters (*Mesocricetus auratus*) housed at different levels of light intensity ..... 19
- Cabrera P, Fernández A., Bastidas P., Perozo E., Molina M, Bethencourt A., Vivas I., Reyes Y. and Díaz T. Vitrification effect on the morphological viability of murine embryos (*Mus musculus*).....27
- Bravo M. J., Coronado A. and Henríquez H. *In vitro* efficacy of amitraz on *Boophilus microplus* from dairy farms in Lara state, Venezuela.....35
- Bravo M. J., Coronado A. and Henríquez H. Susceptibility to coumaphos on larvae and adult ticks *Boophilus microplus* in dairy farms from Lara state, Venezuela.....41
- Pinilla L. J. C. and Coronado F. J. Prevalence of *Isospora suis* in piglets raised in farms at the center-western region of Venezuela.....47
- Prieto A., Marcano J., Villegas L. and Lodeiros C. Population structure of the clam, *Asaphis deflorata*, in Caurantica, gulf of Paria, Sucre state, Venezuela .....55
- González A., Mendoza J., Arocha F. and Márquez A. Gillnet selectivity in the capture of barred sorubim *Pseudoplatystoma fasciatum* in the middle Orinoco basin .....63

## TECHNICAL NOTE

- Hernández a., de Garmendia M. M, Morales G., Garmendia J. and Nava Z.  
Metronidazole and tinidazole effects on *Trichomonas muris* in hamsters.....71

## Degradación ruminal de la materia seca del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis*)

Carlos G. García-Castillo<sup>1</sup>, Jaime J. Martínez-Tinajero<sup>1\*</sup>, Oziel D. Montañez-Valdez<sup>2</sup>, Luciano Sánchez-Orozco<sup>1</sup>, Saúl Posada-Cruz<sup>1</sup>, Fernando Izaguirre-Flores<sup>1</sup> y Gilberto Martínez-Priego<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cuerpo Académico de Ganadería Tropical Sustentable, Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. Framboyanes No. 34, entre Av. Palmas y Av. Rosas. CP. 30780. Fracc. Laureles I. Tapachula, Chiapas, México. \*Correo electrónico: jaimej@unach.mx

<sup>2</sup>Departamento de Desarrollo Regional, CUSUR, Universidad de Guadalajara. Ciudad Guzmán, Jalisco. Mexico.

<sup>3</sup>Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. Tapachula, Chiapas, México.

---

### RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo estimar la degradabilidad ruminal y cinética degradativa de la materia seca (MS) del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis* DC) en tres estados de madurez colectado durante la época seca en una región de clima cálido húmedo de la costa del estado de Chiapas, México, para analizar su potencial forrajero. La técnica de la bolsa de nylon fue aplicada, con vaquillas permanentemente fistuladas del rumen (usándose como unidades experimentales), que pastorearon zacate estrella de África y una suplementación con 400 g/d de un concentrado (grano de sorgo molido, pasta de soya y minerales). Se incubaron en el rumen 5 g de muestra molida de cuajilote (chilillos, verde y maduro) en bolsas nylon a períodos de 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 y 72 h. Los tratamientos (estados de madurez) se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. Se encontró que la desaparición de la MS (DISMS, %) de los chilillos fue dos veces mayor ( $P<0,001$ ) que la de los verdes, aunque menor que la DISMS del fruto maduro. El tipo de MS fluctuó ( $P<0,001$ ) dependiendo del estado de madurez, mostrando que la MS soluble y MS degradable fueron más elevadas en el fruto maduro, seguido de los chilillos que en los verdes (14,6 y 7,3 vs. 1,5%, así como de 29,3, 25,2 vs. 15,7%, respectivamente). Por otro lado, la MS degradable del fruto maduro se empieza a degradar más pronto (0,0 1,6 y 1,8 h, para los maduros, chilillos y verdes, respectivamente) y a una tasa más rápida que los chilillos o los verdes (0,04 vs. 0,03). La digestibilidad potencial de la MS (DPMS, %) resultó más alta ( $P<0,05$ ) en el fruto maduro (43,9) que en los chilillos (32,0) y los verdes (17,2). La misma tendencia se presentó para la degradabilidad efectiva. Se concluye que la MS del fruto maduro presentó mayor disponibilidad de degradación ruminal que el estado de chilillos o verde, pero la materia seca de este fruto muestra baja disponibilidad ruminal indicando que no es un material forrajero que pueda sustituir a forrajes tropicales.

*Palabras clave:* Fruto cuajilote, bovinos fistulados, rumen, digestibilidad *in situ*, degradabilidad efectiva.

---

### Ruminal degradation of the dry matter of the cuajilote fruit (*Parmentiera edulis*)

#### ABSTRACT

This study had the aim to estimate the ruminal degradability and kinetic degradative of the dry matter (MS) of the cuajilote fruit (*Parmentiera edulis* DC) in three states of maturity collected during the dry season in a humid warm climate region of the coast at Chiapas state, Mexico, to analyze its forage potential. The technique of nylon bag was applied with heifers permanently fissured of rumen (being used like experimental units) that grazed star

of Africa grass and a supplementation with 400 g/d of concentrate (grain of ground sorghum, paste of soya and minerals). They were incubated in rumen, 5 g of ground of cuajilote sample (chilillos, green, and mature) in nylon bags (large: 10 x 5 cm and pore: 52  $\mu$ ) in periods of 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48, and 72 h. The treatments (maturity states) were distributed in a completely random design with four repetitions by treatment. The disappearance of the MS (DISMS, %) of the chilillos was twice greater ( $P < 0.001$ ) than the green, although smaller than the DISMS of the mature fruit. The type of MS fluctuated ( $P < 0.001$ ) depending on the maturity state, showing that degradable MS and soluble MS were more elevated in the mature fruit, followed by the chilillos and the greens (14.6 and 7.3 vs. 1.5%, as well as 29.3, 25.2 vs. 15.7%, respectively). On the other side, the degradable MS of the mature fruit begins to degrade more rapidly (0.0, 1.6, and 1.8 h for mature, chilillos, and greens, respectively) and a faster rate than the chilillos or greens (0.04 vs 0.03). The potential digestibility of the MS (%) was higher ( $P < 0.05$ ) in mature fruit (43.9) than the chilillos (32.0) and the greens (17.2). The same tendency appeared for the effective degradability. It is concluded that the MS of the mature fruit showed more availability of ruminal degradation than the chilillos and the greens, but the dry matter of this fruit showed a low ruminal availability indicating that it is not a material that can replace tropical forages.

*Keywords:* Cuajilote fruit, fistulae bovines, rumen, *in situ* digestibility, effective degradability.

## INTRODUCCIÓN

La productividad animal en la costa del estado de Chiapas, México, región tropical de clima cálido húmedo, esta basada en pastoreo extensivo de Poáceas nativas e introducidas cuya disponibilidad y calidad nutricional depende de la distribución estacional de lluvias (Rojo *et al.*, 2000; Mokoboki *et al.*, 2005). Debido a lo anterior, durante la época de seca (diciembre a mayo) se reducen los niveles de producción de carne y leche (Gómez *et al.*, 2002) lo que obliga a buscar fuentes alternativas de alimentación para rumiantes en pastoreo (Bustamante *et al.*, 2002).

Durante este periodo de sequía, en esta zona geográfica, existe la disponibilidad de frutos de cuajilote (*Parmentiera edulis* DC), los cuales son ávidamente consumidos por bovinos que pastorean libremente (Jiménez, 1989). No obstante, se desconoce cual es el valor nutricional y la disponibilidad ruminal de la materia seca (MS) de este fruto en diferentes estados de madurez, al que también se le atribuyen propiedades medicinales (INEGI, 1992).

De esta manera, determinar el papel que ejerce este fruto en el ambiente y cinética ruminal de los animales que los consumen es importante para realizar suplementación estratégica con el fruto cuajilote (García-Castillo, 1997); Sin embargo, es primordial estimar primero, la disponibilidad ruminal de la MS de este fruto, así como determinar variables de la cinética ruminal como el inicio y velocidad de degradación de la MS degradable. Estos aspectos permitirán inferir cual es la degradabilidad

efectiva de la MS a nivel ruminal (Singh *et al.*, 1989), buscando integrarlo como una fuente de sustitución o complementación alimenticia para animales en pastoreo durante la época de seca en una región de clima cálido húmedo, objeto de estudio del presente trabajo experimental.

## MATERIALES Y METODOS

El experimento se realizó en el Módulo Lechero de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Chiapas, ubicado en el municipio de Huehuetán, Chiapas, México (94° 30' O y 15° 30' N), a 35 msnm, con un clima cálido húmedo, precipitación media anual de 2.200 mm (de junio a noviembre la distribución de lluvias) y 26°C de temperatura promedio. El suelo del área experimental se clasifica como fluvisoles eútricos con textura migajón-arenosa, pH de 6,2 y 2,5% de materia orgánica (García, 1973; Gómez *et al.*, 2002).

El estado de madurez chilillo correspondió al fruto que emerge del tallo de la planta que no sobrepasa los 8 cm de longitud. Como verde se consideró el fruto que ha desarrollado su máximo tamaño que mantiene su color verdoso claro y consistencia dura y como maduro, al fruto con coloración amarillenta de aroma dulce y consistencia suave. Todos estos materiales se colectaron al inicio de la época de seca de, por lo menos, 10 árboles. Los frutos fueron cortados longitudinalmente para ser deshidratados bajo sombra y se hicieron muestras compuestas para determinarles la materia seca parcial. Posteriormente, se deshidrataron en una estufa de aire circulante

(55°C por 12 a 24 h) y luego, se molieron en un molino Willey (criba de 2 mm) para almacenarse en bolsas de plástico, hasta que se les realizó los análisis de su composición química. La MS se determinó mediante secado en una estufa de aire circulante (105°C, durante 12 a 24 h), el contenido de cenizas por ignición (600°C por 5 h), la proteína cruda por el método Kjeldahl (AOAC, 1990) y se aplicó el método no-secuenciado de Goering y Van Soest (1970) para determinar el contenido de fibra detergente neutro (FDN)

Se utilizaron cuatro vaquillas con un peso promedio de 350±13,6 kg y dos años de edad equipadas con un cánula ruminal permanente. Los animales se alimentaron en praderas de pasto estrella de África (*Cynodon plectostachyus*). Además, 400 g de una mezcla a base de sorgo, vitaminas y minerales fue proporcionada por las mañanas como suplemento, así como también recibieron agua limpia y fresca a libre acceso.

La desaparición ruminal de la MS se determinó utilizando la técnica de la bolsa de nylon (Orskov y McDonald, 1979). Cada una de las muestras de los diferentes estados de madurez del cuajilote se incubó en el rumen de cuatro vaquillas durante 0, 4, 8, 12, 24, 36, 48 y 72 h, considerando a un animal como repetición. Se utilizaron bolsas de nylon (18 x 9 cm y tamaño de poro de 53 μ) y en cada una se colocaron 5 g de muestra de cuajilote y se sujetaron mediante hilos de nylon a una porción de cadena (30 cm de longitud, peso 150 g) que quedó suspendida en el rumen. Posteriormente, las bolsas que se sacaron del rumen, junto con la bolsa de la hora cero, se lavaron a chorro circulante a baja presión, hasta que el agua salió igual de cristalina como entró (aproximadamente 15 min). Posteriormente, las bolsas con los residuos se secaron en una estufa de aire circulante (48 h a 60°C). La digestibilidad *in situ* de la MS (DISMS) de cada período de incubación se estimó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Digestibilidad } in \text{ situ } (\%) = \left( \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} \right) \times 100$$

Las características no lineales de degradación ruminal (fracción rápidamente soluble, fracción degradable de materia seca, fracción potencialmente digestible, velocidad e inicio de la degradación de la fracción degradable de la materia seca) y la

degradabilidad efectiva de la MS se calcularon como un proceso interactivo mediante el paquete Neway (McDonald, 1981), que considera la siguiente ecuación:  $P = a + b(1 - e^{-ct})$ , donde P es la velocidad de desaparición en un tiempo t, a es el intercepto que representa la porción de MS solubilizada al inicio de la incubación (bolsa hora cero), b es la porción de MS potencialmente degradable en rumen, c es la velocidad de desaparición de la fracción b y t es el tiempo de incubación. La degradabilidad efectiva se estimó considerando tasas de pasaje ruminal de 2, 5 y 8%/h, las cuales son representativas de consumo bajo, mediano y elevado, respectivamente (ARC, 1984).

La composición química, la desaparición ruminal de MS a diferentes períodos de incubación y las características de degradabilidad ruminal de la MS se analizaron con un diseño completamente al azar, donde los estados de madurez fueron los tratamientos (Steel y Torrie, 1980). Las medias se compararon ( $P < 0,05$ ) con el procedimiento de Tukey (Herrera y Barreras, 2005).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 muestra la composición química del fruto cuajilote colectado en época de seca en una región de clima cálido húmedo ubicada en la costa de Chiapas. Como se puede apreciar, la composición química en este fruto está relacionada al estado de madurez, donde de manera general, la cantidad de proteína se reduce y se incrementa la proporción de pared celular en los frutos chilillos y lo contrario se presenta en los frutos verdes, lo que en conjunto afecta la composición química en el fruto maduro.

La DIMS fue diferente ( $P < 0,001$ ) en cada período de incubación ruminal (Cuadro 2). Se puede apreciar que independientemente del período de incubación, el fruto maduro presentó mayor DISMS que el fruto en estado verde o chilillo. De hecho, desde la hora 12 a la 72 de incubación ruminal, el fruto verde sólo logró aumentar la DISMS en 7 unidades porcentuales, mientras que el fruto maduro logró incrementar en 13 unidades porcentuales. Las diferencias más marcadas entre éstos estados de madurez se presentaron a las 36 y 72 h de incubación ruminal. La DISMS de los frutos es una variable que está determinada por diversos factores como la cantidad y tipo de alimento consumido, el animal fistulado que sirve como modelo animal, los períodos de incubación ruminal,

Cuadro 1. Composición química del fruto cuajilote en diferente estado de madurez

Estados de madurez	Materia seca	Materia orgánica	Ceniza	Proteína cruda	Pared celular
Maduro	14,7a†	91,2a	6,2a	2,8b	82,5b
Verde	14,4a	89,1b	4,6c	3,3a	81,2b
Chilillo	13,1b	92,6a	5,3b	2,9b	84,5a
CV	0,9	12,6	3,5	5,4	6,2

† Medias con distintas letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0,0001)

Cuadro 2. Desaparición *in situ* de la materia seca del fruto cuajilote en tres estados de madurez a diferentes periodos de incubación ruminal.

Estado de madurez	Periodo de incubación ruminal						
	4	8	12	24	36	48	72
	----- h -----						
Maduro	21,8a†	24,9a	27,6a	33,3a	36,8a	39,0a	41,3a
Verde	2,4c	3,9c	5,3c	8,6c	10,9c	12,7b	14,8c
Chilillo	4,5b	7,2b	9,7b	15,7b	20,1b	23,3b	27,4b
CV	3,3	4,3	4,6	3,8	2,6	1,6	1,5

† Medias con distintas letras en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0,0001).

las características de la bolsa de nylon utilizada y las características físico-químicas del fruto evaluado (Van Soest, 1982). En comparación a otros forrajes como pastos introducidos en la región tropical, la MS del fruto cuajilote es de reducida disponibilidad a nivel ruminal (Reyes, 2003; Ramírez, 2004).

En el Cuadro 3 se muestran los tipos de materia seca que presentan los estados de madurez de este fruto tropical obtenido mediante el análisis iterativo del paquete Neway (McDonald, 1981). La MS soluble fue diferente (P<0,05) entre los estados de madurez. El fruto maduro (17,8) e inclusive el fruto chilillo (2,7) presentaron mayor cantidad de este tipo de MS que el fruto verde con 1,5. Esta variable corresponde a la MS perdida o solubilizada durante el lavado y esta compuesta por compuestos nitrogenados (aminas, amidas y bases nitrogenadas) y por componentes de la pared celular como la pectina (Van Soest, 1982). La MS soluble es importante a nivel ruminal ya que

representa el primer aporte de nitrógeno y energía para asegurar el inicio de la actividad degradativa por parte de los microorganismos ruminales.

La proporción de MS degradable (29,3) en el fruto maduro fue casi el doble que la encontrada en los frutos verdes (15,7), aunque está por debajo de lo reportado en forrajeras tropicales colectadas en la misma región, como el insurgente con 33,6% (Reyes, 2003) ó el pasto estrella de África con 40,5% (Rodríguez, 2003). En relación a las hojas de árboles multipropósito, la cantidad de MS que puede degradarse de este fruto es considerablemente inferior, en comparación con plantas como la *Leucaena leucocephala* que mostró un 65% de MS degradable (García-Castillo, 1997). La MS indegradable corresponde a la cantidad de materia seca que no se degrada aunque transcurra más 72 horas en el rumen. Se encontraron diferencias (P<0,05) entre estados de madurez, pero las altas proporciones de este tipo de MS indican baja calidad

ya que afecta la digestibilidad ruminal de la MS (García-Castillo, 1995).

La velocidad y el tiempo de inicio de la degradación de la materia seca degradable contenida en los estados de madurez del fruto cuajilote se muestra en el Cuadro 4. El valor de cero indica que la MS degradable del fruto maduro se empieza a degradar inmediatamente al llegar al rumen (Sinh *et al.*, 1989) y que el fruto chilillo y el fruto verde necesitan que transcurran una hora y media para que se inicie la degradación por parte de los microorganismos ruminales. Este resultado podría indicar que las características de la composición química de los estados de madurez del cuajilote (Cuadro 1) afectan la tasa de hidratación o el grado de las interacciones físico-químicas entre las bacterias ruminales y la estructura física del fruto (Sing *et al.*, 1989).

Por otra parte, la velocidad (%/h) a la que se degrada la MS degradable es diferente ( $P < 0,001$ ); los frutos chilillo y verde mostraron sólo diferencia numérica en la velocidad de degradación, pero tienen una velocidad de digestión más lenta que el fruto

maduro. La tasa de digestión de la MS degradable de este fruto tropical es mucho más lenta que la de forrajes de alta calidad como el heno de alfalfa (20 %/h) o del 10 %/h en las hojas del guaje, *Leucaena leucocephala* (García-Castillo, 1997).

La degradabilidad potencial y efectiva de la MS del fruto cuajilote en tres estados de madurez se presentan en el Cuadro 5. La MS potencialmente digestible (MSPD) se refiere a la máxima cantidad de MS que esta disponible para la digestión ruminal y representa la suma de la MS soluble más la MS degradable. Se encontró que esta variable es diferente ( $P < 0,001$ ) entre los estados de madurez. Se aprecia que el fruto maduro muestra la cantidad más alta de MSPD (42,9%), mientras que la menor cantidad se presenta en el fruto verde (17,2%) e intermedia en el fruto chilillo (32,0%). Este fruto mostró valores bajos de MSPD comparado a otros forrajes como el pasto bermuda (Ramírez, 2004). La importancia de esta variable radica en su alta relación ( $r^2 = 0,99$ ;  $P < 0,01$ ) con la degradabilidad efectiva de la MS.

Cuadro 3. Tipos de materia seca contenida en el fruto cuajilote.

Estado de madurez	Proporción de la materia seca		
	Soluble	Degradable	Indegradable
	----- % -----		
Maduro	14,6a †	29,3a	56,1c
Verde	1,5c	15,7c	82,8a
Chilillo	7,3b	25,2b	67,5b
CV	5,6	4,8	1,4

†Medias con letras distintas en la misma columna diferentes ( $P < 0,0001$ ).

Cuadro 4. Inicio y velocidad de degradación de la materia seca degradable contenida en el fruto cuajilote.

Estado de madurez	Inicio de la degradación	Velocidad de degradación
	h	%/h
Maduro	0,0b †	0,04a
Verde	1,8a	0,03b
Chilillo	1,6a	0,03b
CV	4,8	17,0

†Medias con letras distintas en la misma columna diferentes ( $P < 0,0001$ ).

Cuadro 5. Digestibilidad potencial y degradabilidad efectiva de la materia seca del fruto cuajilote.

Estado de madurez	Digestibilidad potencial	Degradabilidad efectiva‡		
		2	5	8
	%	----- %/h -----		
Maduro	42,9a†	34,5a	29,1a	26,4a
Verde	17,2c	10,2c	6,5c	4,9c
Chilillo	32,0b	18,8b	12,0b	9,1b
CV	3,1	1,5	2,8	3,2

†Medias con letras distintas en la misma columna diferentes ( $P < 0,0001$ ).

‡Tasa de pasaje ruminal. 2, 5 y 8 son representativas de consumo bajo, mediano y elevado, respectivamente (ARC, 1984).

Se puede apreciar (Cuadro 5) que la DEMS del fruto maduro es mayor ( $P < 0,001$ ) que la de los frutos verdes y chilillo. La degradabilidad efectiva de la MS es una variable ajustada que indica cual es la degradación real de la MS cuando se considera otros aspectos como inicio y velocidad de degradación de la MS, digestibilidad potencial y principalmente, la tasa de pasaje ruminal de sólidos (Singh *et al.*, 1989).

Con relación a otras gramíneas, la DEMS encontrada en este fruto es menor a la de pastos tropicales como el estrella de África (Rodríguez, 2003), el insurgente (Reyes, 2003) y el bermuda (Ramírez, 2004). Con relación a leguminosas como el heno de alfalfa (García-Castillo, 1997) y de arbustos como el palo verde (Neira, 1994), la cantidad de MS que efectivamente se degradada es aún menor.

Así, las características propias de este fruto (composición química, inicio y velocidad de degradación, digestibilidad potencial, entre otras) tienen un efecto marcado en la cantidad de MS que puede estar disponible para el rumiante que se alimente de este fruto, encontrándose de manera general que la materia seca de este fruto muestra menor disponibilidad ruminal comparada a otros forrajes tropicales, siendo difícil explicar la elevada avidez de consumo que presenta el ganado que pastorea libremente.

### CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en las que se desarrolló este experimento se concluye lo siguiente:

A nivel ruminal, la MS degradable del fruto maduro es mayor que la del fruto verde o en chilillos, la cual se empieza a degradar mas pronto y a una velocidad de degradación mayor. No obstante, la elevada proporción de MS indegradable en este fruto indica que es de baja calidad nutricional.

La digestibilidad potencial de MS de este fruto es 20% más elevada en el fruto maduro que en el fruto verde, pero en ambos estados de madurez la degradabilidad efectiva es aproximadamente el 30% de la digestibilidad potencial.

De manera general, los resultados encontrados indican que la disponibilidad ruminal de la MS de este fruto es baja y no resulta una fuente de sustitución para otros forrajes tropicales como los zacates.

### LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of official Analytical Chemist. 15<sup>ta</sup> ed. Washington, DC. EEUU.
- ARC. 1984. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Agricultural Research Council. Suppl. No. 1. Commonw. Agric. Bur. Roy, Inglaterra.
- Bustamante G.J.J., A.J.F. Villanueva, C.J.A. Bonilla y C.J.V. Rubio. 2002. Utilización del heno de clitoria (*Clitoria ternatea* L.) en la alimentación de vacas Suizo pardo en lactación. Tec. Pecu. Méx., 42(3): 477-487.

- García E. 1973. Modificaciones del sistema de clasificación de Koopen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). UNAM. México.
- García-Castillo C.G. 1995. Composición química, perfil mineral, concentración de ácidos grasos volátiles y degradabilidad ruminal de la materia seca y de la proteína cruda del forraje de 9 zacates del estado de Nuevo León, colectados durante el invierno. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. Monterrey, N.L. México.
- García-Castillo C.G. 1997. Características ruminales, balance de nitrógeno y digestibilidad *in vivo* de borregos suplementados con hojas de arbustos nativos del noreste de México. Reporte de Investigación. 2ª Residencia Anual de la Investigación Científica. Academia de la Investigación Científica, A.C. y CONACyT. Monterrey, N.L. México.
- García-Martínez P.M. 1995. Valor nutritivo y digestibilidad *in situ* de la materia seca y proteína cruda del forraje de 13 hierbas nativas de Nuevo León, colectadas en otoño. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. Monterrey, N.L.
- Goering H.K. y P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agriculture Research Service, USDA, Agricultural Handbook No. 2, Washington, D.C.
- Gómez C.H., M.A. Tewolde y J.T. Nahed. 2002. Análisis de los sistemas ganaderos de doble propósito en el centro de Chiapas, México. Arch. Latinoam. Prod. Anim., 10(3): 175-183.
- Herrera H.J.G. y S.A. Barreras. 2005. Manual de procedimientos Análisis estadístico de experimentos pecuarios (Utilizando el programa SAS). 2ª ed, Colegio de Postgraduados. Edición Martínez S.J.A. México, D.F.
- INEGI. 1992. El sector alimentario en México. Mexico, D.F.
- Jiménez M.A. 1989. La producción de forrajes en México. Auch-Fira/Banco de México.
- Martínez R.J.M. y D.J.R. González. 1992. Agrupación de 14 colectas de *Macroptilium atropurpureum* por características de vaina. Memoria. Resúmenes 14 Congreso Nacional de Fitogenética. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México.
- McDonald I. 1981. A revised model for estimation of protein degradability in the rumen. J. Agric. Sci., 96: 251-252.
- Mokoboki H.K., L.R. Ndlovu, J.W. Ng'ambi, M.M. Malatje y R.G. Nikolova. 2005. Nutritive value of Acacia tree foliages growing in the Limpopo province of South Africa. South Afr. J. Anim. Sci., 35(4): 221-228.
- Neira R.R. 1994. Composición química y digestibilidad *in situ* de la proteína de 15 arbustos nativos del Noreste de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. México.
- Orskov E.R. e I. McDonald. 1989. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci., 92: 499-503.
- Ramírez M.G. 2004. Proporción de materia seca degradable en rumen del zacate Bermuda (*Cynodon dactylon*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma de Chiapas. Huehuetán, Chiapas, México.
- Reyes M.R. 2003. Degradación ruminal de la materia seca del zacate Insurgente (*Brachiaria brizantha*) colectado en época de lluvias en una región cálida húmeda. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chiapas. Huehuetán, Chiapas, México.
- Rodríguez T.J.A. 2003. Proporción de materia seca degradable y velocidad de degradación en rumen del zacate Estrella de África (*Cynodon plactostachyus*). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chiapas. Huehuetán, Chiapas, México.
- Rojo R.R., M.G.D. Mendoza, B.C.M. García, G.J.R. Bárcena e I.E.M. Aranda. 2000. Consumo y digestibilidad de pastos tropicales en toretes con

- suplementación nitrogenada y *Saccharomyces cerevisiae*. Rev. Fac. Agron. LUZ, 17: 358-370.
- Singh B.H., P.S. Makkar y S.S. Negi. 1989. Rate and extend of digestion and potentially digestible dry matter and cell wall of various trees leaves. J. Dairy Sci., 72: 3233-3239.
- Steel R.G.D y J.C. Torrie .1980. Principles and Procedures of Statistics. 2<sup>da</sup> ed. McGraw-Hill, New York, NY.
- Torres N.J.A., L.R.G. Ramírez y J. Zarate. 1993. Perfil nutricional y digestibilidad *in situ* del forraje de arbustos nativos del noreste de México. Memorias II Seminario Centroamericano y del Caribe sobre agroforesteria con rumiantes menores. San José, Costa Rica.
- Vant Soest P.J. 1982. Nutritional Ecology of the Ruminant. O & B Books, Corvallis, OR.

## **Evaluación de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* basada en la calidad nutritiva del forraje**

Danny E. García<sup>1,6\*</sup>, Hilda B. Wencomo<sup>2</sup>, Miriam E. Gonzalez<sup>3</sup>, María G. Medina<sup>4</sup>,  
Luis J. Cova<sup>3</sup> e Iraida Spengler<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Fundación para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología del estado Trujillo, Trujillo, estado Trujillo, Venezuela. \*Correo electrónico: dagamar8@hotmail.com

<sup>2</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba

<sup>3</sup> Universidad de los Andes, Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Trujillo, estado Trujillo, Venezuela.

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Estación Experimental de Pampanito, Pampanito, estado Trujillo, Venezuela.

<sup>5</sup> Universidad de la Habana, Facultad de Química, La Habana, Cuba

<sup>6</sup> Nueva dirección: Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Estación Experimental de Pampanito, Pampanito, estado Trujillo, Venezuela.

---

### **RESUMEN**

Se llevó a cabo un experimento para evaluar, mediante el análisis de componentes principales (ACP) y de clasificación automática (ACA), las variaciones de la composición química e indicadores de valor nutritivo en el follaje de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* Lam. de Wit establecidas en Matanzas, Cuba. Se determinó la composición bromatológica, los niveles de metabolitos secundarios y la degradabilidad ruminal *in situ* de la MS, PC y FDN. Mediante el ACP se detectó una variabilidad discreta para los primeros tres componentes (48,87%). Los indicadores que explicaron mejor las variaciones entre las accesiones fueron los niveles de MS, PC, PV, FDN, FDA, FC, LDA, celulosa, Ca, cenizas, taninos condensados (TC) y degradabilidad de la MS. Sin embargo, la concentración de P, K, polifenoles totales, taninos precipitantes, fitatos, mimosina y la degradabilidad ruminal de la PC y FDN no constituyeron variables fidedignas para comparar las accesiones evaluadas en las condiciones experimentales. Mediante el ACA se identificaron cinco grupos con características distintivas entre sí. Aunque todas las accesiones presentaron buena composición química y valor nutritivo las accesiones de mejores resultados fueron CIAT-9438, CIAT-8069, CIAT-7985, CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929 y CIAT-937. Solamente los TC constituyen metabolitos secundarios con importancia comparativa.

*Palabras clave:* *Leucaena leucocephala*, forraje, composición química, valor nutritivo, metabolitos secundarios, taninos.

---

### **Evaluation of nineteen accessions of *Leucaena leucocephala* based in the nutritive quality of forage**

#### **ABSTRACT**

An experiment was carried out in order to evaluate, using the main components (ACP) and automatic classification analysis (ACA), the chemical composition and nutritional value variations of nineteen accessions of *Leucaena leucocephala* Lam. de Wit foliage in Matanzas, Cuba. Bromatological composition, secondary metabolites level and *in situ* ruminal degradability (DM, CP and NDF) were determined. A discreet variability for the first three components (48,87 %) were detected. The DM, CP, TP, NDF, ADF, CF, ADL, cellulose, Ca, ashes and condensed tannins (CT) levels and DM ruminal degradability explained the variability among the evaluate accessions. However, under experimental conditions the P, K, total polyphenols, precipitant tannins, phytates and mimosine

concentration, and CP and NDF ruminal degradability constitute marginal variables to compare the accessions. Using the ACA in dependence of the nutritional profile five groups with distinctive characteristic to each other were identified. The studied accessions differ fundamentally for their proximal composition and the CIAT-9438, CIAT-8069, CIAT-7985, CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929 y CIAT-937 accessions showed the best results. Only the CT constitutes the group of secondary metabolites with comparative importance.

*Key words:* *Leucaena leucocephala*, forage, chemical composition, nutritive value, secondary metabolites tannins, taninos

## INTRODUCCIÓN

*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit constituye la leguminosa de mejores resultados como arborea de pastoreo-ramoneo en el trópico Latinoamericano, y en numerosas investigaciones se ha demostrado que constituye una forrajera excelente para mejorar la alimentación animal en bancos de proteína, sistemas asociados con gramíneas e intercalada con cultivos temporales (Clavero, 1998). Asimismo, su biomasa ha sido ampliamente utilizada como fuente suplementaria en pequeños y grandes rumiantes, y también en animales monogástricos por presentar aceptable composición química en términos de proteína y minerales (Simón, 1998). En la segunda mitad del siglo XX se han llevado a cabo investigaciones, en todos los campos de las ciencias agrícolas, para caracterizarla en diversas condiciones edafoclimáticas (Clavero, 1998).

En la actualidad se comercializan algunos cultivares de la especie tales como el Cunningham, CNIA-250 y Perú, los cuales han demostrado marcada superioridad en los sistemas silvopastoriles. No obstante, también se han producido y seleccionado muchas accesiones, ecotipos e híbridos con amplio margen de adaptación y buena producción de biomasa, de los cuales algunos no han sido evaluados agronómicamente (Machado, 2006).

En Venezuela se han desarrollado varias investigaciones para determinar, dentro de una gran cantidad de accesiones introducidas, cuales presentan mejor valor nutritivo (Razz *et al.*, 1992, Fariás, 1996), número de nódulos activos (Razz *et al.*, 1995), adaptabilidad, selectividad por animales y resistencia al insecto psílido (Dávila y Urbano, 1996; Espinoza *et al.*, 2003) y comportamiento durante la fase de establecimiento (Guevara y Guenni, 2004). Sin embargo, los trabajos encaminados a caracterizar la composición química y las potencialidades

nutricionales de estas accesiones han sido puntuales y no se han podido establecer criterios integrales para caracterizarlas. Investigaciones llevadas a cabo en especies de leucaena se ha informado que tres años de evaluación resulta el tiempo mínimo necesario para establecer criterios sólidos sobre las principales características química y de valor nutritivo en el género, dado la elevada variabilidad inter e intra específica que existe (Stewart y Dunsdon, 1998).

Por otra parte, según Hidalgo (2003) los métodos multivariados constituyen herramientas importantes para evaluar colecciones de especies vegetales, taxonómicamente relacionadas entre sí con potencial agropecuario, los cuales aportan informaciones medulares para dilucidar las características de poblaciones completas o las particularidades de individuos aislados; prescindiendo de los métodos estadísticos tradicionales los cuales resultan engorrosos cuando se utilizan en las evaluaciones muchos casos y variables (Olivera y Machado, 2004; Machado, 2006).

Considerando lo anteriormente planteado, el objetivo de esta investigación fue clasificar diecinueve accesiones de *L. leucocephala*, basado en las variaciones de la composición química y algunos indicadores de valor nutritivo del follaje, utilizando el análisis de componente principales (ACP) y de clasificación automática (ACA).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", perteneciente al municipio de Perico, provincia de Matanzas, Cuba, ubicada geográficamente a los 20° 50' N y 79° 32' O, con una altitud de 19,9 msnm.

En el área experimental, el clima se caracteriza por presentar dos períodos anuales bien definidos; uno lluvioso (mayo-octubre) y otro poco

lluvioso de noviembre a abril para una precipitación promedio anual de 1.200 mm. La temperatura media es de 23,1°C, con una humedad relativa entre 60 y 70% durante el día y de 80-90% en la noche. En el Cuadro 1 se muestran algunos de los indicadores climatológicos más importantes durante el periodo experimental.

El experimento se llevó a cabo sobre un suelo de topografía plana y clasificado como ferralítico rojo lixiviado (tipo Húmico Nodular Ferruginoso Hidratado) de rápida desecación, arcilloso y profundo (Hernández, 1999). La fertilidad natural del suelo en el cual se sembraron las accesiones evaluadas se considera buena, el pH es ligeramente ácido a neutro (6,4 a 7,0), con contenido de bajo a moderado de materia orgánica (1,65 a 2,76%) y de mediana a alta concentración de nitrógeno total (Hernández, 1999).

Las accesiones de *L. leucocephala* fueron sembradas en julio de 1996, ocupando un área experimental de 0,75 ha. Se sembraron a una distancia de 6 x 3 m entre surcos y entre plantas respectivamente, en cinco parcelas simples distribuidas al azar con cuatro plantas de cada accesión por parcela. Después del año de establecimiento, a la plantación se le realizó un corte de homogenización a 1,5 m de altura, para posteriormente someterla a un régimen de cortes continuos cada 90 días a la misma altura. En el área no se realizaron aplicaciones de riego, fertilizantes ni de herbicidas.

Se evaluaron diecinueve accesiones de *L. leucocephala* pertenecientes al banco de germoplasma de la Estación. Estas accesiones fueron: CIAT-751, CIAT-871, CIAT-932, CIAT-937, CIAT-7384, CIAT-7884, CIAT-7929, CIAT-7985, CIAT-7988, CIAT-

8069, CIAT-8815, CIAT-9119, CIAT-9383, CIAT-9411, CIAT-9438, CIAT-9441, CIAT- 9442, CIAT-9993 y CIAT-17480.

Se evaluó la calidad de la biomasa por un periodo de tres años consecutivos (2000-2003), en los dos periodos representativos de Cuba. Los muestreos se realizaron en enero y julio para el periodo poco lluvioso y lluvioso, respectivamente. Las muestras de biomasa comestible de 90 días de edad (800 g de hojas y tallos tiernos con diámetros inferiores a 5 mm) fueron recolectadas seis veces durante el periodo evaluado. El material vegetal de cada planta se procesó de forma independiente, cada muestra de follaje constituyó una réplica. Para evitar la variabilidad, inducida por la metodología de colecta, siempre se tomó material vegetal de la región media, apical y basal de los árboles evitando los rebrotes más jóvenes, según lo recomendado por Stewart y Dunsdon (1998). Cada lote de biomasa se llevó de forma inmediata al laboratorio y fueron secados por cinco días a temperatura ambiente en ausencia de luz. Posteriormente se molieron hasta un tamaño de partícula de 1 mm y se colocaron en frascos ámbar de vidrio hermético hasta el momento del análisis (tiempo máximo de almacenamiento 25 días).

La determinación de todas las variables se realizó por triplicado, los contenidos de materia seca (MS), proteína cruda (PC), proteína verdadera (PV), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), fibra cruda (FC), lignina detergente ácido (LDA), celulosa, calcio (Ca), fósforo (P), potasio (K) y cenizas se determinaron mediante las metodologías clásicas de análisis propuestas por la AOAC (1990).

Cuadro 1. Condiciones climatológicas prevalecientes durante el período experimental†.

Indicador	Año		
	2000	2001	2002
Precipitación acumulada (mm)	1.054,50	1.664,50	1.293,20
Temperatura media (°C)	23,67	23,60	21,60
Humedad relativa (%)	81,60	81,40	81,18
Evaporación (mm)	5,30	5,07	5,09

† Datos obtenidos de la Estación Meteorológica "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.

La cuantificación de los polifenoles totales (FT) se llevó a cabo mediante la reducción del ácido fosfomolibdico en presencia de carbonato de calcio y formación de compuestos coloreados con absorción intensa entre los 600 y 780 nm (Makkar, 2003), los taninos precipitantes (TPP) con el uso de proteína estandarizada (Makkar *et al.*, 1988) y los taninos condensados (TC) basado en el ensayo del nbutanol en medio clorhídrico (Porter *et al.*, 1986). Para la extracción y determinación del fósforo fítico (P fítico) se empleó el protocolo con hierro mediante modificaciones realizadas al método original propuesto por Early y Turk (1944). Los contenidos de mimosina se cuantificaron en el material fresco según la técnica tradicional propuesta por Matsumoto y Sherman (1951) con lectura en el espectro ultravioleta.

En la estimación de la degradabilidad *in situ* se empleó el tiempo de incubación de 48 h, evaluando cinco muestras por accesión. El experimento se llevó a cabo en periodos continuos de 15 días (siete de adaptación al consumo de cada accesión y ocho de mediciones). Las pruebas se realizaron en el siguiente orden: CIAT-7384, CIAT-7884, CIAT-7929, CIAT-7985, CIAT-9441, CIAT-17480, CIAT-7988, CIAT-8069, CIAT-8815, CIAT-9442, CIAT-9993, CIAT-9411, CIAT-751, CIAT-871, CIAT-9119, CIAT-9383, CIAT-932, CIAT-937 y CIAT-9438. La degradabilidad de cada indicador se estimó mediante el procedimiento de las bolsas de nylon en rumen (Mehrez y Ørskov, 1977), empleando dos bolsas (50  $\mu$ ) por cada muestra y tres repeticiones, para un total de treinta incubaciones por accesión.

Aproximadamente 2,8 g de biomasa comestible fueron incubados en el rumen de tres ovinos Criollos (39,2  $\pm$  4,23 kg de peso vivo) con cánula permanente los cuales, antes de la incubación de cada tratamiento, fueron adaptados a consumir el forraje de las arbóreas por una semana, como suplemento de una dieta basal formada por heno *ad libitum* (*Cynodon nlemfluensis*), concentrado comercial (170 g/anim/d) y agua a voluntad. El consumo promedio de cada accesión durante el periodo de adaptación a la dieta fue de: 124, 112, 165, 178, 94, 148, 170, 104, 195, 98, 193, 102, 162, 172, 184, 183, 148, 155, 182 g MS/anim/d con relación al orden de las accesiones ensayadas en la prueba con animales.

Se empleó un diseño totalmente aleatorizado con cinco réplicas, donde las accesiones evaluadas

constituyeron los tratamientos. Para el procesamiento de la información se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 10.0 para Windows® (Visauta, 1998). Para llevar a cabo el ACP se utilizó la opción "Data Reduction" para la obtención de las relaciones entre las variables (Philippeau, 1986). La agrupación de las accesiones, en dependencia de sus características, se realizó usando el ACA, a partir de la distancia euclidiana como criterio cuantitativo mediante el método de Ward.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Relación entre las variables nutricionales

En el Cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en el ACP para las variables cuantificadas. La varianza total extraída mediante el análisis fue discreta (48,9%) si se compara con la elevada variabilidad como resultado del ACP informada por García *et al.* (2006a,b), Gómez *et al.* (2006) y Machado (2006) en investigaciones donde se evaluaron las características nutricionales de variedades de morera (*Morus alba*), especies del género *Albizia* e indicadores morfoestructurales de leguminosas y gramíneas, respectivamente. En dichos estudios, las notables diferencias entre las accesiones, trajo consigo un elevado rango de variación expresado en la varianza total de los componentes formados, debido a que se estudiaron accesiones con características genotípicas y fenotípicas diferenciadas. Al respecto, Hidalgo (2003) informó la factibilidad de utilizar el porcentaje de varianza extraída, como indicador estadístico importante, para dilucidar con precisión cuales de las variables medidas resultan ser las más importantes para caracterizar especies o variedades en ensayos con recursos fitogenéticos.

En esta investigación donde se estudiaron solamente accesiones de *L. leucocephala* CIAT, quizás la poca varianza acumulada extraída en los tres primeros componentes, comparado con resultados de otras investigaciones, sugiere características genotípicas similares entre las accesiones, expresadas en las variables químicas más representativas del metabolismo de la especie.

El primer componente (CP 1) extrajo el 22,3% de la variabilidad total y las variables que explicaron mejor la varianza fueron la fracción nitrogenada (PC, PV), la fibrosa (FDN, FDA, FC, LDA, celulosa) y los contenidos de Ca y cenizas. Este resultado

Cuadro 2. Resultados del ACP y relación entre variables nutricionales en diecinueve accesiones de *L. leucocephala*.

Variables	Componente Principal		
	1	2	3
Materia seca	0,12	0,21	0,97
Proteína cruda	-0,94	0,33	-0,02
Proteína verdadera	-0,93	0,34	-0,01
Fibra detergente neutro	0,57	0,76	-0,09
Fibra detergente ácido	0,63	0,66	-0,18
Fibra cruda	0,67	0,68	-0,13
Lignina detergente ácido	0,63	0,66	-0,18
Celulosa	0,57	0,76	-0,09
Calcio	0,46	-0,27	-0,03
Fósforo	0,16	-0,21	-0,04
Potasio	-0,30	0,35	-0,13
Cenizas	0,53	0,18	0,16
Polifenoles totales	0,14	-0,33	0,35
Taninos precipitantes	0,21	0,25	-0,02
Taninos condensados	0,24	-0,30	0,58
Fósforo fítico	0,07	-0,27	-0,06
Mimosina	-0,11	-0,01	0,17
DMS†	0,16	-0,44	0,19
DPC‡	-0,01	0,19	0,09
DFDN§	-0,10	-0,27	0,15
Valor propio ( $\lambda$ )	4,45	3,68	1,64
Varianza (%)	22,25	18,41	8,21
Varianza acumulada (%)	22,25	40,66	48,87

† DMS: degradabilidad de la materia seca a las 48 h

‡ DPC: degradabilidad de la proteína cruda a las 48 h

§ DFDN: degradabilidad de la fibra detergente neutro a las 48 h

enfatisa la mayor importancia de estas variables como indicadores bromatológicos comparativos entre las accesiones. Asimismo, ninguno de los metabolitos secundarios más representativos en el género *Leucaena*, se encontró relacionado en la CP 1. Aspecto que pone de manifiesto la poca relevancia de estos compuestos, en la caracterización fitoquímica de las accesiones de *L. leucocephala* CIAT evaluadas en las condiciones edafoclimáticas descritas en esta investigación.

Con respecto a la interrelación entre las variables, la fracción nitrogenada y la fibrosa se relacionaron negativamente; cuestión de gran significación nutricional, ya que los follajes más proteicos, en

sentido general, presentaron menor cantidad de pared celular. Dichos resultados describen la factibilidad de usar estos forrajes en la alimentación no solo de rumiantes, sino también de algunos monogástricos que requieren elevados niveles de proteínas y baja proporción de fibra en la ración (García *et al.*, 2005).

Desde el punto de vista biosintético la relación fuertemente inversa entre los coeficientes que caracterizaron los contenidos de proteínas y la fracción fibrosa, pudiera describir el antagonismo clásico que existe en la formación de proteína foliar y los compuestos mayoritarios de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina), aspecto que también ha sido

descrito en el follaje de otras especies en el proceso de envejecimiento de la biomasa (Pineda, 2004).

Los niveles de Ca y cenizas se relacionaron de forma positiva entre sí. Este resultado enfatiza que en las accesiones evaluadas este macroelemento es mayoritario y forma parte considerable del total de minerales presentes, aún cuando en otras especies y variedades de leucaena de uso intensivo para la alimentación animal los niveles de Ca son superiores a los cuantificados en estas accesiones.

La débil relación de los niveles de P, Ca y K con el contenido de P fítico en los componentes formados no refleja la correspondencia existente entre la cantidad de P total y P fítico informado en numerosos ingredientes (cereales y oleaginosas) empleados para la alimentación animal (Godoy *et al.*, 2005). Esto puede deberse a que las moléculas exacíclicas de fitatos presentes en las accesiones se encuentran en proporciones muy bajas, en comparación con los niveles de fitatos encontrados en las semillas de gramíneas y leguminosas y que tengan estructuras heterogéneas donde no se cumple la relación estequiométrica (6 átomos de carbono/6 átomos de P). De igual manera, se encuentran en forma acídica sin enlazar proporciones considerables de cationes o están ligados directamente a las proteínas, aminoácidos o carbohidratos (Garrett *et al.*, 2004; Godoy y Chicco, 2005).

El segundo componente (CP 2) extrajo el 18,4% de la varianza total y las variables con mayor relación en este eje fueron los compuestos de la pared celular y la degradabilidad *in situ* de la MS. Dichos resultados enfatizan que la estratificación de las accesiones, en cuanto a las diferencias nutritivas mayoritarias descritas en el CP 2, se basa en los contenidos de carbohidratos insolubles, la lignina y la degradabilidad de las MS, como indicador de valor nutritivo representativo.

La fracción fibrosa se relacionó de forma inversa con la degradabilidad de la MS. Es ampliamente conocida la incidencia negativa de los compuestos de la pared celular, fundamentalmente los polifenoles derivados de la lignina, en la degradación de los forrajes. Al respecto, Razz *et al.* (2004), comparando la degradación de la MS de *L. leucocephala* y *Panicum maximum* y García *et al.* (2006a,b), estudiando la biomasa de algunas especies representativas de los géneros *Albizia*, *Cassia* y *Pithecellobium*, informaron

una mayor degradabilidad inicial y efectiva de los forrajes con menores proporciones de compuestos lignocelulósicos.

El tercer componente (CP 3) explicó el 8,2% de la variabilidad y en su formación contribuyó solamente el contenido de MS y los niveles de TC, relacionados positivamente entre sí. Estos resultados demuestran que las accesiones más succulentas presentaron menores concentraciones de TC, aspecto beneficioso desde el enfoque nutricional (Makkar, 2003). Al respecto, Espinoza *et al.* (2003) al evaluar puntualmente la concentración de TC en cinco ecotipos de leucaena, incluyendo la CIAT-9438 estudiada en esta investigación, encontraron diferencias significativas a favor de ésta y la CIAT-17467 respecto al resto (CIAT-7984, CIAT-9443, CIAT-17492). Esta cuantificación presentó un rango de variación apreciable, además que en dicho estudio se empleó un método de cuantificación para TC ampliamente criticado en la literatura (Vainillina/HCl) que ocasiona, en muchos casos, interpretaciones nutricionales erróneas cuando los forrajes contienen metadifenoles (flavonoides) no asociados a taninos (Price *et al.*, 1978; Makkar, 2003; García y Medina, 2005). No obstante, los resultados obtenidos en ambos estudios describen que el nivel de TC constituye la variable antinutricional más fehaciente para comparar las accesiones evaluadas de la línea CIAT.

Adicionalmente, Farías (1996) al determinar el contenido de mimosina en diez accesiones de leucaena, incluyendo la CIAT-7985 objeto de este estudio, informó una baja variabilidad en las concentraciones inter-accesiones, aspecto corroborado en esta investigación; considerando que la concentración de mimosina no se encontró relacionada en ninguno de los ejes que agruparon la mayor variación.

Desde el punto de vista integral, en ninguno de los tres componentes formados se observó un nexo fuerte de los compuestos polifenólicos (FT, TPP, TC), los fitatos y la mimosina con la degradabilidad *in situ* de la MS, PC y FDN. Esto demuestra que la poca variabilidad entre los niveles de metabolitos secundarios presentes en las accesiones y las concentraciones relativamente bajas, no ocasionaron variaciones sustanciales en la degradación de las fracciones nutritivas (MS, PC, FDN) y que ninguno de estas variables diferencian las accesiones cuantitativamente.

Aunque los TC se encontraron relacionados en el CP 3, como único factor de variabilidad del metabolismo secundario entre las accesiones, en algunos estudios realizados con especies forrajeras se ha demostrado que cuando los TC presentan poca capacidad para precipitar proteínas (TPP), no causan daños en el sistema digestivo de los animales (Makkar *et al.*, 1988; Makkar *et al.*, 1991). Este aspecto pudo haber influido en los resultados de valor nutritivo, teniendo en cuenta que la relación TPP/TC en las accesiones fue intermedia ( $0,58 \pm 0,09$ ). En el caso de las accesiones evaluadas, quizás las concentraciones relativamente intermedias de TC y la poca cantidad de polifenoles con capacidad de precipitación constituyeron los aspectos esenciales por el cual no se afectó cuantiosamente la degradabilidad ruminal en ninguno de los casos.

#### Distribución grupal de acuerdo al perfil nutritivo

Considerando los resultados obtenidos en el ACA, en el Cuadro 3 se muestra la agrupación de los accesiones en dependencia de sus características nutricionales. Las accesiones se dividieron en cinco grupos con características diferenciadas entre sí. El grupo I estuvo integrado por las accesiones CIAT-9383, CIAT-8815, CIAT-9442, CIAT-751, CIAT-9441 y CIAT-17480. Estas se distinguieron del resto por presentar concentraciones intermedias de proteínas y fibra, pero considerables niveles de P y FT y mayor DPC.

El grupo II, conformado por las accesiones CIAT-871, CIAT-7884, CIAT-932, CIAT-7988 y CIAT-9411, se caracterizó por presentar elevada proporción de Ca, cenizas y mayor DMS.

El grupo III estuvo integrado por las accesiones CIAT-9438, CIAT-8069 y CIAT-7985. Esta agrupación presentó la composición nutricional más sobresaliente

con elevados contenidos de MS y DPC, considerando el rango de variabilidad de los indicadores medidos en todos los casos.

El grupo IV lo conformaron las accesiones CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929 y CIAT-937. Estas, aunque exhibieron un comportamiento similar a las del grupo III, se destacaron por su mayor contenido de TC, fracción proteica y DMS.

El grupo V, integrado por la accesión CIAT-7384, se caracterizó por presentar más compuestos proteicos, pero mayor fracción fibrosa que el resto.

En el Cuadro 4 se muestra la media grupal de las accesiones en cuanto a sus principales características químicas y de degradación. En sentido general, las accesiones de los grupos III y IV presentaron mejor composición nutricional que las pertenecientes a los grupos I, II y V. Considerando la contribución positiva a la formación de los grupos, las accesiones CIAT-9438, CIAT-8069, CIAT-7985, CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929 y CIAT-937 presentaron los mejores resultados en cuanto a la composición química y el perfil de degradación ruminal.

Las accesiones CIAT-9383, CIAT-8815, CIAT-9442, CIAT-751, CIAT-9441, CIAT-17480, CIAT-871, CIAT-7884, CIAT-932, CIAT-7988 y CIAT-9411 presentaron composición nutricional promedio, desde el punto de vista comparativo; mientras que la CIAT-7384 exhibió integralmente los peores resultados, aún cuando presentó elevada concentración de proteínas.

No obstante, en todos los casos las diferencias químicas encontradas, probablemente se encuentran relacionadas con las características particulares del metabolismo primario y secundario de cada accesión, cuya causa son las modulaciones del genotipo en su interacción con el ambiente (Pineda, 2004); ya que todas se encontraban establecidas en las mismas

Cuadro 3 Distribución de accesiones de *L. leucocephala* según sus características nutritivas a partir del ACA.

Grupo	Accesión
I	CIAT-9383, CIAT-8815, CIAT-9442, CIAT-751, CIAT-9441, CIAT-17480
II	CIAT-871, CIAT-7884, CIAT-932, CIAT-7988, CIAT-9411
III	CIAT-9438, CIAT-8069, CIAT-7985
IV	CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929, CIAT-937
V	CIAT-7384

Cuadro 4. Media grupal de las variables medidas en el follaje de diecinueve accesiones de *L. leucocephala*.

Variable	Grupo					Media
	I	II	III	IV	V	
Materia seca	20,63	23,06	26,03	21,80	21,60	22,62
Proteína cruda	25,51	23,45	26,67	28,89	27,27	26,36
Proteína verdadera	18,38	16,32	19,53	22,18	20,14	19,31
Fibra detergente neutro	45,03	45,89	42,86	45,16	49,37	45,66
Fibra detergente ácido	36,22	27,68	34,53	35,62	37,36	34,28
Fibra cruda	18,20	19,36	16,21	18,40	22,17	18,87
Lignina detergente ácido	9,49	10,95	7,80	8,89	13,76	10,18
Celulosa	10,09	10,95	7,92	10,23	14,43	10,72
Calcio	1,91	2,25	1,95	1,70	1,74	1,91
Fósforo	0,23	0,20	0,20	0,16	0,19	0,20
Potasio	2,16	2,21	2,21	1,96	2,50	2,21
Cenizas	7,78	8,62	7,74	6,36	8,77	7,85
Polifenoles totales	3,64	2,98	3,33	2,94	3,32	3,24
Taninos precipitantes	2,56	2,68	2,71	2,62	2,94	2,70
Taninos condensados	4,55	4,38	4,35	4,79	4,37	4,49
Fósforo fítico	0,04	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04
Mimosina	3,04	3,07	3,04	3,04	3,10	3,06
DMS†	60,18	60,23	59,23	60,18	54,85	58,93
DPC	58,82	57,76	57,37	58,82	57,48	58,05
DFDN	43,43	42,72	43,51	43,43	42,82	43,18
Contribución positiva (%)	60	55	75	65	30	

† DMS, DPC y DFDN: Definidas en Cuadro 2.

condiciones experimentales y fueron sometidas al mismo manejo agronómico; factores que no pudieron influir en los resultados numéricos.

Aún cuando las accesiones estudiadas se diferenciaron en términos de la composición química, el follaje de todas puede utilizarse como fuente suplementaria de proteínas y otros nutrimentos en la alimentación animal.

### CONCLUSIONES

Todas las accesiones evaluadas de *L. leucocephala* presentan aceptable composición nutricional para ser usadas como alimento suplementario, aunque se pueden diferenciar fundamentalmente en los contenidos de proteína, fracción fibrosa, Ca, cenizas, y como variables secundarias la degradabilidad ruminal de la MS y los niveles de TC. No obstante, las accesiones de mejor composición nutritiva son

la CIAT-9438, CIAT-8069, CIAT-7985, CIAT-9119, CIAT-9993, CIAT-7929 y CIAT-937. Entre las accesiones evaluadas los niveles de P, K, FT, TPP, mimosina y degradabilidad de la PC y FDN no presentaron variaciones apreciables, por lo que no constituyen variables relevantes para comparar las accesiones en las condiciones descritas.

### LITERATURA CITADA

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>ta</sup> ed. Association of Official Agricultural Chemistry. Washington, D.C., USA.
- Clavero T. 1998. *Leucaena leucocephala*. Alternativa para la alimentación animal. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

- Dávila C. y D. Urbano. 1996. Evaluación de ecotipos de leucaena (*Leucaena leucocephala*) bajo corte en el Sur del Lago de Maracaibo. Rev. Fac. Agron. LUZ, 13: 539-550.
- Early E.B. y E.E. Turk. 1944. Time and rate of synthesis of phytin in corn grain during the reproductive period. J. Anim. Sci. Agron., 36: 803-808.
- Espinoza F., Y. Díaz, F. Requena, C. Araque, E. Perdomo y L. León. 2003. Selectividad, composición química y resistencia al psílido en accesiones de *Leucaena leucocephala*. Arch. Latinoam. Prod. Anim., 11(3): 149-156.
- Farías J. 1996. Evaluación de accesiones de *Leucaena leucocephala* a pastoreo en el bosque seco tropical II. Valor nutritivo. Rev. Fac. Agron. LUZ, 13: 179-190.
- García D.E. y M.G. Medina. 2005. Metodologías para el estudio de los compuestos polifenólicos en especies forrajeras. Un enfoque histórico. Zootecnia Trop., 23(2): 261-296.
- García D.E., M.G. Medina, M. Soca e I.L. Montejo. 2005. Toxicidad de leguminosas forrajeras en la alimentación de los animales monogástricos. Pastos y Forrajes, 28(4): 279-289.
- García D.E., M.G. Medina y F. Ojeda. 2006a. Efecto de la fertilización en las variaciones fitoquímicas y su repercusión antinutricional en cuatro variedades de morera. Pastos y Forrajes, 29(1): 71-81.
- García D.E., M.G. Medina, F. Ojeda, J. Humbría, C.E. Domínguez, A. Baldizán y O. Toral. 2006b. Variabilidad fitoquímica y repercusión antinutricional potencial en especies del género *Albizia*. Pastos y Forrajes, 29(4): 231-241.
- García D.E., M.G. Medina, J. Humbría, C.E. Domínguez, A. Baldizán, L.J. Cova y M. Soca. 2006c. Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. Arch. Zootecnia, 55(212): 373-384.
- Garrett J.B., A.K. Keith, E. O'Donoghue, J. Kerovuo, W. Kim, N.R. Barton, G.P. Hazlewood, J.M. Short, D.E. Robertson y K.A. Gray. 2004. Enhancing the thermal tolerance and gastric performance of a microbial phytase for use as a phosphate-mobilizing monogastric-feed supplement. Appl. Environ. Microbiol., 70(5): 3041-3046.
- Godoy S. y C.F. Chicco. 2005. Fósforo fitico y fitasa en la alimentación de aves. Ceniap Hoy, Disponible en línea: [http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n8/arti\\_godoy\\_s/godoy\\_s.htm](http://www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n8/arti_godoy_s/godoy_s.htm). (Consulta: 02/08/07).
- Godoy S., C.F. Chicco, F. Meschy y F. Requena. 2005. Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. Interciencia, 30(1): 24-28.
- Gómez I., A. Espinoza e Y. Olivera. 2006. Selección de accesiones de leguminosas forrajeras en el Valle del Cauto. Pastos y Forrajes, 29(3): 237-246.
- Guevara E. y O. Guenni. 2004. Acumulación y distribución de biomasa de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, durante la fase de establecimiento. I. Repartición de biomasa. Zootecnia Trop., 22(2): 147-156.
- Hernández A. 1999. Clasificación genérica de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. Ministerio de la Agricultura. AGRINFOR. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Hidalgo R. 2003. Variabilidad genética y características de especies vegetales. En Franco T.L. y T.R. Hidalgo (Eds). Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín Técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Cali, Colombia. pp.3-7.
- Machado R. 2006. Adaptabilidad de gramíneas y leguminosas en suelos hidromórficos del humedal Ciénaga de Zapata. Establecimiento. Pastos y Forrajes, 29(2): 155-167.
- Makkar H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Makkar H.P.S., B. Singh y R.K. Dawra. 1991. Tannin levels in the leaves of some oak species at different stage of maturity. J. Agric. Food Agric., 54: 513-519.

- Makkar H.P.S., R.K. Dawra y B. Singh. 1988. Determination of both tannin and protein in a tannin-protein complex. *J. Agric. Food Chem.*, 36: 523-525.
- Matsumoto H. y G.D. Sherman. 1951. A rapid colorimetric method for the determination of mimosine. *Arch. Biochem. Biophys.*, 33: 195-200.
- Mehrez A.Z. y E.R. Ørskov. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 88: 645-649.
- Olivera Y. y R. Machado. 2004. Evaluación de especies del género *Brachiaria* en suelos ácidos e infértiles durante la época de mínimas precipitaciones. *Pastos y Forrajes*, 27(3): 225-233.
- Philippeau G. 1986. Comment interpréter les résultats d' une analyse in composants principales. Service des Etudes Statistiques. ITCF. Lusignan, Francia.
- Pineda M. 2004. Resúmenes de Fisiología Vegetal. Servicios de publicaciones de la Universidad de Córdoba, Córdoba, España.
- Porter I.J., I.N. Hrstich y B.G. Chan. 1986. The conversión of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25: 223- 230.
- Price M., S. Van Scoyoc y L.G. Butler. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannins in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 1214-1218.
- Razz R, T. Clavero y J. Vergara. 2004. Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 14(5): 424-430.
- Razz R., R. Gonzáles, J. Farías, D. Esparza y N. Faría. 1992. Efecto de la frecuencia e intensidad de defoliación sobre el valor nutritivo de la *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit.. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 9: 109-114.
- Razz R., T. Clavero, J.J. Pérez, L. Gonzáles y J. Giurandeta. 1995. Efecto de la fertilización con N y P sobre la nodulación de 2 ecotipos de *Leucaena leucocephala*. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 12: 187-192.
- Simón L. 1998. Del monocultivo de pastos al silvopastoreo. La experiencia de la EEPF IH. En Simón L. (Ed). *Los Árboles en la Ganadería*. Tomo I. Silvopastoreo. EEPF "Indio Hatuey" Matanzas, Cuba. pp. 9-14.
- Stewart J.L. y A.J. Dunsdon. 1998. Preliminary evaluation of potential fodder quality in a range of *Leucaena* species. *Agrofor. Sys.*, 40: 177-198.
- Visauta B. 1998. Análisis Estadístico con SPSS para Windows. Mc-Graw-Hill-Interamericana. Madrid, España.

## **Comparación del crecimiento, parámetros reproductivos y de hematología y glicemia en hámsters (*Mesocricetus auratus*) alojados a diferentes niveles de intensidad de luz**

Rosa De Jesús<sup>1,2\*</sup> y Zoraima Quintero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bioterio de la Universidad de Los Andes, Mérida, Mérida, Venezuela. \*Correo electrónico: rosadej@ula.ve

<sup>2</sup> Laboratorio de Fisiología Animal, Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Mérida, Venezuela.

---

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue comparar el peso y la talla que alcanzan los hámsters, evaluar algunos parámetros reproductivos (número de crías nacidas, destetadas por camada y el período entre parto) y comparar los valores de algunos parámetros hematológicos (hematología, hematocrito, cuenta blanca y conteo diferencial) y glicemia, con la finalidad de observar su respuesta a distintos niveles de intensidad de luz. Este ensayo se realizó en el Bioterio de la Universidad de Los Andes con hámsters (*Mesocricetus auratus*) del núcleo de fundación de la colonia. Se usaron animales recién nacidos, procedentes de parejas alojadas en los diferentes niveles de un estante de producción, con intensidades de luz que variaron desde 180 hasta 50 lux de manera decreciente desde el primer nivel superior hasta el último nivel. Los resultados presentan diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) entre los valores promedios presentados por los grupos de animales alojados a diferentes niveles de intensidad de luz, en relación: al peso alcanzado a las 14 semanas de edad por hembras y machos, a los parámetros reproductivos: número de crías nacidas y destetadas por camada y al período entre partos. También, en relación al peso de los testículos y glándulas sexuales accesorias de los machos, al peso de los ovarios y los cuernos uterinos de las hembras, e igualmente en relación a la cuenta leucocitaria y diferencial, tanto en hembras como en los machos. No se observaron diferencias en relación a la talla en las hembras y machos, ni con respecto a los valores hematológicos para la hemoglobina, el hematocrito y la glicemia. Es importante hacer notar que los valores reportados por la bibliografía como valores normales difieren de los encontrados en la experiencia realizada, los valores encontrados no está influenciado por la intensidad de luz ya que el mismo no presenta diferencias significativas entre grupos, conllevando a pensar en que éste valor es propio de las condiciones de producción del Bioterio de la Universidad de Los Andes. Este ensayo permite ofrecer a los investigadores del país datos y valores que pueden ser considerados como punto de referencia para sus experimentos.

*Palabras clave:* Hámsters, intensidad de la luz, parámetros reproductivos, valores hematológicos, bioterio.

---

### **Comparison of growth, reproductive parameters, and hematology and glycemiy on hamsters (*Mesocricetus auratus*) housed at different levels of light intensity**

#### **ABSTRACT**

An experiment was carried out in the laboratory animal quarters of the University of Los Andes on hamsters (*Mesocricetus auratus*) with the objective to evaluate the influence of different levels of light intensity on growth (weight and size), some reproductive parameters (the total number of offspring; the number of offspring removed from their mother's care; the period between pregnancies and the weight of the reproductive organs), hematology (hemoglobine, hematocrite, leukocyte count and differential counter), and blood glucose. The tests were applied to newborn offspring, coming from parents who had been exposed to different levels of light, according to their position in multileveled reproductive cages, vertically organized, whose light exposure decreased from top to

bottom. The light intensity ranged from 180 to 50 lux. The results indicated significant differences ( $P < 0,05$ ) in animals of 14 weeks regarding weight of female and male, the total number of offspring, and the number of offspring removed from their mother's care. Also, the period between pregnancies and the weight of the gonads and accessory sexual glands in both female and male hamsters and the leukocyte and differential count reported significant differences. It was not observed a significant effect in the size of male and female, or the hematological parameters: hemoglobin, hematocrite and glucose blood. With respect to the values of glucose and hemoglobin found in the literature, these are different in relation to those in this work. This experiment is useful to improve hamster breeding in laboratory animal quarters conditions and offer guidance to other users.

*Keywords:* hamster, light intensity, reproductive parameters, values of hematological, laboratory animal quarter.

## INTRODUCCIÓN

En los bioterios se producen los animales que van a ser usados en la investigación biomédica y farmacéutica (Sinkora *et al.*, 2007; Balvach *et al.*, 2007; Ferland *et al.*, 2007), de ahí la importancia del manejo adecuado de su producción. Los factores ambientales que existen dentro de los bioterios, en conjunto, hacen el "clima" en el cual los animales de laboratorio se producen y son mantenidos.

Los animales de uso más común en la investigación son los roedores (Grosse *et al.*, 2007; Meyer *et al.*, 2007; Kuure *et al.*, 2007), los cuales son de hábitos nocturnos, por lo que la iluminación es un factor ambiental que tiene gran influencia sobre la fisiología de los animales. La actividad rítmica de muchas especies se encuentra influenciada de dos maneras por la luz; en primer lugar, el cambio cíclico en la intensidad de la luz puede actuar sincronizando el tiempo endógeno del sistema circadiano, de manera que el organismo es apropiadamente ajustado al período ambiental de 24 horas (Brainard *et al.*, 1986; Cherry, 1987; Scheving *et al.*, 1994; Nasello *et al.*, 2002; Roizen *et al.*, 2007). En segundo lugar, la luz puede inhibir directamente o promover cualquier actividad fisiológica en el animal, por lo tanto, se puede decir que las variaciones de la iluminación pueden modificar un número de ritmos fisiológicos y tales modificaciones van a depender de la pigmentación del animal, del tiempo de exposición, de la edad, del sexo y de la línea del animal (Brainard *et al.*, 1989; Smolensky y D'Alonzo, 1993; Canal-Corretger *et al.*, 2001; Mcquade y Stanford, 2001; Liljander *et al.*, 2006).

En los ambientes de los bioterios, a pesar de encontrarse estandarizadas las condiciones de mantenimiento con respecto a la luz, las variaciones correspondientes a ésta no se logran eliminar por completo, pudiéndose observar que existe variación

en la intensidad de la luz a lo largo de un estante de producción (De Jesús y Quintero, 2001). En condiciones de intensidad de la luz recomendada, 350-400 lux para los cuartos de los animales (Home Office, 1989), puede existir una variación de 80 veces entre las cajas ubicadas en los niveles más bajos en relación a las cajas de los niveles superiores y entre cajas ubicadas en el mismo nivel puede variar tanto como 20 veces (Weihe *et al.*, 1969; Mudler, 1971; Clough y Donnelly, 1984). En relación a la iluminación, De Jesús y Quintero (2001) determinaron que la variación de esta a lo largo de un estante se encontraba entre un rango de 230 a 30 lux.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar diferentes parámetros fisiológicos que pueden ser afectados por la intensidad de la luz, en una colonia de producción de hámsters en el bioterio de la Universidad de Los Andes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el bioterio de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela. Se usó un total de 128 crías nacidas de parejas de hámsters ubicadas en un estante de producción a diferentes niveles: 1,80 2,10 2,40 y 2,70 m de distancia del grupo de cuatro lámparas fluorescentes (110 V, 50 Hz) cada uno, proporcionando una intensidad de luz de 180, 100, 80 y 50 lux en los niveles dos a cinco, respectivamente.

Los animales fueron criados bajo barrera y alojados en cajas T3 (22,5 x 39 x 14,5 cm) de policarbonato, en una temperatura ambiental de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , con una humedad relativa promedio de 75%, con ciclos de 12 h luz: 12 h oscuridad (controlado con temporizador). Los hamsters se alimentaron con ratarina comercial (Protinal), tratada con temperatura de  $120^\circ\text{C}$  por 3 min y suministrada *ad libitum*, al igual que el agua (esterilizada a  $120^\circ\text{C}/20$  min).

Las parejas reproductoras se ubicaron en cada uno de los niveles propuestos para el desarrollo del estudio y a la semana de nacidas las crías (8 crías por pareja; 32 animales por nivel), se les comenzó a pesar y a medir. A los 21 días fueron destetadas, sexadas y colocadas en un número de 4 animales por caja y ubicadas en el mismo nivel donde se encontraban los reproductores. El pesaje fue realizado en una balanza electrónica (Acculab), con sensibilidad de 0,01 g y la talla medida con regla milimetrada, desde la punta de la nariz hasta la punta de la cola.

Las variables medidas la producción fueron: período entre partos, crías nacidas por parto y crías destetadas por parto, cuyos valores se extrajeron de los registros de la colonia. A los tres meses y medio (14 semanas) de nacidos, los animales del ensayo se seleccionaron 15 hembras y 15 machos por nivel, a los cuales se les tomó muestras de sangre mediante vía cardiaca previo sacrificio en cámara con exceso de eter dietílico para realizar las pruebas sanguíneas: hematología, hematocrito, cuenta leucocitaria, cuenta diferencial y glicemia. Además, se realizó la necropsia para extraer los órganos sexuales y las glándulas sexuales accesorias y realizar el pesaje, para lo cual se usó una balanza (Modelo AND-HR 200), con precisión 0,0001 g.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un ANAVA y la prueba t de Student, utilizando el software estadístico Statistics Analysis System (SAS) versión 8.2 bajo ambiente UNIX (SAS, 1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos semanalmente para observar el comportamiento del peso y la talla de los hámsters (n=32) por nivel fueron promediados semanalmente observándose una continua ganancia de peso. El promedio del peso logrado a las 14 semanas por los machos y las hembras es presentado en el Cuadro 1. El análisis estadístico realizado indicó diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) para los pesos alcanzados a las 14 semanas, tanto para los machos como para las hembras, a las diferentes intensidades de luz. Estas diferencias estadísticamente significativas se observaron entre los grupos de los diferentes niveles, pero no dentro de los grupos por nivel, indicando que posiblemente la intensidad de luz puede afectar la ganancia de peso en los hámsters.

Existen muchos trabajos que hacen referencia a la influencia de los periodos de luz (fotoperiodos) en el desarrollo de los animales de laboratorio; sin embargo, es muy escasa la información que hace referencia a la posible influencia que pueden ejercer diferentes intensidades de luz a las que los animales se ven sometidas diariamente sobre el crecimiento. Existen, sin embargo, autores que reportan que este parámetro tiene influencia sobre todos los procesos fisiológicos y de conducta de los animales (Scheving *et al.*, 1994; Smolensky y D'Alonzo, 1993; Nasello *et al.*, 2002).

De acuerdo a los resultados observados se hace evidente que existe una influencia de este factor ambiental (intensidad de la luz) sobre el peso de los

Cuadro 1. Peso promedio (Ee) de los hámsters hembras y machos a las 14 semanas después del nacimiento.

Nivel	Peso		Talla	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra
lux	----- g -----		----- cm -----	
180	130 (0,20)a	130 (0,22)a	15,1	14,8
100	128 (0,21)b	125 (0,24)b	15,2	15,4
80	123 (0,20)c	120 (0,30)c	15,4	15,3
50	120 (0,23)d	110 (0,20)d	15,5	15,7

<sup>abcd</sup>En la misma columna, medias con letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Sin letras indica ausencia de diferencias significativas

hámsters, tanto machos como hembras, lo que pudiese estar directamente influenciado por la condición hormonal, que según varios autores esta condicionada por la intensidad de la luz (Walter y Jiménez, 1984; Canal-Corretger *et al.*, 2001; Nasello *et al.*, 2002). Se descarta que el mayor peso obtenido en los animales alojados a altos niveles de iluminación se deba a un mayor consumo de alimento, ya que no se observaron diferencias con respecto al consumo de los animales alojados a bajas intensidades. El promedio de consumo de alimento para todos los animales fue de aproximadamente 12 g/anim/d.

Los resultados obtenidos en las medidas de las tallas de los hámsters, tanto hembras como machos, alojados a las diferentes intensidades de luz no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ).

En relación a los parámetros reproductivos, en el Cuadro 2 se presentan los datos obtenidos respecto al número de crías nacidas y destetadas por camada, donde se observa que ambos parámetros se vieron afectados directamente por la intensidad de la luz, al registrarse que las hembras produjeron un mayor

número de animales por camada en intensidades de 180 y 100 lux, en comparación a las hembras alojadas a las intensidades de 80 y 50 lux. Estos resultados pudiesen estar relacionados con el mayor desarrollo corporal que presentan las hembras alojadas en estas intensidades de luz, de acuerdo a los resultados obtenidos en la ganancia del peso de las hembras. De igual manera, la cantidad de animales que se destetan es superior en las camadas cuyas madres se encuentran alojadas en el nivel superior de luz.

Se puede observar también en el Cuadro 2, que el menor periodo entre partos lo presentan las hembras alojadas en las mayores intensidades de luz. Diferentes autores reportan el efecto que tiene el fotoperíodo en los eventos reproductivos de los animales de laboratorio (Darrow *et al.*, 1980; Bellhorn, 1980; Cherry, 1987). Sin embargo, pocos reportan la influencia en los parámetros zootécnicos estudiados (De Jesús y Quintero, 2001).

Es de pensarse que existe influencia de las intensidades de la luz sobre los parámetros zootécnicos ya que la luz tiene influencia sobre los niveles de hormonas reproductivas en las hembras y en los ciclos estrales de

Cuadro 2. Parámetros reproductivos de las parejas reproductoras alojadas a diferentes intensidades de luz. Error estándar entre paréntesis.

Nivel	Crías nacidas por camada	Crías destetadas por camada	Período entre parto
lux	----- N°	-----	----- semana
180	7,6 (0,31)a†	7,6 (0,29)a	7,3 (0,31)b
100	7,3 (0,34)a	6,3 (0,26)b	7,3 (0,28)b
80	6,3 (0,26)b	6,3 (0,30)b	9,9 (0,26)a
50	6,0 (0,29)b	5,4 (0,26)c	9,5 (0,27)a

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

Cuadro 3. Peso de órganos sexuales y glándulas sexuales accesorias de hembras y machos de hámsters dorados alojados a diferentes intensidades de luz a las 14 semanas de edad.

Nivel	Ovarios	Cuernos uterinos	Testículos	Próstata + vesícula seminal
lux	----- g	-----	-----	-----
180	1,814 (0,15)a†	2,379 (0,18)a	2,168 (0,20)a	2,156 (0,30)a
100	1,722 (0,20)b	2,357 (0,15)a	2,283 (0,17)b	2,123 (0,34)b
80	1,520 (0,18)c	1,433 (0,20)b	1,867 (0,21)c	0,138 (0,27)c
50	1,562 (0,21)c	1,032 (0,20)c	1,698 (0,18)d	0,119 (0,35)d

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

diferentes cepas de ratones y de hámsters (Donnelly y Saibaba, 1993; van Haaster *et al.*, 1993; Moffatt-Blue *et al.*, 2006).

Otro factor que está influenciado por la luz es el peso de los órganos y específicamente de las gónadas y las glándulas sexuales accesorias y su posible regresión por la influencia de prolongados periodos de oscuridad (Darrow *et al.*, 1980; Brainard *et al.*, 1986; Cherry, 1987; van Haaster *et al.*, 1993; Maitra y Ray, 2000).

En relación al peso de los órganos sexuales se puede observar en el Cuadro 3, que el promedio del peso encontrado tanto para las gónadas (ovarios y testículos), al igual que para las glándulas accesorias sexuales, tanto de las hembras (cuernos uterinos) como en los machos (próstata y vesícula seminal), presentan diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ), en los animales alojados a diferentes intensidades de luz, por lo que se puede pensar que esta característica fisiológica esta afectada por este factor ambiental, como es reportado por Virend y Lamber (1971).

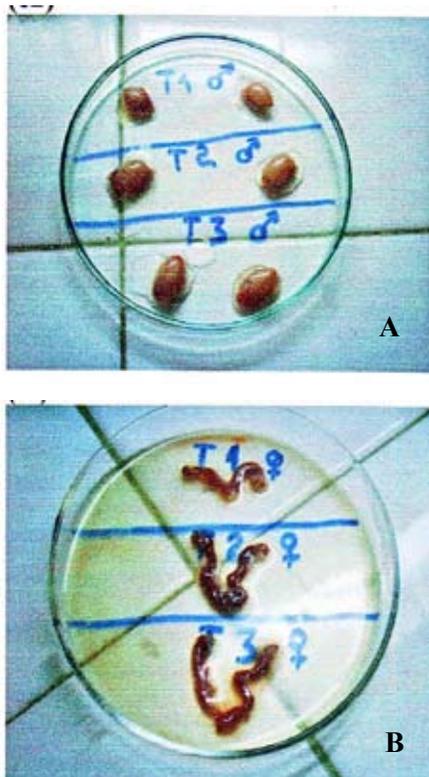


Figura 1. Órganos reproductores: testículos (A) y cuernos uterinos más ovarios (B), de hámster alojados a diferentes intensidades de luz.

En la Figura 1 se puede observar como varía el tamaño de los testículos a diferentes intensidades de luz; también se puede observar como varía el tamaño de los cuernos uterinos y los ovarios en las hembras. Claramente se observa que el tamaño disminuye cuando los animales se encuentran alojados a las intensidades de luz de 80 y 50 lux.

Estos resultados presentan relación con la cantidad de crías nacidas por hembra, que fue mayor en número en las hembras alojadas a intensidades de luz de 180 a 100 lux en comparación con las alojadas a 80 a 50 lux, ya que los órganos reproductivos se observan menos desarrollados en los animales alojados en las intensidades de luz menores.

En relación a los parámetros sanguíneos para los machos (Cuadro 4), como glucosa, hematocrito y hemoglobina no se observaron diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ), ni entre o inter-grupo, por lo que se deduce que en este género, los valores sanguíneos estudiados, no son afectados por la intensidad de la luz.

La intensidad de la luz afectó ( $P < 0,05$ ) en las hembras los valores de hematocrito, hemoglobina, cuenta leucocitaria y conteo diferencial (Cuadro 5). En el caso del hematocrito, la diferencia se observa entre tratamientos, pero se hace difícil proponer que esto ocurra como consecuencia de la intensidad de luz, al observar similitud en los resultados para las intensidades de luz de 180 y 50 lux; aunque haya diferencia en los valores intermedios. Se presenta, entonces, la probabilidad de replantear el diseño experimental para poder determinar claramente lo que ocurre con este parámetro.

En relación a los valores hallados para la hemoglobina, la cuenta leucocitaria y el conteo diferencial se observa una diferencia significativa en todos los niveles. Los valores para la cuenta leucocitaria, al igual que el conteo diferencial, tanto para las hembras como para los machos, parecieran encontrarse influenciados por las diferentes intensidades de luz ya que presentan diferencias estadísticamente significativas en el ANAVA realizado ( $P < 0,05$ ), con rango de desviación estándar (1,8 - 2,5), para los animales alojados a diferentes intensidades de la luz.

Los valores promedios hallados tanto para hembras como para los machos fueron cotejados con los reportados como normales por Van Zutphen *et al.*

Cuadro 4. Valores de las medias aritméticas de los parámetros hematológicos y la glicemia de los machos hámsters, alojados a diferentes intensidades de luz.

Nivel	Glucosa	Hto	Hb	Cuenta leucocitaria	Contaje diferencial Neut / Linf / Eosi
	mg/100 mL	%	g/100 mL	x100/mm <sup>3</sup>	
lux					
180	10,30	46,0	15,45	5.898a†	11,5 / 88,5 / 0a
100	10,65	45,5	14,95	7.410b	9,0 / 91 / 0b
80	10,20	45,5	14,75	8.445c	9,0 / 91 / 0b
50	10,60	46,5	15,50	6.800d	9,5 / 92 / 0b

†Medias con letras distintas en la columna son diferentes (P<0,05).

Cuadro 5. Valores promedios de parámetros hematológicos y de la glicemia de las hembras hámsters, alojados a diferentes intensidades de luz.

Nivel	Glucosa	Hto	Hb	Cuenta leucocitaria	Contaje diferencial (Neut / Linf / Eosi)
	mg/100 mL	%	g/100 mL	x100/mm <sup>3</sup>	
lux					
180	10,15	44a	14,65a†	6.263a	10,5 / 89,5 / 0 a
100	10,80	43b	14,25a	6.305b	12,5 / 91,0 / 0 b
80	10,70	42c	14,35a	6.220c	9,0 / 91,0 / 0 c
50	10,45	44a	13,70b	7.960d	6,5 / 93,5 / 0 d

†Medias con letras distintas en la columna son diferentes (P<0,05).

(1999). Con respecto a los valores del hematocrito, los reportados como normales se encuentran en un rango de 36%-40% y para las muestras de este ensayo se encontraron en un rango de 42 a 46%, siendo estos valores mayores a lo reportado. En relación a los valores para la glicemia, los promedios reportados como normales se encuentran en un rango de 15 a 60 mg/100 mL y los promedios de las muestras se encontraron en un rango de 10,1 a 10,8 mg/100 mL. Estos valores no presentaron diferencias significativas entre la población estudiada, ni entre tratamientos, por lo que no pareciera verse afectados por la intensidad de la luz; por tanto se proponen como promedios estándar para las condiciones de producción del bioterio de la ULA.

Los resultados obtenidos en la experiencia realizada en el bioterio de la ULA, permiten plantear que existen diferencias en la ganancia de peso y en talla de los animales dadas por las diferentes intensidades de luz. Igualmente, se pudo observar un comportamiento reportado por otros autores de la influencia de la luz sobre el desarrollo de los órganos

reproductores lo cual se puede relacionar con los valores de los parámetros zootécnicos medidos. Los resultados permitieron obtener valores estándar para la glicemia y la hematología propios de la producción que pueden servir como patrón a los investigadores que utilicen estos parámetros como parte de sus resultados experimentales. La experiencia nos permite, igualmente, mejorar las condiciones de las parejas reproductoras que se mantienen en el bioterio para cubrir la demanda de la investigación en la región.

## CONCLUSIONES

1. El factor ambiental iluminación afectó el peso de los machos y las hembras hámsters, a diferentes intensidades.
2. El número de crías nacidas y destetadas por camada, así como el periodo entre partos son parámetros reproductivos que están influenciados por la intensidad de la luz.

3. En el ensayo se comprobó que la intensidad de la luz tiene influencia sobre el peso de las glándulas sexuales accesorias tanto de hembras como de machos.
4. El ensayo permite suponer que los parámetros hematológicos como cuenta leucocitaria y porcentaje de neutrófilos, en el conteo diferencial son afectados por la intensidad de la luz.
5. Se proponen como promedios estándar para las condiciones de producción del bioterio de la ULA, valores del hematocrito en el rango 42 a 46% y para los valores promedios para la glicemia en el rango de 10,1 a 10,8 mg/100 mL.

#### LITERATURA CITADA

- Bellhorn R.N. 1980. Lighting in the animal environment. *Lab. Anim. Sci.*, 30: 440-450.
- Balvach S., A. Jauch, B. Böhm-Steuer, F. Cavaleri, Y. Han y M. Boiani. 2007. Chromosome stability differs in cloned moused embryos and derivative ES cells. *Dev Biolo.*, 308: 309-21
- Brainard G.C., M.K. Vaughan y R.J. Reiter. 1986. Effect of light irradiance and wavelength on the Syrian hamsters *Reproductive Sys.*, 119: 648-654.
- Brainard G.C. 1989. Illumination of laboratory animal quarters: participation of light irradiance and wavelength in the regulation of the neuroendocrine system. *En Science and Animals: Addressing Contemporary Issues*. Scientists Center for Animal Welfare, Geenbelt, MD. pp. 69-74.
- Canal-Corretger M.M., J. Vilaplana, T. Cambras y J. Diez-Noguera. 2001. Functioning of the rat circadian system is modified by light applied in critical postnatal days. *Am. J. Physiol. Reg. Integr. Comp. Physiol.*, 280:023-1030.
- Clough O. y H. Donnelly. 1984. Light intensity influences the oestrous cycle of LACA mice. *Proc. Laboratory Animal Management*. Universities Federation for Animal Welfare. New York, N.Y. pp. 60-64.
- Cherry J.A. 1987. The effect of photoperiod on development of sexual behavior and fertility in Golden hamster. *Physiol. Behav.*, 39: 521-526.
- Darrow J.M., F.C. Davis, J.A. Elliot, M.H. Stetson, F.W. Turek y M. Menaker 1980. Influence of photoperiod on reproductive development in the golden hamster. *Biol. Reprod.*, 22: 443-450.
- De Jesús R. y Z. Quintero. 2001. Influencia de diferentes niveles de intensidad de la luz sobre algunos parámetros reproductivos en ratones NMRI. *Rev. Cient. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 9: 403-407.
- Donnelly H. y P. Saibaba. 1993. Light intensity and the oestrous cycle in albino and normally pigmented mice. *Lab. Anim.*, 27: 385-390.
- Ferland C., D. Veilleux-Lemieux y P. Vachon. 2007. Effects of buprenorphine on intracerebral collagenase-induced hematoma in Sprague-Dawley rats. *J Am Assoc Lab. Anim Sci.*, 46: 13-16
- Greenman D.L., P. Bryant, R.K. Kodell y W. Sheldon. 1982. Influence of cage shelf level on retinal atrophy in mice. *Lab. Anim Sci.*, 32: 353-356.
- Grosse J., A. Braun, D. Varga-Szabo, N. Beversdorf, B. Scheneider, L. Zeitlmann, P. Hanke, P. Scropp, S. Muhlstedt, C. Zorn, M. Huber, C. Schmittwolf, W. Jagla, P. Yu, T. Kerkau, H. Schulze, M. Nehls y B. Nieswandt. 2007. An EF hand mutation in Stim1 causes premature platelet activation and bleeding in mice. *J. Clin. Invest.*, 117: 3540-3550.
- Home Office. 1989. Code of practice for the housing and care of animals used in scientific procedure. 2<sup>da</sup> ed. HM&O, Londres.
- Kuure S., A. Popsueva, M. Jakobson, K. Sainio y H. Sariola. 2007. Glycogen synthase únase-3 inactivation and stabilization of beta-catenin induce nephron differentiation in isolated Mouse and rat kidney mesenchymes. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 18: 1130-1139.
- Liljander M., M. Sälltröm, S. Andersson, P. Wernhoff, A. Andersson, R. Holmdahl y R. Mattsson. 2006. Identification of genetic regions of importance for reproductive performance in female mice. *Genetics*, 173: 901-909

- Maitra S.K. y A.K. Ray. 2000. Role of light in the mediation of acute effects of a single afternoon melatonin injection on steroidogenic activity of testis in the rat. *J. Biosci.*, 25: 253-256.
- Mcquade R. y C.S. Stanford. 2001. Differences in control noradrenergic and behavioural response inbred rats on exposure to an aversive novel environment. *J. Neurochem.*, 76: 21-28.
- Meyer H., A. Garofalakis, G. Zacharakis, S. Psycharakis, C. Mamalaki, D. Kioussis, E. Economou, V. Ntziachristos y J. Ripoll. 2007. Noncontact optical imaging in mice with full angular coverage and automatic surface extraction. *Appl. Opt.*, 46: 3617-3627.
- Moffatt-Blue C.C., J.J. Sury y K.A. Young. 2006. Short photoperiod-induced ovarian regression is mediated by apoptosis in Siberian hamster (*Phodopus sungorus*). *Reproduction*, 131: 771-782.
- Mudler J.B. 1971. Animal behavior and electromagnetic energy waves. *Lab. Anim. Sci.*, 21: 389-393.
- Nasello A.G., A.S. Sassatani, F.S. Ferreira, L.F. Felicio y C.A. Tieppo. 2002. Modulation by sudden darkness of apomorphine-induced behavioral response. *Physiol. Behav.*, 78: 521-528.
- Roizen J., Ch. Luedke, E. Herzog y L. Muglia. 2007. Oxytocin in the circadian timing of birth. *PLoS ONE*, 2: 922-930.
- SAS. 1998. SAS/STAT User's guide. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Scheving L.E., R. Feur, F.O. Cope, L.A. Scheving y E.L. Kanabrocki. 1994. General principles of chronobiology. *Lab. Med.*, 25: 306-312.
- Sinkora J., P. Samankoy, V. Kummer, L. Leva, J. Maskova, Z. Rehakova y M. Faldyna. 2007. Commercially available rabbit anti-human polyclonal antisera as a useful tool immune system studies in veterinary species. *Vet Immunol. Immunopathol.*, 119: 156-162.
- Smolensky M.H. y G.E. D'Alonzo. 1993. Medical chronobiology: concepts and applications. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 147: 2-19.
- Van Haaster F.J., Fj Van Eerdenburg y D.G. De Rooij. 1993. Effect of prenatal and postnatal photoperiod on spermatogenic development in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *J. Repro. Fert.*, 97: 223-232.
- Van Zutphen L.F.M., V. Baumans y A.C. Beynen. 1999. Principios de la Ciencia del Animal de Laboratorio. Elsevier, Madrid.
- Virend J. y J.K. Lauber. 1971. Effects of light intensity, wavelength and quanta on gonad and spleen of the deer mouse. *Nature*, 244: 37-38.
- Walker R.F. y A. Jimenez. 1984. Quantitative relationship between light intensity and luteinizing hormone surges in ovariectomized rats treated with estrogen. *Biol. Repro.*, 30: 87-92.
- Weihe W.H., J. Schildlow y J. Stritmatter. 1969. The effects of light intensity on the breeding and development of rats and golden hamster. *Inter. J. Biomethe.*, 13: 69-79.

## Efecto de la vitrificación sobre la viabilidad morfológica de embriones murinos (*Mus musculus*)

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

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

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Sanidad Animal, Maracay, Aragua, Venezuela.

<sup>3</sup> Laboratorio de Hemoparásitos, Cátedra de Parasitología, FCV-UCV. Maracay, Aragua. Venezuela.

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

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

---

### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la viabilidad morfológica post vitrificación de embriones murinos (*Mus musculus*), de dos estadios de desarrollo (mórula y blastocito), obtenidos *in vivo* de hembras superovuladas, para lo cual se utilizaron los siguientes criterios: blastómeras morfológicamente intactas, zona pelúcida íntegra y re-expansión del blastocele. Quinientos setenta y dos embriones murinos de excelente calidad se vitrificaron a través de la técnica pajuela estirada abierta modificada, utilizando una solución de equilibración (25% de etilenglicol, 25% de glicerol) en tres pasos. No hubo diferencia significativa ( $P>0,05$ ), entre la tasa de recuperación para mórulas (92,6%) y blastocitos (93,7%). Sin embargo, se obtuvo diferencia ( $P<0,05$ ) para la viabilidad morfológica post vitrificación, siendo mayor el número de blastocitos con apariencia morfológica normal (93,3%) comparado con el número de mórulas (87,5%). Se observaron seis tipos de anomalías morfológicas: pérdida de la esfericidad, ausencia parcial de zona pelúcida, fractura de zona pelúcida, presencia de blastómeras extruidas, degeneración parcial de la masa celular y degeneración total de las blastómeras. A su vez, se evidenció diferencia en la aparición de daño embrionario post vitrificación, solamente 6,7% de los blastocitos *versus* 12,5% de las mórulas presentaron daño. Estos resultados representan la primera aplicación en Venezuela de la técnica de vitrificación en embriones mamíferos, sugiriendo que los blastocitos toleran con mayor eficiencia la vitrificación que las mórulas, ya que presentaron una tasa superior de viabilidad morfológica y una menor frecuencia de anomalías morfológicas que las mórulas.

*Palabras clave:* embrión, murinos, vitrificación.

---

### Vitrification effect on the morphological viability of murine embryos (*Mus musculus*)

#### ABSTRACT

The objective of present study was to evaluate the morphological viability post vitrification of murine embryos (*Mus musculus*) of two stages (morulae and blastocyst), obtained *in vivo* from superovulated female, following this criterion: morphologically intact blastomeres, intact zona pellucida, and re-expanding of the blastocele. Five hundred seventy two murine embryos of excellent quality were vitrified through the modified open pulled straw procedure, using an equilibrated solution (25% of ethylene glycol, 25% of glycerol) in three steps. There were not significant differences ( $P>0.05$ ), between recovery rates for morula (92.6%) and blastocyst stage (93.7%). Nevertheless, we observed differences ( $P<0.05$ ) for post vitrification morphological viability, being higher the number of blastocysts with normal morphological appearance (93.3%) compared to the number of morulae (87.5%). Six types of morphological abnormalities were observed: loss of spherical shape, partial absence and

Recibido: 19/07/2007 Aceptado: 15/11/2007

fracture of the zona pellucida, presence of extruded blastomeres, partial degeneration of the cellular mass, and total degeneration of blastomeres. Also differences in post vitrification damage were observed; only 6.7% of the blastocysts *versus* 12.5% of morulae had damage. These results represent the first experience of the vitrification technique in mammal embryos in Venezuela, suggesting that blastocysts tolerate the vitrification process more than morulae, because a higher viability and lower frequency of morphological abnormalities than morulae.

*Keywords:* embryo, murine, vitrification.

## INTRODUCCIÓN

La producción de embriones, tanto *in vivo* como *in vitro*, es una técnica biotecnológica de suma importancia que nos permite maximizar la descendencia de una hembra donadora élite. Uno de los posibles destinos para estos embriones es la criopreservación, el cual es un procedimiento que nos permite mantener a temperaturas bajo cero por tiempo indefinido este material biológico, para ser utilizado en el momento más oportuno. El método de criopreservación por vitrificación forma parte de los procedimientos no equilibrados, ya que las células no están en equilibrio con las altas concentraciones de crioprotectores permeables y no permeables antes de un enfriamiento rápido, constituyendo el desarrollo y la aplicación de la vitrificación, una alternativa factible para la criopreservación de embriones (Dobrynsky, 2002).

La vitrificación es un método de criopreservación extremadamente rápido, en el cual los embriones son incluidos en una solución altamente concentrada de crioprotectores, solidificándose durante el enfriamiento sin la formación de cristales de hielo. El fenómeno requiere de tasas rápidas de enfriamiento, lográndose en condiciones prácticas, mediante la inmersión directa en nitrógeno líquido, representando una velocidad de enfriamiento de aproximadamente 2.500°C/min, y demorándose así, pocos segundos en criopreservarse. La solución no se cristaliza, se vitrifica, es decir, aumenta abruptamente su viscosidad y se transforma a un estado sólido no estructurado similar al vidrio, de donde el método toma su denominación, conservando la distribución normal tanto molecular como iónica del estado líquido (Shaw y Jones, 2003; Silva y Berland, 2004).

La mayoría de las investigaciones y aplicaciones de la criopreservación de embriones es realizada principalmente en tres especies: murina, bovina y humana (Rall, 1992). Una voluminosa cantidad

de investigaciones básicas y aplicadas sobre los mecanismos criobiológicos han sido realizadas sobre embriones de ratón (Prather y First, 1988; Rall, 1992), siendo dichas investigaciones ejecutadas como técnicas de rutina en bioterios o extrapolables a distintas especies de animales domésticos, en las cuales los roedores son utilizados como modelo animal experimental. Existen dos factores que favorecen el desarrollo de investigaciones de criobiología en los roedores de laboratorio, como son los costos y el abastecimiento de los embriones. Los costos tanto de mantenimiento, como de los tratamientos hormonales son considerablemente inferiores en animales de laboratorio que en especies domésticas; a su vez, el abastecimiento de embriones, es decir, el número de embriones colectados por hembra es significativamente superior (Prather y First, 1988).

Todos los estadios preimplantacionales de embriones murinos pueden ser exitosamente criopreservados (Leibo *et al.*, 1996). Sin embargo, el estadio de desarrollo de los embriones antes de la criopreservación influye significativamente sobre su viabilidad (López-Béjar y López-Gatius, 2002). El conocimiento del estadio de desarrollo más resistente a la vitrificación permitiría seleccionarlo como el ideal para ser sometido a la criopreservación. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar la viabilidad morfológica del embrión post vitrificación, de dos estadios de desarrollo (mórula y blastocito) de embriones murinos, determinando de esta manera la resistencia al proceso de criopreservación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se escogieron ratones hembra vírgenes (*Mus musculus*) de la cepa NIH, con un rango de edad entre 6 a 8 semanas, y ratones macho de la misma cepa, con una edad promedio de 8 semanas, a los cuales previamente se les comprobó su fertilidad. Las hembras fueron sometidas a un protocolo de superovulación y colecta de embriones, denominando día cero al inicio del

tratamiento hormonal, indistintamente de la fase del ciclo estral de la donadora, ya que no existe diferencia significativa en cuanto al número de embriones colectados en las diferentes fases del ciclo estral (Muñoz *et al.*, 1992). El protocolo superovulatorio se inició con la administración de una dosis de 10 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG; Folligon®, Intervet), por vía intraperitoneal entre las 14:00 y 16:00 h. Cuarenta y ocho horas después se aplicó una dosis de 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG; Pregnyl®, Organon), por vía intraperitoneal, colocando las hembras inmediatamente en contacto con machos enteros en relación 1:1. Dieciocho horas después se visualizó la presencia del tapón vaginal como indicador positivo de monta, siendo sólo estas hembras las que fueron posteriormente colectadas el día seis entre las 08:00 y 10:00 h. Para efectos de este trabajo experimental, se escogieron de dichas colectas solo los embriones de calidad excelente y congelable. La primera clasificación fue hecha siguiendo los parámetros descritos por Lidner y Wright (1983), quienes clasifican los embriones excelentes como embriones simétricos, esféricos, con células de tamaño, color y textura uniforme. La segunda clasificación se basó en los parámetros de Butler y Biggers (1989) quienes señalaron que los embriones congelables son aquellos en los que el estadio de desarrollo se corresponde con el estadio esperado al momento de la colecta, tomando en cuenta las horas transcurridas después de la fertilización.

Un total de 572 embriones murinos colectados, de excelente calidad y congelable, fueron sometidos al proceso de vitrificación, de los cuales la mitad presentaba el estadio de mórula ( $n = 286$ ) y la mitad restante el estadio de blastocito ( $n = 286$ ).

Durante la fase de equilibración (exposición a los crioprotectores) los embriones fueron sometidos a tres concentraciones de mezcla crioprotectora, incrementando gradualmente la concentración de los crioprotectores de la siguiente manera: paso 1: 10% glicerol (v/v, Sigma) durante 5 min, paso 2: 10% glicerol más 20% etilenglicol (v/v, Sigma) durante 5 min y paso 3: 25% glicerol más 25% etilenglicol (v/v, Sigma) durante 30 seg. Los embriones, de acuerdo a su estadio de desarrollo, se aspiraron en pajuelas mOPS (pajuela plástica de 0,25  $\mu$ L sometida a calor para ser reducido su diámetro interno aproximadamente a la mitad, al ser estirada), almacenando en 176 pajuelas 1, 2, 4 ó 6 embriones por pajuela y cerciorándose

que la columna de solución contentiva del embrión se ubicara en la porción mas delgada de la pajuela, separada por burbujas de aire, de dos columnas de solución de vitrificación, procediendo finalmente a sellar el extremo abierto con alcohol polivinílico.

Las pajuelas, en la fase de enfriamiento, se expusieron durante 3 min a vapores de nitrógeno líquido, antes de ser sumergidas en el material congelante, durante un tiempo promedio de 4 h. Durante la fase de calentamiento, la pajuela es sacada del nitrógeno líquido y mantenida durante aproximadamente 4 seg a temperatura ambiente e inmediatamente sumergida en agua, que posee una temperatura aproximada de 25°C, durante 8 seg. Tan pronto como la solución de vitrificación que contiene al embrión comienza a tomar una apariencia clara, la pajuela es removida del agua y secada rápidamente.

Durante la fase de dilución (remoción de los crioprotectores), el contenido de la pajuela se expuso a tres soluciones con concentraciones decrecientes de sucrosa (1, 0,5 y 0,25 M), manteniendo los embriones sumergidos por un lapso de 5 min en cada solución, tomando en cuenta en este paso la tasa de recuperación de embriones, es decir, el número de embriones obtenidos de la pajuela en relación al número de embriones cargados en la misma, previo al enfriamiento (Silva y Berland, 2004).

Finalmente, luego del proceso de dilución los embriones fueron evaluados con un microscopio invertido a una magnificación de 200X (Carl Zeiss), con el objeto de determinar la tasa de sobrevivencia morfológica (Edashige *et al.*, 1999; Hochi *et al.*, 2001), o también denominada tasa de embriones morfológicamente viables (Cocero *et al.*, 1996). Dicha tasa corresponde al número de embriones con todas las blastómeras morfológicamente intactas y la zona pelúcida íntegra, post vitrificación, y en el caso de los blastocitos con re-expansión del blastocelo (Mukaida *et al.*, 1998; 2001), todo esto con base en el número de embriones recuperados post vitrificación (Otsuka *et al.*, 2002). Asimismo, se procedió a cuantificar la presencia de anomalías morfológicas y los tipos de dichas anomalías.

### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron analizados aplicando estadística descriptiva, la prueba no paramétrica de

Kruskal Wallis y la prueba de proporciones con la ayuda del paquete estadístico SAS (1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa de recuperación total de embriones post vitrificación fue de 93,2% (533/572), perdiéndose solo el 6,8% (39/572) de los embriones durante el proceso de enfriamiento, calentamiento y dilución. Esta tasa de recuperación resultó superior a la reportada por Lazar *et al.* (2000) y Silva y Berland (2004), quienes obtuvieron para embriones bovinos producidos *in vitro* y vitrificados por la técnica OPS un 92,8% (108/117) y 83% (83/93), respectivamente, siendo igualmente superior (80%) a la reportada por Ratto *et al.* (1998) para embriones bovinos *in vitro* y vitrificados por la técnica tradicional, en pajuelas de 250  $\mu$ L sin estirar, y por Zhu *et al.* (1996) en embriones murinos vitrificados igualmente por la técnica tradicional (87%; 786/905).

Sin embargo, la tasa de recuperación obtenida fue similar a la reportada por Miyoshi *et al.* (1992) y Mukaida *et al.* (1998), la cual fue de 93 y 95,3% respectivamente, para embriones murinos vitrificados usando la técnica tradicional. En el caso de embriones bovinos obtenidos *in vitro*, vitrificados de manera tradicional, se reporta 95% de tasa de recuperación (Yang *et al.*, 1992), y para embriones humanos, vitrificados por una técnica similar, 97% (Van der Zwalmen *et al.*, 2002). De igual forma, Moussa *et al.* (2005), reportaron, en la especie equina, un mayor porcentaje de pérdida de embriones (9%), sometidos a la técnica OPS, al encontrado en este trabajo de investigación.

De acuerdo al estadio de desarrollo no existe diferencia significativa en relación a la tasa de recuperación ( $P>0,05$ ), siendo ésta de 92,6% (265/286) para las mórulas y 93,7% (268/286) para los blastocitos, resultados similares a los reportados por Van der Zwalmen *et al.* (2002) quienes recuperaron 54 mórulas de las 55 vitrificadas (98,1%) y recuperaron 108 blastocitos de los 112 vitrificados (96,4%).

Adicionalmente, no se evidenció diferencia significativa entre el total de 176 pajuelas vitrificadas ( $P>0,05$ ), indicando esto, que la tasa de recuperación fue constante y repetible durante todo el ensayo.

Del total de 533 embriones recuperados, 482 presentaron características morfológicamente

normales post vitrificación, representando un 90,4% (482/533), lográndose mantener un alto nivel de embriones morfológicamente normales, sin diferencia significativa ( $P>0,05$ ) entre las 176 pajuelas procesadas. La tasa de sobrevivencia morfológica obtenida resultó superior a la reportada por López-Béjar y López-Gatius (2000) en conejos, la cual fue de 79,5% (279/351) luego de ser vitrificados en forma tradicional, y a la reportada posteriormente para la misma especie (89,5%; 376/420) inmediatamente después de ser aplicada la técnica OPS modificada (López-Béjar y López-Gatius, 2002). De igual manera, nuestro resultado es superior al reseñado por Mukaida *et al.* (2001) quienes reportan 63% (38/60) de sobrevivencia morfológica en embriones humanos sometidos a la técnica "cryoloop", y por último al 86% (43/50), obtenido en embriones murinos vitrificados de manera tradicional por Otsuka *et al.* (2002). Sin embargo, existen investigaciones que reportan tasas similares de sobrevivencia morfológica (97%) en embriones murinos de dos células sometidos a vitrificación tradicional (Edashige *et al.*, 1999).

Con relación al estadio de desarrollo y la apariencia morfológica del embrión post vitrificación, obtuvimos que un mayor número de embriones (250/268; 93,3%;  $P<0,05$ ), en estadio de blastocito, conservó la apariencia morfológica normal, cuando se comparó con los embriones en estadio de mórula (232/265; 87,5%; Cuadro 1).

Cocero *et al.* (1996) reportaron diferencia en la sobrevivencia morfológica dependiendo del estadio de desarrollo en embriones ovinos sometidos a congelación lenta, siendo este parámetro superior en blastocitos (86,0%; 80/93) y significativamente inferior en mórulas (65,6%; 88/134). Esta diferencia se corresponde con la obtenida en esta investigación.

Con relación a las anomalías morfológicas se evidenció en un 9,6% (51/533) del total de embriones recuperados, siendo la tasa de embriones morfológicamente normales y anormales, diferente significativamente ( $P<0,05$ ).

En este reducido número de embriones morfológicamente anormales (51/533) fueron identificados, a través de microscopía de luz, seis tipos de alteraciones morfológicas. En este sentido, de los 533 embriones recuperados dos de ellos presentaron pérdida de la esfericidad (0,3%), es decir, luego del proceso de criopreservación, el embrión presentó una

Cuadro 1. Número (n) y porcentaje de embriones murinos post vitrificación morfológicamente viable y no viable de acuerdo a su estadio de desarrollo

Estadio de desarrollo	Viables		No viables	
	n	%	n	%
Mórulas	232	87,5b†	33	12,5a
Blastocitos	250	93,3a	18	6,7b

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

aparición aplanada en un eje y una forma ligeramente cuadrada en el eje perpendicular. Igual número de embriones (2; 0,3%) exhibió ausencia parcial de la zona pelúcida, refiriéndose a aquellos embriones que perdieron un fragmento de la cubierta glicoproteica. Sin embargo, fue superior el número de embriones (4; 0,7%) que solamente presentó fractura de zona pelúcida, definiéndose esta anomalía como la presencia de una o más fisuras en la zona pelúcida. Al agrupar los dos distintos daños de la zona pelúcida se obtuvo el 1% (6/533) de los embriones anormales. Otra anomalía morfológica, como es la presencia de células extruidas, referida a la ubicación de más de dos blastómeras fuera de la masa celular, fue encontrada en ocho embriones (1,5%). Un 3% de los embriones recuperados (16/533) mostró degeneración parcial de la masa celular, es decir, presencia del 50% o menos de las blastómeras con citoplasma granular y membrana plasmática indistinguibles. Por último, la presencia de embriones con degeneración total, en los cuales más del 50% de las blastómeras se encontraban degeneradas, fue la anomalía más frecuente (3,5%; 19/533).

El número de fracturas de la zona pelúcida encontrado en nuestra investigación fue considerablemente inferior al reportado en otras especies mamíferas por Silva y Berland (2004) para embriones bovinos obtenidos *in vitro* y vitrificados por la técnica OPS (4,8%) y por Moussa *et al.* (2005) para embriones equinos sometidos a la misma técnica (10%). Sin embargo, nuestros resultados con relación a la pérdida de zona pelúcida son ligeramente superiores a los reportados para la especie bovina (0%) por Vajta *et al.* (1998) y por Lazar *et al.* (2000), e inferiores a los obtenidos por Vajta *et al.* (1997) para la misma especie (1%), y por Mukaida *et al.* (1998) para

embriones murinos de 8 células (1,6%), vitrificados de forma tradicional.

De acuerdo a la aparición de daño embrionario, dependiendo del estadio de desarrollo entre mórula y blastocito, este último estadio presentó la menor tasa de anomalías (6,7%; 18/268), resultando inferior significativamente ( $P < 0,05$ ) a la tasa encontrada para embriones en estadio de mórula (12,5%; 33/265; Cuadro 1). La presencia de alguno de los seis tipos de anomalías no difirió ( $P > 0,05$ ) dependiendo del estadio de desarrollo (Cuadro 2), pero si fue encontrada una diferencia numérica favoreciendo a los embriones en estadio de desarrollo de blastocito con niveles inferiores o iguales en las seis anomalías encontradas, resultado que difiere del reportado por Van der Zwalm *et al.* (2002), quienes obtuvieron un 25,9% (14/54) de degeneración parcial, después del calentamiento, en embriones humanos en estadio de mórula, vitrificados por la técnica tradicional y un porcentaje mayor (52,7%; 57/108) para el estadio de desarrollo de blastocito.

Del total de 176 pajuelas vitrificadas, en 131 de ellas, todos los embriones almacenados presentaron morfología normal, representando un 74,4%, siendo esto significativamente superior ( $P < 0,05$ ) al total de pajuelas con presencia de al menos un embrión morfológicamente anormal (25,6%).

Igualmente, del total de 176 pajuelas procesadas, la mitad ( $n = 88$ ) fue cargada con embriones en estadio de desarrollo de mórula y la otra mitad fue cargada con embriones en estadio de blastocito, observándose que la tasa de embriones morfológicamente normales y anormales, por pajuela, entre los estadios de desarrollo evaluados, no difirió ( $P > 0,05$ ).

Cuadro 2. Número (n) y porcentaje de mórulas y blastocitos murinos de acuerdo a los tipos de anomalías post vitrificación.

Tipo de anomalía	Mórulas		Blastocitos		P
	n	%	n	%	
Pérdida de la esfericidad	2	0,7	0	0	ns†
Fractura de zona pelúcida	2	0,7	2	0,7	ns
Ausencia parcial de zona pelúcida	1	0,3	1	0,3	ns
Células extruidas	4	1,5	4	1,4	ns
Parcialmente degenerados	9	3,4	7	2,6	ns
Degenerados totalmente	15	5,6	4	1,4	ns

† ns: No significativo

La descripción morfológica, bajo microscopía de luz, inmediatamente después de la dilución de los embriones, nos permite evaluar el proceso de vitrificación y a su vez, sirve como un estimador práctico de la viabilidad de los embriones, idea respaldada por reportes que correlacionan de manera significativa la presencia de embriones humanos, parcialmente degenerados, con tasas de re-expansión in vitro inferiores (43,7%; 369/844), comparadas con embriones morfológicamente intactos (79%; 1164/1474; Van der Abbeel y Van Steirteghem, 2000). De igual manera, Rüllicke y Autenried (1995) reportan que la presencia de una anomalía morfológica (degeneración parcial de la masa celular), detectada inmediatamente después de la criopreservación en embriones murinos, permite predecir una baja tasa de re-expansión in vitro (61,5%; 32/52), al compararla con embriones en similares condiciones pero con características morfológicas normales post criopreservación (86,4%; 319/369). Igual comportamiento fue presentado cuando transfirieron embriones murinos a hembras receptoras, logrando en un 26,1% (23/88) la culminación de la gestación con embriones parcialmente degenerados, resultado inferior al logrado con embriones intactos (53,4%; 47/88).

### CONCLUSIONES

Los resultados presentados, constituyen las primeras experiencias de vitrificación en embriones murinos a nivel nacional. Se evidenció que el mayor número y mejor desarrollo celular de los blastocitos coincidió con un nivel más elevado de integridad

morfológica, cuando fueron criopreservados; por lo que el estadio de desarrollo influye significativamente sobre la viabilidad embrionaria post vitrificación. La técnica de criopreservación por vitrificación constituye una alternativa para la preservación de embriones, siendo repetible, de fácil ejecución, costo-eficiente y con requerimientos mínimos de insumos.

### LITERATURA CITADA

- Butler J.E. y J.D. Biggers. 1989. Assessing the viability of preimplantation embryo in vitro. *Theriogenology*, 31: 115-126.
- Cocero M.J., A. Lopez, M.L. Barragan y R.A. Picazo. 1996. Differences on post – thawing survival between ovine morulae and blastocysts cryopreserved with ethylene glycol or glycerol. *Cryobiology*, 33: 502-507.
- Dobrinsky J.R. 2002. Advancements in cryopreservation of domestic animal embryos. *Theriogenology*, 57: 285-302.
- Edashige K., A. Asano, T. Zhu y M. Kasai. 1999. Restoration of resistance to osmotic swelling of vitrified mouse embryo by short – term culture. *Cryobiology*, 38: 273-280.
- Hochi,S., M. Akiyama, G. Minagawa, K. Kimura y A. Hanada. 2001. Effects of cooling and warming rates during vitrification on fertilization of in vitro – matured bovine oocytes. *Cryobiology*, 41: 69-73.

- Lazar L., J. Spak y V. David. 2000. The vitrification of *in vitro* fertilized cow blastocysts by the open pulled straw method. *Theriogenology*, 54: 571-578.
- Leibo S.P., A. Martino, S. Kobayashi y J.W. Pollard. 1996. Stage-dependent sensitivity of oocytes and embryos to low temperatures. *Anim. Rep. Sci.*, 42: 45-53.
- Lidner G. y R. Wright Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20: 407-416.
- López-Béjar M. y F. López-Gatius. 2000. *In vitro* and *in vivo* survival of vitrified rabbit embryos. *Theriogenology*, 53: 259 (Abstr.).
- López-Béjar M. y F. López-Gatius. 2002. Nonequilibrium cryopreservation of rabbit embryos using a modified (sealed) open pulled straw procedure. *Theriogenology*, 58: 1541-1552.
- Miyoshi I., K. Ishikawa, M. Kasai y N. Kasai. 1992. A practical transport system for mouse embryos cryopreserved by simple vitrification. *Lab. Anim. Sci.*, 42: 323-325.
- Moussa M., I. Bersinger, P. Doligez, F. Guignot, G. Duchamp, M. Vidament, P. Mermillod y J. Bruyas. 2005. *In vitro* comparisons of two cryopreservation techniques for equine embryos: Slow-cooling and open pulled straw (OPS) vitrification. *Theriogenology*, 64: 1619-1632.
- Mukaida T., S. Nakamura, T. Tomiyama, S. Wada, M. Kasai y K. Takahashi. 2001. Successful birth after transfer of vitrified human blastocysts with use of a cryoloop containerless technique. *Fert. Ster.*, 76: 618-620.
- Mukaida T., S. Wada, K. Takahashi, P.B. Pedro, T.Z. An y M. Kasai. 1998. Vitrification of human embryos based on the assessment of suitable conditions for 8-cell mouse embryos. *Human Repr.*, 13: 2874-2879.
- Muñoz I., A. Gutiérrez, C. Rodríguez y B. Pintado. 1992. Influencia del ciclo estral sobre la respuesta a tratamientos de superovulación en ratonas. *Rev. Exp. Anim.*, 3: 121-125.
- Otsuka J., A. Takahashi, M. Nagaoka y H. Funabashi. 2002. Optimal equilibration conditions for practical vitrification of two-cell mouse embryos. *Comp. Med.*, 52: 342-346.
- Prather R.S. y N.L. First. 1988. A review of early mouse embryogenesis and its applications to domestic species. *J. Anim. Sci.*, 66: 2626-2635.
- Rall W.F. 1992. Cryopreservation of oocytes and embryos: methods and applications. *Anim. Repr. Sci.*, 28: 237-245.
- Ratto M., M. Berland, M. Wolter, M. Silva y R. Matamoros. 1998. Vitrificación de embriones bovinos: Antecedente preliminar. *Arch. Med. Vet.*, 30: 187-188.
- Rülicke T. y P. Autenried. 1995. Potential of two-cell mouse embryos to develop to term despite partial damage after cryopreservation. *Lab. Anim.*, 29: 320-326.
- SAS. 1998. SAS/STAT User's guide. Release 6.03. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Shaw J.M. y G.M. Jones. 2003. Terminology associated with vitrification and other cryopreservation procedures for oocytes and embryos. *Human Repr. Update*, 9: 583-605.
- Silva M.E. y M.A. Berland. 2004. Vitrificación de blastocitos bovinos producidos *in vitro* con el método open pulled straw (OPS): Primer reporte. *Arch. Med. Vet.*, 36: 79-85.
- Vajta G., P.J. Booth, P. Holm, T. Greve y H. Callesen. 1997. Successful vitrification of early stage bovine *in vitro* produced embryos with the open pulled straw (OPS) method. *Cryo-letters*, 18: 191-195.
- Vajta G., I.M. Lewis, M. Kuwayama, T. Greve y H. Callesen. 1998. Open pulled straw (OPS) vitrification: A new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol. Repr.Dev.*, 51: 53-58.
- Van der Abbeel E. y A. Van Steirteghem. 2000. Zona pellucida damage to human embryos after cryopreservation and the consequences for their blastomere survival and *in vitro* viability. *Human Repr.*, 15: 373-378.

- Van der Zwalmen P., G. Bertin, Ch. Debauche, V. Standaert, E. Van Roosendaal, M. Vandervorst, N. Bollen, H. Zech, T. Mukaida, K. Takahashi y R. Schoysman. 2002. Births after vitrification at morula and blastocyst stages: effect of artificial reduction of the blastocoelic cavity before vitrification. *Human Repr.*, 17: 744-751.
- Yang N.S., K.H. Lu, I. Gordon y C. Polge. 1992. Vitrification of bovine blastocysts produced in vitro. *Theriogenology*, 37: 326 (Abstr.).
- Zhu S.E., T. Sakurai, K. Edashige, T. Machida y M. Kasai. 1996. Cryopreservation of zona-hatched mouse blastocysts. *J. Repr. Fert.*, 107: 37-42.

## Eficacia *in vitro* del amitraz sobre poblaciones de *Boophilus microplus* provenientes de explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela

Maribel J. Bravo\*, Alfredo Coronado y Humberto Henríquez

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Decanato de Ciencias Veterinarias. Unidad de Investigación en Parasitología Veterinaria. Barquisimeto, Lara, Venezuela. \*Correo-E: mbravo@ucla.edu.ve

### RESUMEN

El amitraz es un principio activo ampliamente utilizado en Venezuela para el control de garrapatas en bovinos, habiéndose detectado fallas en el control de la especie *Boophilus microplus*. El objetivo de este trabajo fue determinar la eficacia *in vitro* del amitraz en *B. microplus* utilizando cinco concentraciones distintas, incluyendo la terapéutica (208 ppm). Se utilizaron 240 teleoginas colectadas de cuatro explotaciones lecheras del estado Lara, en número de 60 por finca y divididas en grupos de 10 cada uno, con un peso promedio de 220 mg/garrapata. Se realizó el test de inmersión de adultos a cinco grupos con una preparación comercial de amitraz (12,5%) a las concentraciones de 52, 104, 208, 416 y 832 ppm, sumergiéndolas por tres minutos en cada preparación. El grupo control fue sumergido en agua. Durante 18 días se incubaron a una temperatura promedio de 27°C y humedad relativa de 85%. Posteriormente se pesó la masa total de huevos producidos por cada grupo y se incubaron por 21 días. Se realizó el conteo de larvas emergidas y huevos que no eclosionaron en cada tubo y se estimó el porcentaje de eclosión para luego calcular la eficiencia reproductiva, eficacia y factor de resistencia. Las cuatro poblaciones de *B. microplus* estudiadas resultaron resistentes a amitraz, no encontrándose diferencias significativas entre la eficacia de la concentración recomendada por los fabricantes y la de concentraciones superiores de amitraz.

*Palabras clave:* *Boophilus microplus*, Venezuela, amitraz, resistencia, eficacia.

### *In vitro* efficacy of amitraz on *Boophilus microplus* from dairy farms in Lara state, Venezuela

### ABSTRACT

In Venezuela, the acaricide amitraz is widely used to control tick infestations in cattle, and therapeutic failures in the control of the *Boophilus microplus* species have been detected. The aim of this work was to determine the *in vitro* efficacy of amitraz on *B. microplus* using five different concentrations, including the manufacturer's recommended dosage (208 ppm), through the adult immersion test (Drummond test). A sample of 240 engorged females was collected from dairy farms in Lara state, (60 ticks/farm), divided in groups of 10 ticks averaging 220 mg/tick. Commercial amitraz formulation (12.5%) was used to prepare the working concentrations of 52, 104, 208, 416 and 832 ppm. The control group was submerged in water. Ticks were placed in glass lamina and incubated at 27°C and 85% R.H for 18 days. The eggs masses were collected, weighted, separated in vials and allowed to hatch at 85% R.H. and 27° C for 21 days. Both the emerged larvae and eggs were quantified in each tube in order to determine the reproductive efficiency, efficacy percentage and the resistance factor. The four populations of *B. microplus* studied were resistant to amitraz. Statistical significant differences between the effectiveness of highest concentration of amitraz and that recommended by the manufacturer were not observed.

*Keywords:* *Boophilus microplus*, Venezuela, amitraz, resistance, efficacy.

## INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción ganadera ubicados en regiones tropicales y subtropicales del mundo, las afecciones por ectoparásitos son consideradas como una causa importante de pérdidas en la producción debido a daños como morbilidad y mortalidad de los animales y altos costos de control (FAO, 2003). Los antiparasitarios externos se han usado por décadas para el control de garrapatas y en sus comienzos se destacaron por su alta efectividad, lo que postergó la adopción de otras alternativas (Errecalde *et al.*, 2003). El manejo inadecuado de estos productos resultó en el surgimiento de fallas terapéuticas en el control de *Boophilus microplus* y con ello el de cepas resistentes de estos ectoparásitos. La baja eficacia de los productos utilizados condujo al incremento en la concentración y la frecuencia de aplicación de acaricidas, dos estrategias que se traducen en una mayor presión de selección y en mayores niveles de resistencia.

El amitraz es un compuesto químico perteneciente a las formamidinas y ha sido usado desde 1960 por su habilidad de imitar la acción del neurotransmisor octopamina en los artrópodos, causando sobre estimulación sináptica (Goldman *et al.*, 1999). Su eficacia radica en la capacidad de inhibir la oviposición en las hembras ingurgitadas, interfiriendo en su ciclo evolutivo (Booth, 1989). Es uno de los principios activos más usado como acaricida en los últimos años, lo que ha ocasionado el surgimiento de poblaciones de *B. microplus* resistentes. Esta situación ha sido reportada por varios autores en diversas partes del mundo (Kunz y Kemp, 1994; Coronado y Mujica, 1997; Foil *et al.*, 2004; Campos y De Oliveira, 2005; Pereira, 2006).

Debido a los reportes de fallas terapéuticas de este principio en varias explotaciones lecheras del estado Lara, surgió la necesidad de estudiar la situación actual de resistencia y cómo el diagnóstico de la misma podría contribuir al establecimiento de mejores estrategias que reduzcan los costos de control de ectoparásitos en el ganado y por ende los costos de producción. Como parte de este estudio, el siguiente trabajo tuvo como objetivo determinar la eficacia *in vitro* de diferentes concentraciones de amitraz sobre adultos de *B. microplus* provenientes de cuatro fincas lecheras del estado Lara, Venezuela, y con

ello determinar si existe resistencia a este principio activo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población y muestra

El experimento fue realizado en garrapatas, *B. microplus*, colectadas en cuatro fincas lecheras: las fincas 1 y 2 están ubicadas en Duaca, Municipio Crespo, Sector los Chispes (10° 15' 13,48" N y 69° 06' 37,63" O), a 935 msnm, con vegetación de Matorral y clima continental estacional. La finca 3 se ubica en Sarare, Municipio Simón Planas (9° 47' 28,13" N y 69° 09' 57,71" O), a 297 msnm y la finca 4 esta ubicada en Manzanita, Municipio Simón Planas, Parroquia Buría (9° 57' 48,65" N y 68° 58' 32,91" O), a 331 msnm. Las dos últimas fincas poseen vegetación intervenida, áreas de bosque y con clima continental estacional; todas en el estado Lara (Fudeco, 1986). Las muestras fueron colectadas entre los meses de Octubre a Mayo cuando existe una mayor incidencia de garrapatas (Gallardo y Morales, 1999). Se seleccionaron al azar teleoginas (hembras adultas ingurgitadas) de *B. microplus* tomadas directamente de la piel de los bovinos de las fincas en estudio. Se colocaron en envases identificados y se llevaron al Laboratorio de Parasitología Veterinaria del Decanato de Ciencias Veterinarias para su procesamiento en las siguientes 24 horas.

### Determinación del peso de la masa total de huevos (PMTH) y porcentaje de eclosión

Se seleccionaron 60 garrapatas por finca, las cuales fueron colocadas por separado en un colador de acero inoxidable y se lavaron con agua, luego fueron secadas con papel absorbente y se pesaron individualmente en una balanza analítica (peso promedio de 220 mg/garrapata). Se dividieron en grupos de 10 garrapatas (Drummond *et al.*, 1973) conformando 6 grupos, con pesos homogéneos por finca. Se prepararon 30 mL de cada solución del amitraz, utilizando la dosis recomendada internacionalmente de 208 ppm y las concentraciones de 52, 104, 416 y 832 ppm. Cada grupo de teleoginas se trató individualmente, por una sola vez, utilizando la técnica de inmersión de adultos descrita por Drummond *et al.* (1973), donde se sumergen las garrapatas por 3 minutos en la solución del acaricida; el grupo control fue tratado

con agua. Inmediatamente fueron secadas con papel absorbente, pesadas individualmente y pegadas por su parte dorsal sobre cintas de papel adhesivo en placas de vidrio identificadas con los datos de grupo, producto utilizado, concentración, fecha de tratamiento y procedencia. Se colocaron en una cabina de incubación a una temperatura de 27°C y humedad relativa de 85% por 18 días. Luego, la masa total de huevos producidos por cada garrapata se pesó en balanza electrónica y se colectó en tubos de ensayo, al final del período de oviposición (ootoquia). Los tubos fueron identificados, tapados con algodón y mantenidos bajo las mismas condiciones de humedad y temperatura señaladas anteriormente durante 21 días. Se estimó el porcentaje de eclosión cuantificando los huevos y larvas contenidas en cada tubo con la ayuda de la lupa estereoscópica, una cápsula de Petri cuadrada y un contador manual.

#### **Determinación de la eficiencia reproductiva (ER), eficacia y factor de resistencia**

Con los datos del peso de cada garrapata, el peso de la masa de huevos producidos y el porcentaje de eclosión, se calculó la eficiencia reproductiva (ER), valor que expresa la capacidad de una teleogina para transformar su peso corporal en larvas viables. La ER es un valor necesario para calcular la eficacia del acaricida. Se utilizó la fórmula siguiente (Drummond *et al.*, 1973):

$$ER = \frac{\text{Peso de los huevos}}{\text{Peso de las garrapatas}} \times \% \text{Eclosión}$$

La eficacia o porcentaje de control se calculó según la fórmula de Abbot (1925):

$$\text{Eficacia} = \frac{ER \text{ control} - ER \text{ tratado}}{ER \text{ control}} \times 100$$

El factor de resistencia se calculó dividiendo la eficacia esperada (100) entre la eficacia obtenida con la dosis terapéutica (208 ppm).

#### **Análisis estadístico**

Los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS para Windows (SPSS, 2002) a los cuales se aplicó un análisis descriptivo y Prueba C de Dunnett para varianzas distintas. Las medias fueron consideradas estadísticamente significativas con  $P \leq 0,01$  (Pardo y Ruiz, 2002).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la población de garrapatas de la finca 1 el PMTH en los grupos tratados con dosis de 416 y 832 ppm fue significativamente menor que en el grupo control y el grupo tratado con la dosis de 52 ppm ( $P \leq 0,01$ ). No se observaron diferencias significativas entre los grupos tratados a las dosis de 104, 208, 416 y 832 ppm. En la finca 2, el PMTH fue menor en forma significativa en el grupo tratado con dosis 832 ppm con respecto al grupo control ( $P \leq 0,01$ ); mientras que en la finca 3 los valores fueron significativamente menores en todos los grupos tratados con respecto al grupo control ( $P \leq 0,01$ ). En las fincas 2, 3 y 4 no se observaron diferencias en el PMTH entre los grupos tratados con las concentraciones de 52, 104, 208, 416 y 832 ppm (Cuadro 1).

La eficiencia reproductiva fue significativamente menor en los grupos tratados con dosis de 416 y 832 ppm con respecto al control y al grupo tratado con 52 ppm en la finca 1. En las fincas 2 y 3 se encontraron diferencias significativas entre todos los grupos tratados con respecto al grupo control. En la finca 4 no se observaron diferencias significativas en los grupos (Cuadro 1).

En la finca 1 la media del porcentaje de eficacia fue significativamente menor en el grupo tratado con 52 ppm con respecto al resto de los grupos tratados con amitraz ( $P \leq 0,01$ ), no se observaron diferencias significativas entre las dosis de 104, 208, 416 y 832 ppm. En la finca 4 se observaron diferencias significativas entre el grupo tratado con 52 ppm con respecto a los tratados con 208 y 416 ppm (Cuadro 2).

Las cuatro fincas presentaron factores de resistencia mayores a 1,1, lo cual es indicativo de resistencia al acaricida (FAO, 2004). La finca 4 mostró un factor de resistencia alto, en comparación con las otras fincas estudiadas (Cuadro 2).

El uso continuo de acaricidas, así como el incremento en las dosis recomendadas por los fabricantes son dos de las principales causas de selección de resistencia (Mekonnen *et al.*, 2002). En la evaluación *in vitro* realizada, el aumento de la concentración del amitraz no se tradujo en variaciones importantes en los parámetros evaluados. El amitraz redujo la ER en los grupos tratados con respecto al control en tres de las fincas evaluadas; sin

Cuadro 1. Media del peso de la masa total de huevos (PMTH) y eficiencia reproductiva en *B. microplus* tratadas con amitraz.

Tratamiento	PMTH Finca				Eficiencia Reproductiva Finca			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	----- mg -----				----- % -----			
52	114,07ac†	72,04b	85,29a	93,21a	44,96ac	36,49a	20,35a	47,52a
104	101,04abc	48,83b	83,76a	77,13a	26,96a	25,45a	11,11a	40,40a
208	80,34abc	42,34b	57,12a	87,64a	24,26a	26,58a	8,39a	48,16a
416	56,98b	54,93b	47,22a	72,35a	14,94b	31,47a	8,03a	32,51a
832	59,40b	34,84a	67,37a	70,07a	17,85b	16,53a	15,72a	35,80a
Control	124,07c	80,13b	144,75b	94,43a	51,86c	56,43b	52,05b	52,35a

† Medias con letras distintas en la columna son diferentes ( $P \leq 0,01$ ).

Cuadro 2. Eeficacia y factor de resistencia en *B. microplus* tratadas con amitraz.

Tratamiento	Eficacia Finca				Factor de resistencia Finca			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	----- % -----							
52	14,64a†	35,32a	60,10a	13,50a				
104	47,29b	52,35a	79,31a	24,08ab				
208	53,48b	55,00a	83,75a	10,25a	1,86	1,81	1,19	9,75
416	71,76b	45,72a	83,43a	38,00b				
832	66,82b	73,10a	70,55a	31,67b				
Control	N/A	N/A	N/A	N/A				

N/A: no aplica

† Medias con letras distintas en la misma columna son diferentes ( $P \leq 0,01$ ).

embargo, no se observaron variaciones significativas de la ER entre grupos tratados con dosis superiores e inferiores a la terapéutica en ningún caso, lo que puede indicar que en poblaciones resistentes de *B. microplus* la ER no es afectada de la misma forma que en poblaciones susceptibles a este principio activo en las cuales hay una marcada reducción de la oviposición (Booth, 1989). La eficacia del amitraz no aumentó al incrementar la concentración, práctica esta muy común a nivel de campo cuando se comienzan a detectar fallas con el uso de los productos empleados en el control de ectoparásitos. Los grupos tratados con las concentraciones más altas (416 y 832 ppm) mostraron valores inferiores a la eficacia mínima aceptada internacionalmente, la cual debe ser igual o mayor de 90% (FAO, 2004).

La resistencia a acaricidas tiene un impacto importante sobre la incidencia de enfermedades

causadas por hemoparásitos como *Babesia bovis* y *B. bigemina* transmitidos por garrapatas (Foil *et al.*, 2004) ya que se ha demostrado que existe una alta correlación entre la carga parasitaria de *B. microplus* y la tasa de inoculación de estos hemoparásitos (Ribera-Cuellar *et al.*, 2000). Por otra parte, las garrapatas de un hospedador, como es el caso de *B. microplus*, desarrollan resistencia más rápidamente que las de múltiples hospedadores debido a que tienen más contacto con el acaricida (Mekonnen *et al.*, 2002). La reducción del número de garrapatas disminuye las enfermedades en el ganado lechero y reduce los costos de control (Foil *et al.*, 2004). Los resultados de este estudio revelan el creciente problema de resistencia que se está generando en fincas del estado Lara y coincide con los datos reportados por otros autores en países de América (Santamaría *et al.*, 2003; Foil *et al.*, 2004; Campos y De Oliveira, 2005; Rodríguez *et*

*al.*, 2006). Por otra parte, se observa que el grado de resistencia es variable entre fincas y probablemente está relacionado con los antecedentes de control en cuanto a frecuencia y grupos de acaricidas usados previamente en cada explotación. Esto evidencia la importancia de realizar el diagnóstico individual de resistencia a acaricidas para poder tomar decisiones más acertadas en cuanto a la estrategia a seguir para lograr el control de estos ectoparásitos.

Es necesario dar a conocer la importancia del diagnóstico de resistencia o de susceptibilidad a acaricidas para tomar las medidas oportunas y reducir las consecuencias de este fenómeno. Una de las medidas podría ser la implementación del control integrado empleando varias alternativas para disminuir el número de garrapatas por animal, como por ejemplo, el uso conjunto de acaricidas y de vacunas contra *B. microplus* que inducen una buena respuesta protectora, tal como se demostró en un estudio donde se logró una reducción en la frecuencia de baños de cada 14 días a 64 días en animales tratados con la vacuna recombinante contra la garrapata *B. microplus* (Redondo *et al.*, 1999). Se han identificado nuevos antígenos protectores contra la garrapata *B. microplus* con el fin de elaborar nuevas vacunas (De la Fuente *et al.*, 2007a).

El desarrollo de mejores vacunas en el futuro se verá muy fortalecido por las nuevas y eficientes tecnologías moleculares para el descubrimiento de antígenos y de la urgente necesidad de un método de control de garrapatas para reducir o sustituir el uso de acaricidas, especialmente en las regiones donde se ha producido la resistencia de garrapatas (De la Fuente *et al.*, 2007b). El uso de vacunas no se ha generalizado debido a que no reduce drásticamente el número de garrapatas por animal. Sin embargo, a mediano plazo podría disminuir el tamaño de las poblaciones a nivel de campo, y consecuentemente en los animales. Si adicionalmente se combina su uso con otras estrategias como descanso y rotación de potreros, su efecto podría verse multiplicado.

### CONCLUSIONES

El amitraz redujo la eficiencia reproductiva en las poblaciones de *Boophilus microplus* estudiadas. El incremento de la concentración del amitraz

por encima de la dosis terapéutica, no produjo un aumento significativo de la eficacia. Las poblaciones examinadas presentaron diferentes grados de resistencia al amitraz.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al CDCHT – UCLA por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto (014-VE-2005) y al Profesor Ortelio Mosquera por sus sugerencias en el análisis estadístico.

### LITERATURA CITADA

- Abbott W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18: 256-257.
- Booth T. 1989. Effects of biogenic amines and adrenergic drugs on oviposition in the cattle tick *Boophilus*: Evidence for optopaminergic innervation of the oviduct. *Exp. Applied Acarology*, 7: 259-266.
- Campos D. y P. De Oliveira. 2005. Avaliação in vitro da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. *Ciência Rural*, 6(35): 1386-1392.
- Coronado A. y F. Mujica. 1997. Resistencia a acaricidas en *Boophilus microplus* en Venezuela. *Gaceta Cien. Vet.*, 3(1): 5-14.
- De la Fuente J., C. Almazan, M. Canales, J. Pérez, K. Tocan y P. Willadsen. 2007a. A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. *Anim. Health Res. Rev.*, 8(1): 23- 28.
- De la Fuente J., K. Tocan y E. Blouin. 2007b. Tick vaccines and the transmission of tick-borne pathogens. *Vet. Res, Commun.*, 31(1): 85-90.
- Drummond R., S. Ernst, J. Trevino, W. Gladney y O. Graham. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 66:130-133.
- Errecalde C., G. Prieto, C. Lüders y H. García. 2003. Naturaleza y control de la quicio resistencia en ectoparásitos. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 16: 257-267.

- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Producción y sanidad animal. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. Estudio FAO 157. Roma.
- FAO. 2004. Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants. Agriculture Department. Module 1. Ticks: Acaricide resistance, diagnosis, management and prevention. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Animal Production and Health Division, Roma. pp. 40-45.
- Foil L.D., P. Coleman, M. Eisler, H. Fragoso, Z. García-Vazquez y F. Guerrero. 2004. Factor that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol.*, 125(1-2): 163 -181.
- Fudeco. 1986. Mapa de vegetación, clima y suelos del estado Lara. Análisis ambiental de la Región Centroccidental. Fudeco. Barquisimeto.
- Gallardo J. y J. Morales. 1999. Incidencia de *Boophilus microplus* y *Amblyomma cajennense* y dinámica poblacional de *B. microplus* (Acari: Ixodidae) en el Municipio Morán, estado Lara. *Bioagro*, 11(2): 51-60.
- Goldman J., T. Stoker y R. Cooper. 1999. Neuroendocrine and reproductive effects of Contemporary – use pesticide. *Tox. Indus. Health*, 15: 26-36.
- Kunz S.E. y D.H. Kemp. 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental. *Rev. Sci. Tech.*, 13(4): 1249-1286.
- Mekonnen S., N. Bryson, L. Fourie, R. Peter, A. Spickett, R. Taylor. T. Strydom y I. Horak. 2002. Acaricide resistance profiles of single and multi-host ticks from communal and commercial farming areas in the Eastern Cape and North-West Provinces of South Africa. *Onder. J. Vet. Res.*, 69: 99-105.
- Pardo A. y M. Ruiz. 2002. Comparaciones múltiples post hoc. SPSS 11 Guía para el análisis de datos. Mc Graw Hill. Madrid, España.
- Pereira J.R. 2006. *In vitro* efficacy of comercial formulations of ixodicides in engorged female of *Boophilus microplus* collected of dairy cattle at Paraiba valley in the state of Sao Paulo. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 15: 45-48.
- Redondo M., H. Fragoso, M. Ortiz, C. Montero, J. Lona y J. Medellín. 1999. Integrated control of acaricide-resistant *Boophilus microplus* populations on grazing cattle in Mexico using vaccination with Gavac™ and amidine treatments. *Exp. Appl. Acarol.*, 23: 841- 849.
- Ribera-Cuellar H., A. Cuellar, G. Barba, J. Carrique-Mas y A. Walker. 2000. Estudio sobre babesiosis y anaplasmosis en relación con la carga de garrapatas en terneros lecheros del oriente boliviano. *Vet. Mex.*, 31(1): 39-46.
- Rodriguez - Vivas R., F. Rodriguez - Arevalo, M. Alonso-Diaz, H. Fragoso-Sanchez, V. Santamaría y M. Rosario-Cruz. 2006. Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the State of Yucatan, Mexico. *Prev. Vet. Med.*, 75: 280-286.
- Santamaría M., N. Soberanes, H. Fragoso, J. Martins y C. Cordovés. 2003. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à amitraz. *Ciencia Rural*, 33: 737-74.
- SPSS. 2002. SPSS para Windows. Ver. 11.5.1. Chicago, USA.

## Susceptibilidad de larvas y adultos de *Boophilus microplus* al ixodicida coumafos en explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela

Maribel J. Bravo\*, Alfredo Coronado y Humberto Henríquez

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" Decanato de Ciencias Veterinarias. Unidad de Investigación en Parasitología Veterinaria. Barquisimeto, Lara, Venezuela. \*Correo electrónico: mbravo@ucla.edu.ve

### RESUMEN

La garrapata *Boophilus microplus* está distribuida por todo el mundo y es de gran importancia económica por las pérdidas que ocasiona en rebaños bovinos. El objetivo de este trabajo fue determinar la susceptibilidad *in vitro* al coumafos en cuatro poblaciones de garrapatas adultas, utilizando cinco concentraciones distintas de este principio activo, incluyendo la recomendada por el fabricante (terapéutica), y el porcentaje de mortalidad en larvas utilizando dosis terapéutica. Se utilizaron 240 teleoginas (garrapatas hembras adultas ingurgitadas) de cuatro fincas lecheras del estado Lara, un total de 60 garrapatas/finca divididas en grupos de 10 c/u, conformando 6 grupos/finca; fueron tratados individualmente cinco grupos con coumafos a las concentraciones de 125, 250, 500, 1.000 y 2.000 ppm y un grupo control con agua solamente, utilizando la técnica de inmersión de adultos. Larvas obtenidas de esta misma población fueron sometidas a la técnica de inmersión de larvas de Shaw. La media del peso de la masa total de huevos fue menor en forma significativa en los grupos tratados con concentraciones de 1000 y 2000 ppm de coumafos con respecto al grupo control en la finca 1. No se observaron diferencias entre los grupos tratados a las concentraciones de 125, 250, 500, 1.000 y 2.000 ppm en las cuatro poblaciones de garrapatas estudiadas por separado. La eficacia no presentó diferencias significativas entre los grupos tratados con las cinco concentraciones evaluadas en cada finca; el incremento de la concentración de coumafos no fue directamente proporcional a la eficacia. Los adultos de *B. microplus* resultaron resistentes al coumafos; sin embargo, se observó un 100% de mortalidad en larvas, lo que indica alta susceptibilidad de las larvas a este organofosforado.

*Palabras clave:* *Boophilus microplus*, coumafos, eficacia, larvas, teleoginas.

### Susceptibility to coumaphos on larvae and adult ticks *Boophilus microplus* in dairy farms from Lara state, Venezuela

#### ABSTRACT

The cattle tick *Boophilus microplus* is widely distributed in the world and causes significant economic losses. The aim of this work was to determine *in vitro* susceptibility of coumaphos ixodicide in adult ticks using five different concentrations including the manufacturer's recommended dosage, and the larvae mortality using therapeutic dose. A sample of 240 engorged females was collected from four dairy farms in Lara state, (60 ticks/farm), divided in groups of 10 ticks averaging 220 mg/tick. Commercial coumaphos formulation (20%) was used to prepare the working concentrations of 125, 250, 500, 1000 and 2000 ppm for the adults immersion test (AIT), and the control group was submerged in water. The Shaw larvae immersion test was applied in larvae obtained of this ticks population. In farm 1, weight average of the total egg masses was significantly smaller in the groups treated with coumaphos at concentrations of 1000 and 2000 ppm with respect to control group. Differences were not observed between the groups treated at the concentrations of 125, 250, 500, 1000 and 2000 ppm in each of the four farms. Statistical differences not were observed in the efficacy among groups. Higher concentrations of coumaphos did not increase the efficacy of the product. The adult ticks of *B. microplus* were resistant to coumaphos. Mortality in larvae reached 100%.

*Keywords:* *Boophilus microplus*, coumaphos, efficacy, larvae, adult ticks.

## INTRODUCCIÓN

La garrapata *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) es un ectoparásito que posee una alta distribución por todo el mundo y es de gran importancia económica, por las pérdidas que ocasiona en la producción de rebaños bovinos. Este parásito se originó en Asia, lugar donde se desarrolló por miles de años en estrecho contacto con el ganado cebuino (*Bos indicus*). Debido a su coevolución, esta especie bovina desarrolló y ha mantenido cierto grado de resistencia, mientras que las razas de ganado continental (*Bos taurus*) son susceptibles a este ectoparásito (Núñez *et al.*, 1987).

El control de garrapatas se ha basado principalmente en el uso de compuestos químicos (Sonenshine, 1993). El uso indiscriminado de estas sustancias ha causado el desarrollo de poblaciones de *B. microplus* resistentes a estos principios activos. La importancia de la detección de la resistencia a estos compuestos acaricidas comerciales reside principalmente en la posibilidad de escoger un producto de probada eficacia para su control (Campos y De Oliveira, 2005).

Las pruebas para determinar susceptibilidad a un producto acaricida son variadas; sin embargo, la técnica de inmersión de adultos, descrita por Drummond *et al.* (1973) para teleoginas (garrapatas hembras ingurgitadas) es la referencia a nivel mundial aprobada por la FAO para la detección de resistencia (FAO, 2004). El criterio de esta técnica para diagnosticar susceptibilidad o resistencia a un acaricida es la producción de huevos después del tratamiento. Se basa en la inmersión de teleoginas en varias concentraciones del acaricida incluyendo la dosis terapéutica recomendada por los fabricantes, obteniendo el peso de la masa total de huevos, porcentaje de eclosión, eficacia y factor de resistencia al producto (Drummond *et al.*, 1973). Otra prueba utilizada es la técnica de inmersión de larvas de Shaw, la cual determina el porcentaje de mortalidad de larvas con concentraciones terapéuticas del acaricida (Shaw, 1965). Estas pruebas realizadas *in vitro* son una aproximación del comportamiento del principio activo *in vivo* y son útiles para detectar fallas en el manejo del compuesto acaricida durante la preparación y aplicación de los baños.

Los primeros reportes de resistencia a organofosforados (OPs) en garrapatas *Boophilus microplus* en Venezuela fueron publicados en 1970 (Núñez *et al.*, 1987). Luego, otras poblaciones

resistentes fueron aisladas en el occidente de Venezuela (Coronado y Sánchez, 1993).

El ixodicida coumafos, como muchos otros OPs, fue desarrollado originalmente como pesticida para el tratamiento de ectoparásitos de los animales domésticos y posteriormente comenzó a utilizarse como antihelmíntico resultando muy tóxico al ser agregado al alimento. Químicamente es el 0,0-dietil 0-(3-cloro-4-metil-7-coumarinil) fosforotioato. La principal acción de los OPs sobre estos parásitos es la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), aumentando la concentración de acetilcolina, lo que produce una alteración de la transmisión neuromuscular y consecuente toxicidad (Booth y Mc. Donald, 1992).

Siendo la AChE su blanco de acción, el principal mecanismo de resistencia de *B. microplus* a OPs está asociado con la presencia de una AChE insensible a estos compuestos. Adicionalmente, existen diferencias en la tasa de hidrólisis metabólica entre cepas de garrapatas resistentes y susceptibles, lo cual sugiere la presencia incrementada de esterases y un aumento en la detoxificación de estos compuestos en las cepas resistentes (Wright y Ahrens, 1988).

Actualmente este compuesto químico no se está aplicando ampliamente porque presenta fallas al utilizar la dosis terapéutica recomendada por los fabricantes. Este trabajo tiene como objetivo determinar *in vitro* la susceptibilidad de *B. microplus* a varias concentraciones de coumafos mediante la determinación de la eficacia en adultos y porcentaje de mortalidad en larvas provenientes de cuatro fincas lecheras del estado Lara.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población y muestra

El experimento fue realizado en garrapatas *B. microplus* colectadas en cuatro fincas lecheras: Fincas 1 y 2 ubicadas en Duaca, Municipio Crespo, Sector los Chispes (10° 15' 13.48" N y 69° 06' 37.63" O), a 935 msnm, con vegetación de matorral y clima continental estacional. La finca 3 ubicada en Sarare, Municipio Simón Planas (9° 47' 28.13" N y 69° 09' 57.71" O), a 297 msnm y la finca 4 en Manzanita, Municipio Simón Planas, Parroquia Buría (9° 57' 48.65" N y 68° 58' 32.91" O), a 331 msnm. Estas dos fincas poseen vegetación intervenida y áreas

de bosque con clima continental estacional todas en el estado Lara (Fudeco, 1986). Las fincas fueron seleccionadas por presentar altas infestaciones con garrapatas e historial de fallas terapéuticas a acaricidas. Las muestras fueron colectadas entre los meses de Octubre a Mayo donde hay mayor incidencia de garrapatas (Gallardo y Morales, 1999). Las garrapatas se colocaron en envases adecuados para el transporte y fueron llevadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria del Decanato de Ciencias Veterinarias para su procesamiento en las siguientes 24 horas.

### Determinación de la eficacia en adultos

Las teleoginas fueron colocadas en un colador de acero inoxidable, lavadas con agua, secadas con papel absorbente y pesadas individualmente en una balanza electrónica. Para la evaluación del acaricida se utilizó un número de 60 garrapatas por finca, dividiéndolas en grupos de 10 garrapatas cada uno con un peso homogéneo por grupo (180 a 240 mg/garrapata), conformando seis grupos por finca.

Se prepararon 30 mL de las cinco soluciones garrapaticidas a concentraciones de 125, 250, 500 (dosis terapéutica), 1.000 y 2.000 ppm, más un grupo control con 30 mL de agua solamente. Cada grupo experimental de teleoginas fue sometido a tratamientos individuales, por una sola vez, en las soluciones preparadas y el grupo control se sumergió en agua, utilizando la técnica de inmersión de adultos descrita por Drummond *et al.* (1973), en la que se sumergen las garrapatas en 30 mL de la solución correspondiente durante 3 minutos.

Las teleoginas tratadas y las del grupo control fueron pasadas por un colador, secadas con papel absorbente, pesadas nuevamente y pegadas por su parte dorsal sobre cintas de papel adhesivo en placas de vidrio y colocadas en una cabina de incubación a una temperatura promedio de 27°C y una humedad relativa de 85% por 18 días. La masa total de huevos (PMTH) producidos por cada garrapata se pesó en una balanza electrónica al final del periodo de oviposición (ootoquia) a los 18 días postratamiento y se colectó en tubos de ensayo, tapándolos con algodón e incubándolas durante 21 a 25 días bajo las mismas condiciones de humedad y temperatura señaladas anteriormente. Transcurrido este tiempo, se estimó el porcentaje de eclosión cuantificando los huevos que

no eclosionaron y las larvas emergidas contenidos en cada tubo con la ayuda de una lupa estereoscópica, un contador manual y cápsulas de Petri cuadradas.

Con los datos del peso de las garrapatas, el peso de los huevos producidos y el porcentaje de eclosión se calculó la eficiencia reproductiva (ER), un valor que expresa la capacidad de una teleogina para transformar su peso corporal en larvas viables, de acuerdo a la fórmula de Drummond *et al.* (1973). La eficacia o porcentaje de control del coumafos en los grupos sometidos a la técnica de inmersión con acaricidas, se calculó según la fórmula de Abbott (1925), la cual expresa el porcentaje de control parasitario.

$$\text{Eficacia} = \frac{(\text{ER control} - \text{ER tratado})}{\text{ER control}} \times 100$$

### Determinación de mortalidad de larvas

Se realizó la técnica de inmersión de larvas descrita por Shaw (1965). De cada finca se reservó un tubo contenido de larvas que no fueron sometidas a tratamiento. Se prepararon 10 mL de la solución del acaricida a la dosis terapéutica de 500 ppm, se colocaron dos hojas de papel de filtro impregnadas de la solución dentro de cada cápsula de Petri y se colocaron 100 larvas aproximadamente entre las dos hojas de papel filtro. El grupo control se preparó con el mismo procedimiento pero impregnándolas con agua. Las cápsulas de Petri tapadas y selladas se incubaron por 24 horas a 27°C y 85% H.R. Transcurrido este tiempo se estimó el porcentaje de mortalidad de larvas cuantificándolas con la ayuda de una lupa estereoscópica, un contador de laboratorio y aguja entomológica. Se corrigió el porcentaje de mortalidad según la fórmula de Abbott (1925):

$$\text{Mortalidad} = \frac{\% \text{Mort. Tratadas} - \% \text{Mort. Control}}{100 - \% \text{Mort. Control}} \times 100$$

### Análisis estadístico

Se realizó el análisis de los datos obtenidos de cada finca por separado, sin comparar los resultados entre las fincas porque el historial de control con acaricidas es distinto en cada explotación. Los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS 11 para Windows (SPSS. 2002), a los cuales se aplicó un análisis descriptivo y prueba C de Dunnett para

varianzas distintas. Las medias serán consideradas estadísticamente significativas con un  $P \leq 0,01$  (Pardo y Ruiz, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media del peso de la masa total de huevos (PMTH) en las fincas 1, 2, 3 y 4 no tuvo diferencias significativas entre los grupos tratados a las concentraciones de 125, 250, 500, 1.000 y 2.000 ppm de coumafos, ni entre éstas con el grupo control, excepto en la finca 1, donde el PMTH fue menor en forma significativa en los grupos tratados a las concentraciones de 1.000 y 2.000 ppm de coumafos con respecto al grupo control ( $P \leq 0,01$ ). En la finca 3, la eficacia fue mayor en forma significativa en el grupo tratado con 2.000 ppm con respecto al grupo tratado con la dosis de 500 ppm. En el resto de los grupos tratados pertenecientes a las cuatro fincas no se encontraron diferencias significativas en la eficacia entre las distintas concentraciones usadas (Cuadro 1). En ningún caso la eficacia alcanzó niveles iguales o superiores al 90%, el cual es el nivel mínimo aceptado internacionalmente (FAO, 2004). El factor de resistencia a coumafos en las fincas 1, 2, 3 y 4 fue de 1,97 3,01 6,13 y 2,17, respectivamente. La mortalidad de larvas a dosis de 500 ppm de coumafos fue del 100% en todas las poblaciones estudiadas.

El fracaso del control químico contra la garrapata puede deberse al uso de procedimientos inadecuados, aplicación ineficaz, condiciones estacionales desfavorables o a la aparición de un mecanismo de resistencia. La decisión de desechar el producto

afectado y la elección de uno alternativo, sólo deberá adoptarse después de examinar con cuidado las características de la cepa resistente (Nolan, 1987).

Los adultos de *B. microplus* fueron resistentes al coumafos; sin embargo, el compuesto fue muy eficaz en larvas coincidiendo con lo reportado en un estudio realizado en Estados Unidos, en el cual el tratamiento con coumafos resultó más eficaz en larvas que en adultos de *B. microplus* con dosis de 566 ppm; el control de larvas fue del 98% a dosis de 165, 299 y 566 ppm (Davey *et al.*, 2003), similar a los datos obtenidos en este estudio donde se alcanzó un 100% de mortalidad en larvas a dosis de 500 ppm.

Estudios *in vivo* han determinado que la aplicación de dos a tres baños a intervalos de 7 a 10 días provee protección contra *B. microplus*, alcanzando una eficacia del 92,9 al 99,9% (Davey *et al.*, 2004), pero aumentaría la cantidad de este compuesto en el ambiente, además de incrementar los costos de producción. Tradicionalmente cuando falla un producto, se cambia a otro principio o se aumenta la concentración y la frecuencia de los baños, siendo esta es una de las principales causas de resistencia (Mekonnen *et al.*, 2002). En este experimento, dosis mayores que la terapéutica no incrementaron la eficacia del coumafos en garrapatas adultas, lo que indica que no sería una buena recomendación aumentar su concentración en los baños a bovinos. Adicionalmente, se pondría en riesgo de intoxicación al rebaño y al personal encargado de aplicar los baños.

Cuadro 1. Media del peso de la masa total de huevos y eficacia en *B. microplus* tratadas con distintas dosis de coumafos

Dosis	Peso masa huevos				Eficacia			
	Finca				Finca			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	----- mg -----				----- % -----			
125	88,83	90,36	81,19	80,13	43,15	26,88	35,84	23,05
250	93,12	71,50	96,26	67,23	51,84	39,79	30,75	51,06
500	100,92	86,80	10,62	49,86	50,80	33,22	16,31b	46,02
1000	50,38b†	78,04	71,91	44,77	75,74	49,54	45,39	40,76
2000	62,28b	95,78	53,03	52,88	71,39	24,19	66,20a	49,76
Control	149,16a	124,07	94,43	50,22				

† Promedios con distintas letras en la misma columna indica diferencias significativas ( $P \leq 0,01$ ).

La garrapata *B. microplus* ha desarrollado en la mayoría de los países un grado importante de resistencia a OPs, la cual es causada por mecanismos de detoxificación y por alteraciones o insensibilidad de la acetilcolinesterasa, que es su sitio o blanco de acción en insectos y arácnidos (Andrew *et al.*, 2003). En las poblaciones estudiadas se evidenció una alta resistencia al coumafos y posiblemente estas poblaciones de garrapatas podrían ser resistentes a otros OPs y desarrollar resistencia cruzada contra piretroides sintéticos, ya que se ha demostrado que algunos mecanismos de resistencia a OPs son comunes con los de piretroides sintéticos como es el caso del incremento de la frecuencia del mecanismo de glutation- S – transferasa (Rodríguez *et al.*, 2003).

La resistencia a acaricidas tiene un impacto importante sobre la incidencia de las enfermedades causadas por los hemoparásitos *Babesia bovis* y *B. bigemina* transmitidos por garrapatas, debido a que aumenta el número de éstas por animal y por ende las posibilidades de que se incremente la transmisión de estas enfermedades (Foil *et al.*, 2004). La presencia de una población de reserva de garrapatas que no hayan sido expuestas a acaricidas se recomienda para mantener la estabilidad enzoótica de los hemoparásitos, la cual es imprescindible para la disminución de animales adultos con sintomatología clínica de estas enfermedades.

Es necesario que el control de garrapatas esté acompañado del conocimiento de su ciclo biológico y otros factores ambientales importantes. El uso inadecuado de drogas, incluyendo los antiparasitarios, puede dejar residuos en los tejidos, lo cual ocasiona problemas de salud en animales y humanos (Yamada *et al.*, 2006). Muchos de estos productos pueden ser absorbidos por la piel del bovino y pasar a circulación sanguínea para ser biotransformados y luego excretados en la orina y heces, teniendo un impacto en la fauna no parasitaria u organismos del suelo, como coleópteros, dípteros, nemátodos del suelo y microorganismos que favorecen la degradación y reciclaje de los excrementos animales. El coumafos puede resultar tóxico para insectos coprófagos y perturbar el funcionamiento de pastizales por la disminución en la velocidad de desaparición del estiércol (Lumaret y Martínez, 2005). En el uso de acaricidas en general se debe considerar el impacto ambiental de estos principios activos.

## CONCLUSIONES

En las fincas estudiadas existió baja susceptibilidad a coumafos en hembras adultas de *B. microplus*. La eficacia no alcanzó valores aceptables para el control, aún usando concentraciones más altas del producto. El coumafos causó 100% de mortalidad en larvas de *B. microplus*.

## RECOMENDACIONES

La complejidad del problema de resistencia hace necesario realizar un control integrado, que no es más que la combinación de varios métodos incluyendo vacunas contra *B. microplus*, manejo de potreros, utilización de animales o razas bovinas resistentes a las garrapatas, aumento del intervalo entre baños contra ectoparásitos usando las dosis recomendadas, pruebas diagnósticas de resistencia a acaricidas y otros métodos que permitan reducir el número de garrapatas por animal a mediano y largo plazo.

## AGRADECIMIENTOS

Al CDCHT-UCLA por el financiamiento otorgado a través del Proyecto 014-VE-2005.

## LITERATURA CITADA

- Abbott W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18: 256-257.
- Andrew L., R. Davey, R. Miller y J. George. 2003. Resistance to coumaphos and diazinon in *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) and evidence for the involvement of an oxidative detoxification mechanism. *J. Entomol.*, 40: 482-490.
- Booth N. y L. McDonald. 1992. *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Campos D. y P. Oliveira. 2005. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricida sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. *Ciencia Rural*, 35: 1386-1392.
- Coronado A. y J. Sánchez. 1993. Sensibilidad de dos cepas venezolanas de *Boophilus microplus* a tres acaricidas de origen comercial. Trabajo de Ascenso para Personal Docente, Decanato

- Ciencias Vet., Univ. Centroocc. Lisandro Alvarado. Barquisimeto, Lara. Venezuela.
- Davey R., J. George y R. Miller. 2003. Efficacy of various concentrations of coumafos to control adult, nymphal and larval stages of an organophosphate-resistance strain of *Boophilus microplus* on infested cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 64(6): 684-689.
- Davey R., J. George y R. Miller. 2004. Control of an organophosphate-resistant strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) infested on cattle after a series of dips in coumaphos applied at different treatment intervals. *J. Med. Entomol.*, 41(3): 524-528.
- Drummond R., S. Ernst, J. Trevino, W. Gladney y O. Graham. 1973. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 66: 130-133.
- FAO. 2004. Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants. Agriculture Department. Animal Production and Health Division, FAO, Roma. Italia.
- Foil L., P. Coleman, M. Eisler, H. Fragoso, Z. García-Vazquez y F. Guerrero. 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol.*, 125(1-2): 163 -181.
- Fudeco. 1986. Mapa de vegetación, clima y suelos del estado Lara. Análisis ambiental de la Región Centroccidental. Barquisimeto, Lara. Venezuela.
- Gallardo J. y J. Morales. 1999. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): Preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. *Bioagro*, 11(3): 77-87.
- Lumaret J.P. e I. Martínez. 2005. El impacto de productos veterinarios sobre insectos coprófagos: consecuencias sobre la degradación del estiércol en pastizales. *Acta Zool. Mex.*, 21(3): 137-148.
- Mekonnen S., N. Bryson, L. Fourie, R. Peter, A. Spickett, R. Taylor, T. Strydom y I. Horak. 2002. Acaricide resistance profiles of single and multi-host ticks from communal and commercial farming areas in the Eastern Cape and North-West Provinces of South Africa. *Onder. J. Vet. Res.*, 69: 99-105.
- Nolan J. 1987. New approaches in the development and management of drugs used in ectoparasites control. *Vet. Parasitol.*, 25: 135-145.
- Nuñez J., M. Muñoz y H. Moteldo. 1987. *Boophilus microplus*. La garrapata común del ganado vacuno. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- Pardo, A. y M. Ruiz. 2002. Comparaciones múltiples post hot. SPSS 11 Guía para el análisis de datos. Editorial Mc Graw Hill, España.
- Rodríguez M., J. Bisset, C. Díaz y L. Soca. 2003. Resistencia cruzada a piretroides en *Aedes aegypti* de Cuba inducida por la selección con el insecticida organofosforado malation. *Rev. Cubana Med. Trop.*, 55(2): 105-111.
- SPSS. 2002. SPSS para Windows. Ver. 11.5.1. Chicago, USA.
- Shaw R. 1965. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull. Entomol. Res.*, 56: 389-405.
- Sonenshine D. 1993. *Biology of Ticks*. Oxford University Press. New York. NY.
- Wright F. y E. Ahrens. 1988. Cholinesterase insensitivity: a mechanism of resistance in Mexican strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) against coumaphos. *J. Med. Entomol.*, 25: 234-239.
- Yamada R., M. Kosono, T. Ohmori, F. Morimatsu y M. Kitayama. 2006. Simultaneous determination of residual veterinary drugs in bovine, porcine, and chicken muscle using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Bios. Biotechnol. Biochem.*, 70(1): 54-65.

## **Prevalencia de *Isoospora suis* en lechones criados en granjas de la región centro-occidental de Venezuela**

Juan C. Pinilla León<sup>1\*</sup> y Alfredo J. Coronado Fonseca<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. Facultad de Ingeniería Agronómica. Dpto. de Producción Animal. San Juan de Los Morros, estado Guarico. Venezuela

<sup>2</sup> Universidad Centro-Occidental Lisandro Alvarado. Decanato de Ciencias Veterinarias. Dpto. de Salud Pública. Área de Parasitología. Tarabana, estado Lara. Venezuela.

---

### **RESUMEN**

Se realizó un estudio en la región centro-occidental de Venezuela con la finalidad de determinar la prevalencia de *Isoospora suis* en lechones lactantes criados en 15 granjas con manejos deficientes y pobres condiciones higiénico-sanitarias. Para la determinación parasitaria se seleccionaron 237 camadas con signos de diarrea, y de cada camada seleccionada, se tomaron de 4 a 5 lechones. A los lechones se les introdujo un hisopo por vía rectal con la finalidad de provocar estimulación y poder coleccionar la muestra de heces. Las muestras de heces se cultivaron en una solución de dicromato de potasio al 2,5% y posteriormente fueron procesadas con una técnica de centrifugación-flotación utilizando una solución de azúcar-sal para la determinación de ooquistes. Se determinó 93,3% de prevalencia en las granjas examinadas y 31,6% de prevalencia en lechones lactantes, poniendo de manifiesto que las pobres condiciones higiénico-sanitarias de las explotaciones podrían tener un efecto sobre la presencia del parásito. Al referirlo a las edades, se observó una mayor prevalencia (19,4%) en lechones de 7 a 13 días y un 9,3% en lechones de 14 a 20 días. De acuerdo a la prueba de Ji cuadrado hubo asociación estadística ( $P < 0,05$ ) entre los porcentajes de positividad del parásito con respecto a la edad de los lechones. Referente al mes de muestreo, se encontraron diferentes grados de positividad entre los meses, indicado por la asociación estadística ( $P < 0,05$ ) entre mes y prevalencia del parásito. Igualmente se determinaron asociaciones estadísticas ( $P < 0,05$ ) entre prevalencia por edad con consistencia y color de las heces. Se concluye que *I. suis* se encuentra ampliamente distribuida en las granjas y camadas examinadas, y que pudiera ser controlada mejorando los programas de profilaxis y control de las explotaciones.

*Palabras clave:* *Isoospora suis*, lechones, ooquistes, diarrea.

---

### **Prevalence of *Isoospora suis* in piglets raised in farms at the center-western region of Venezuela**

#### **ABSTRACT**

It was carried out a study in the center-western region of Venezuela with the objective to determine the prevalence of *Isoospora suis* in piglets raised in 15 farms with faulty handlings and poor hygienic-sanitary conditions. For the parasitic determination, 237 litters were selected with signs of diarrhea, and from each selected litter, 4 to 5 piglets were selected. A hyssop were introduced by rectal way with the purpose of causing stimulation and collect the stool sample. The stool samples were cultivated in a 2.5% potassium dichromate solution and later processed by the centrifugation-flotation technique using a sugar-salt solution for the oocyst determination. A prevalence of 93.3% was determined in the examined farms and 31.6% in piglets showed poor hygienic-sanitary conditions in the farms that could have an effect on the parasite presence. Regarding to ages, a higher prevalence was observed (19.4%) in 7 to 13 days old piglets and 9.3% in 14 to 20 days old piglets. According to Chi-squared test, there was

a statistical association ( $P < 0.05$ ) among positive percentages of the parasite with regard to piglets age. Regarding to sampling month, there were different positive grades among the months, indicated by the statistical association ( $P < 0.05$ ) between month and parasite prevalence. Statistical associations were also determined ( $P < 0.05$ ) between age prevalence and consistency and color of the stools. It is concluded that *I. suis* is broadly distributed in the farms and examined litters, and it could be controlled improving the prevention programs and control on the farms.

Keywords: *Isospora suis*, piglets, oocysts, diarrhea.

## INTRODUCCIÓN

*Isospora suis* es uno de los coccidios mas importantes que afectan al cerdo y es considerado como el agente causal de la coccidiosis neonatal porcina (Lindsay *et al.*, 1999). Los animales que se infectan por *I. suis* desarrollan una diarrea de color amarillenta a partir de la segunda semana de edad, que inicialmente es pastosa para hacerse fluida a los 2 a 3 días (Lindsay y Blagburn, 1994; Lindsay *et al.*, 1999).

La prevalencia de *I. suis* en lechones es muy variada. En Australia, Driesen *et al.* (1993) encontraron 53,8% de prevalencia en lechones diarreicos con edades comprendidas entre 5 y 30 días de edad. En USA, Otten *et al.* (1996) encontraron que todas las granjas examinadas estaban infectadas, con una prevalencia de 62,2% en lechones lactantes. En Alemania, Niestrah *et al.* (2002) demostraron 42,5% de prevalencia en camadas y en la república Checa, Hamadejova y Vitovec (2005) reportaron 21,8% de prevalencia. Al referirse a la edad, Henriksen y Christensen (1989) y Sayd y Kawazoe (1996) reportaron que la mayor prevalencia se encontró en la segunda semana de vida. Otten *et al.* (1996) encontraron 17,4 y 41,3% de prevalencia en lechones de 2 y 3 semanas de edad, respectivamente; así mismo, Mundt y Dausgchies (2004) reportaron mayores índices de prevalencia en animales de dos y tres semanas. Por su parte, Hamadejova y Vitovec (2005) reportaron la mayor prevalencia (38,8%) en animales de dos semanas de edad y mayor ocurrencia del protozoario al día 13 de edad. Referente a la época del año, Driesen *et al.* (1993) y Otten *et al.* (1996) no encontraron significancia del efecto estacional sobre la presencia de *I. suis* en lechones. Sin embargo, Meyer *et al.* (1999) encontraron 66,3 y 61% de incidencia de diarrea por *I. suis* en verano y otoño, respectivamente, mientras que 47,7 y 37,9% en primavera e invierno.

En relación a la consistencia de las heces, Meyer *et al.* (1999), Joachim y Dausgchies (2000), Gualdi *et al.* (2003) comprobaron la correlación existente entre la coccidiosis y la presencia de diarrea. Hamadejova y Vitovec (2005) reportaron 39% de prevalencia en muestras líquidas, mientras que 19% en heces formadas. Por su parte, Estrada *et al.* (2004) demostraron que *I. suis* se encuentra con mayor frecuencia en heces pastosas.

En nuestro país, González (1993) determinó 21,8% de prevalencia de *I. suis* en lechones criados en granjas de los estados Aragua y Carabobo, y posteriormente, González *et al.* (2000) demostraron 75% de prevalencia en granjas con manejos eficientes y deficientes, y concluyeron que el parásito se presentó en cualquier tipo de explotación. Según Feporcina (2006) el estado Yaracuy representa el quinto estado productor y movilizador de cerdos en Venezuela, y primer productor porcícola de la región centro-occidental, superando estadísticamente a los estados Lara, Falcón y Portuguesa.

En este orden de ideas se planteó como objetivo del presente trabajo determinar la prevalencia de *I. suis* en lechones lactantes de diferentes edades y criados en explotaciones ubicadas en tres municipios del estado Yaracuy.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación geográfica del estudio

Las granjas examinadas se encuentran localizadas en los municipios Peña, José A. Páez y Bruzual del estado Yaracuy. Las características climatológicas de los tres municipios son muy similares, y son consideradas como de clima tropical, con registros pluviométricos anuales de 1.280 mm, temperaturas medias anuales de 26°C y 72% de humedad relativa. Se encuentran situados a 450 msnm (Encarta, 2006).

### Tipo de granja y manejo

Estas granjas se caracterizan por ser explotaciones intensivas de ciclo completo y flujo continuo, con manejos deficientes y pobres condiciones sanitarias en su mayoría. El tamaño promedio de las explotaciones oscila entre 300 y 500 madres en producción. El prototipo de animal frecuentemente observado pertenece a mestizos de las razas Yorkshire y Landrace. Los animales son alimentados con raciones balanceadas, las cuales son formuladas en plantas de alimentos próximas a las unidades de producción. El destete es realizado a 21 días en promedio.

### Tamaño de la muestra

Fueron visitadas y examinadas 15 granjas porcinas con problemas de diarrea en el área de maternidad, que representan el 46,8% del total de explotaciones ubicadas en los tres municipios, según datos aportados por SASA-Yaracuy (2006) (Cuadro 1). Para el cálculo del tamaño muestral (n) se tomó como referencia una prevalencia conocida de 20% y un nivel de confianza de 95%, y utilizando el procedimiento descrito por Morales y Pino (1987) fueron seleccionadas de forma aleatoria un total de 237 camadas de diferentes edades y con signos de diarrea. Las camadas seleccionadas fueron distribuidas en cada granja de forma proporcional de acuerdo al total de camadas existentes al momento de la visita.

### Toma de la muestra

El muestreo se realizó durante los meses de febrero a julio de 2006. De cada camada seleccionada fueron tomados de 4 a 5 lechones con la finalidad de hacer un pool de la muestra. A cada lechón se le introdujo un hisopo por vía rectal con el propósito de estimular la defecación y coleccionar las heces en tubos de ensayo previamente identificados. La consistencia

y el color de las heces fueron registradas en una planilla de campo durante el muestreo. Las muestras identificadas se introdujeron en una cava refrigerada para ser trasladadas a la Unidad de Investigación en Parasitología del Decanato de Ciencias Veterinarias de la UCLA donde fueron conservadas a 8°C hasta su procesamiento dentro de un período de 5 días.

### Análisis de la muestra

Para la esporulación de ooquistes de *I. suis* las muestras fueron cultivadas en cápsulas de petri utilizando 20 ml de una solución de dicromato de potasio al 2,5%, durante un lapso de 5 días (Hendrix, 1999). Transcurrido ese tiempo, se utilizó una técnica de centrifugación-flotación utilizando una solución de azúcar-sal (Henriksen y Christensen, 1992) para realizar el diagnóstico. La visualización e identificación de ooquistes se hizo con un microscopio binocular, usando magnificación de 10 y 40X.

### Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadísticos descriptivos y test de Ji-cuadrado para determinar asociaciones estadísticas. Para los cálculos se utilizó el programa estadístico Statistix (Analytical Software, 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró *I. suis* en 14 de 15 granjas examinadas, lo cual reflejó una alta presencia del parásito en explotaciones con inadecuado manejo sanitario, coincidiendo con resultados señalados por Otten *et al.* (1996), González *et al.* (2000) y Estrada *et al.* (2004). Al referirlo a los lechones, se determinó 31,6% de prevalencia (75/237). En el Cuadro 2 se observa mayor frecuencia para los grupos de edad de 7 a 13 días (61,3%) y 14 a 20 (29,3%). Nuestro resultado coincide con lo señalado por Henriksen y Christensen (1989),

Cuadro 1. Número de granjas porcinas organizadas ubicadas en los municipios Peña, José A. Páez y Bruzual del estado Yaracuy.

Municipio	Granjas		Grranjas examinadas
	existentes	examinadas	
	----- N° -----		%
Peña	11	6	54,5
José A. Páez	12	5	41,6
Bruzual	10	4	40,0
Total	32	15	46,8

González (1993), Sayd y Kawazoe (1996), Mundt y Dausgschies (2004) y Hamadejova y Vitovec (2005), y podría deberse a la falta de un adecuado programa de profilaxis y control en las granjas. Por otro lado, estos resultados difieren con lo señalado por Driesen *et al.* (1993), Otten *et al.* (1996) y Niestrah *et al.* (2002), quienes determinaron mayores tasas de prevalencia en lechones de tres y cuatro semanas de edad. En el Cuadro 2 también se muestra la comparación (prueba de Ji cuadrado) entre los porcentajes de positividad de las diferentes edades. Se encontraron diferentes grados de positividad, lo que refleja que hubo asociación estadística ( $P < 0,05$ ) con respecto a la edad de los lechones.

En nuestro trabajo se encontró que el valor de prevalencia más alto estuvo en los días 7 y 8 (14,6 y 16%, respectivamente). Este resultado difiere con lo señalado por Hamadejova y Vitovec (2005). Posiblemente, la contaminación del paritorio en estas granjas provoca una elevada presión de infección, lo que trae como consecuencia que los animales se infecten en sus primeros días de vida y por lo tanto se encuentren los valores más altos de prevalencia en la primera semana. En el Cuadro 3 se muestran los resultados de prevalencia de *I. suis* durante todos

los meses del estudio. La poca cantidad de muestras examinadas durante febrero, probablemente afectó los resultados de ese mes. También se muestra la comparación entre los porcentajes de positividad de los diferentes meses por medio de la prueba de Ji cuadrado. Se encontraron diferentes grados de positividad, lo que refleja que hubo asociación estadística ( $P < 0,05$ ) con respecto al mes de muestreo. Probablemente, la tasa de prevalencia en mayo y junio (12,2 y 8,8%, respectivamente), estuvo notablemente más alta que en los otros meses, ya que las condiciones climatológicas (temperatura y humedad) durante esos meses favorecen el proceso de esporulación de los ooquistes. Estos resultados difieren con lo señalado por Driesen *et al.* (1993) y Otten *et al.* (1996), pero coinciden con lo demostrado por Meyer *et al.* (1999), quienes comprobaron diferencias estadísticas estacionales.

Aunque el rol de *I. suis* como causa de diarreas en lechones ha sido cuestionado por dificultades en el diagnóstico de laboratorio y por ausencia de signos específicos de la enfermedad, diversos autores han confirmado la correlación entre presencia de *I. suis* y diarrea en lechones (Meyer *et al.*, 1999; Joachim y Dausgschies, 2000; Gualdi *et al.*, 2003). En nuestro

Cuadro 2. Comparación entre los porcentajes de positividad por edades y estadístico de prueba ( $X^2$ ).

Edad	n	Positiva	Negativa	Frecuencia	Prevalencia	$X^2$	P
días		----- No -----			----- % -----		
3 a 6	12	1	11	1,3	0,4		
7 a 13	113	46	67	61,3	19,4		
14 a 20	80	22	58	29,3	9,3	11,36	0,022
21 a 27	30	5	25	6,7	2,1		
> 28	2	1	1	1,3	0,4		
Total	237	75	162	100	31,6		

Cuadro 3. Comparación entre los porcentajes de positividad por mes de muestreo y estadístico de prueba ( $X^2$ ).

Mes	Camadas	Positiva	Negativa	Frecuencia	Prevalencia	$X^2$	P
		----- No -----			----- % -----		
Febrero	23	0	23	0	0		
Marzo	54	8	46	10,7	3,4		
Mayo	65	29	36	38,7	12,2	26,5	0,0000
Junio	48	21	27	20,0	8,8		
Julio	47	17	30	22,7	7,2		
Total	237	75	162	100	31,6		

trabajo no hubo correlación entre excreción de ooquistes y presencia de diarrea, ya que, solamente un 4% de muestras líquidas resultaron positivas. De las 237 camadas examinadas, 22 (9,2%) presentaron diarrea, y de éstas, 3 resultaron positivas (4%). Con respecto a la consistencia de las heces en muestras positivas, se observó el valor más alto (68%) en muestras pastosas, y un 4% en muestras líquidas (Figura 1).

La diarrea en lechones se explica, por las acciones patógenas que causa el parásito en el epitelio intestinal en el transcurso de las diferentes etapas que se cumplen en la fase endógena del ciclo de vida

Durante la esquizogonia se produce diarrea debido a la invasión y multiplicación del parásito dentro de la célula epitelial, sin embargo, la producción de ooquistes es muy baja. En la medida que avanza la infección la diarrea va cediendo, y la consistencia de las heces comienza hacerse pastosa, e incluso normal, hasta que se cumpla el ciclo de vida del parásito con la debida producción de ooquistes. De acuerdo a esto es improbable conseguir animales excretando ooquistes y con producción de heces líquidas, por lo que habría que considerar otros copatógenos como *E. coli*, Rotavirus y *Cryptosporidium*.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados referentes a la asociación entre prevalencia de *I. suis*

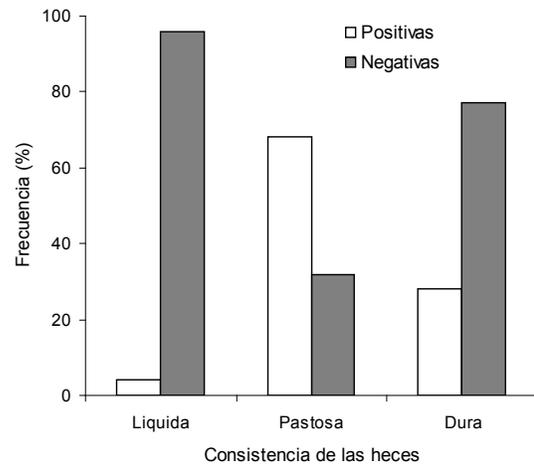


Figura 1. Afinidad de *I. suis* a la consistencia de las heces.

por grupos de edad con las características de las heces. De acuerdo a los resultados de la prueba de Ji-cuadrado hubo asociación estadística ( $P < 0,05$ ) entre edad de los lechones y consistencia y color de las heces, lo que significa que existe una asociación entre animales positivos de dos y tres semanas de edad y la presencia de heces pastosas de color amarillo. Estos resultados coinciden con diversos autores sobre las características de algunos signos clínicos de la coccidiosis neonatal. Del total de animales positivos,

Cuadro 4. Asociación entre prevalencia de *I. suis* por grupos de edades y consistencia y color de las heces.

Consistencia	Color	Edad					Total
		3-6	7-13	14-20	21-27	>28	
----- días -----							
Líquida	Amarillo	0	2,7	1,3	0	0	4
Pastosa	Amarillo	1,3c†	33,3a	18,7b	1,3c	1,3c	56
	Marrón	0	2,7	0	0	0	2,7
	Grisácea	0	4,0	2,7	1,3	0	8,0
	Crema	0	0	0	1,3	0	1,3
Dura	Amarillo	0	1,3	0	0	0	1,3
	Marrón	0	12	6,7	2,7	0	21,3
	Grisácea	0	1,3	0	0	0	1,3
	Blanca	0	1,3	0	0	0	1,3
	Negra	0	2,7	0	0	0	2,7
Total		1,3	61,3	29,3	6,7	1,3	100

† Promedios en la misma fila con letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ )

un 56% presentó heces pastosas de color amarillo y un 21,3% presentó heces formadas de color marrón, lo que nos lleva a pensar que ciertamente existe una inespecificidad en los signos de la enfermedad, por lo que en ciertas condiciones se debería recurrir a otros procedimientos de diagnóstico.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. En las muestras examinadas, a pesar de que se realizan tratamientos anticoccidiales, se observó una alta prevalencia de *I. suis* en granjas y camadas, que pudiera ser controlada al mejorarse las condiciones higiénico – sanitarias.
2. Los resultados indicaron que *I. suis* se presentó en mayores proporciones en los días 7 y 8 de vida de los animales, por lo que, podría pensarse en otras fuentes de infección, distinta al medio ambiente contaminado.
3. La sensibilidad de la técnica de diagnóstico utilizada depende del momento en el cuál es tomada la muestra, ya que, hay etapas del ciclo biológico en el que la producción de ooquistes es tan baja que no permite realizar un buen diagnóstico. Por lo tanto, se debe considerar el uso de otras técnicas.
4. Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden y difieren con lo señalado por otros autores, por lo que sería de mucha utilidad la realización de un estudio a mayor escala, incluyendo otras variables que nos permitan una mejor comprensión de la epidemiología de *I. suis* en nuestro país.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración prestada por el personal docente, administrativo y de investigación que labora en la Unidad de Investigación en Parasitología del Decanato de Ciencias Veterinarias de la UCLA, durante la ejecución del presente trabajo. Igualmente a los productores porcícolas, quienes prestaron su apoyo para el ingreso a sus explotaciones.

### LITERATURA CITADA

Analytical Software. 2008. Statistix for Windows. User's Manual. Ver. 8. Tallahassee, FL. USA.

- Driesen S.J., P.G. Carland y V.A. Fahy. 1993. Studies on preweaning piglet diarrhea. Aust. Vet. J., 70(7): 259 – 262.
- Encarta. 2006. Enciclopedia Encarta. Microsoft Corp. DVD. Redmond, WA. USA.
- Estrada E., A. Morilla y E. Lafranchi. 2004. Frequency of *Isospora suis* infected herds in Mexico. Proc.18th IPVS Congress, Hamburg, Germany, Vol 1: 309.
- Feporcina. 2006. Comportamiento del sector porcino en el año 2005. Rev. Inf. Divulg., 1: 10-12.
- González Y. de W. 1993. Prevalencia de coccidias en suinos del estado Aragua y municipio Diego Ibarra del estado Carabobo. Vet. Trop., 18: 45 – 57.
- González Y. de W., L.G. de Moreno y G. García. 2000. *Isospora suis* en granjas con diferentes condiciones de instalaciones y manejo. Vet. Trop., 25(2): 257 – 265.
- Gualdi V., F. Vezzoli, M. Luini e I. Nisoli. 2003. The role of *Isospora suis* in the ethiology of diarrhea in suckling piglets. Parasitol. Res., 90: 163 – 165.
- Hamadejova K y J. Vitovec. 2005. Occurrence of the coccidium *Isospora suis* in piglets. Vet. Med. Czech., 50(4): 159 – 163.
- Hendrix C.M. 1999. Diagnóstico Parasitológico Veterinario. 2<sup>da</sup> ed. Editorial Harcourt Brace. Madrid, España.
- Henriksen S.A y J.P. Christensen. 1989. Coccidiosis in piglets in Denmark. Shedding of oocyst of *Isospora suis* in relation to age on the host. 5<sup>th</sup> International Coccidiosis Conference, Tours, Francia. INRA Publ. pp. 489-492.
- Henriksen S.A y J.P. Christensen. 1992. Demonstration of *Isospora suis* oocysts in faecal samples. Vet. Rec., 131: 443 – 444.
- Joachim A. y A. Dauschies. 2000. Endoparasiten bei Schweinen in unterschiedlichen Nutzungsgruppen und Haltungformen. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 113: 129–133.

- Lindsay D.S y B.L. Blagburn. 1994. Biology of mammalian *Isospora*. *Parasitol. Today*, 10(6). 214 – 220.
- Lindsay D.S., B.L. Blagburn y J.P. Dubey. 1999. Coccidia and other protozoa. *En* Straw B.E., S. D’Allaire, W.L. Mengeling y D.J. Taylor (Eds.) *Diseases of Swine*. 8<sup>va</sup> ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IO, USA. pp. 655 – 660.
- Meyer C., A. Joachim y A. Dauschies. 1999. Occurrence of *Isospora suis* in larger piglet production units and on specialized piglet rearing farms. *Vet. Parasitol.*, 82: 277 – 284.
- Morales G. y A. Pino. 1987. *Parasitología Cuantitativa*. Fundación Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, Caracas.
- Mundt H.C. y A. Dauschies. 2004. Current experience with *Isospora suis* infections. *Proc. 18th IPVS Congress*, Hamburg, Alemania. Vol. 1. pp. 11-14.
- Niestrath M., M. Takla, A. Joachim y A. Dauschies. 2002. The role of *Isospora suis* as a pathogen in conventional piglet production in Germany. *J. Vet. Med. B.*, 49: 176 – 180.
- Otten A., M. Takla, A. Dauschies y M. Rommel. 1996. The epizootiology and pathogenic significance of infections with *Isospora suis* in ten piglet production operations in Nordrhein-Westfalen. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 109(6-7): 220 – 223.
- Sayd S. y U. Kawazoe. 1996. Prevalence of porcine neonatal isosporosis in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 67(3-4): 169 – 174.
- SASA. 2006. Estimado de granjas porcinas del estado Yaracuy. Reportes de programa vacunación contra fiebre aftosa. Dep. Epidemiología. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria, San Felipe, Yaracuy. Venezuela.



## **Estructura poblacional de la almeja, *Asaphis deflorata*, en la localidad de Caurantica, golfo de Paria, estado Sucre, Venezuela**

Antulio Prieto<sup>1\*</sup>, Jesús Marcano<sup>2</sup>, Liz Villegas<sup>3</sup> y César Lodeiros<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Oriente, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias, Cumaná 6101, Sucre. Venezuela. \*Correo electrónico: alprietom@hotmail.com

<sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas de los estados Sucre y Nueva Esparta, Cumaná, Sucre. Venezuela.

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura - Sucre, Cumaná, Sucre. Venezuela.

<sup>4</sup> Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Lab. Acuicultura. Cumaná, Sucre. Venezuela.

---

### **RESUMEN**

Se evaluó la estructura poblacional y aspectos bioecológicos del bivalvo *Asaphis deflorata* en Caurantica, al este de la población de Guiria, en el Golfo de Paria, estado Sucre, Venezuela. Las muestras se recolectaron mensualmente desde marzo 2005 hasta febrero 2006, utilizando un diseño de muestreo al azar estratificado con una cuadrata de 0,25 m<sup>2</sup>. En dichos muestreos se determinó la temperatura y la salinidad del agua. Para un análisis de la disposición espacial de la especie el área de distribución se dividió en tres zonas paralelas a la línea de costa y cuatro franjas perpendiculares a la costa de acuerdo a las características topográficas del sustrato. La población presentó un intervalo de tallas desde 10 hasta 74 mm de longitud total, con un dominio de las tallas entre 48 y 54 mm, aunque a partir de septiembre 2005 se incorporaron ejemplares con talla menor de 26 mm. La dispersión microespacial fue de agregación en cada zona, con un aumento de la longitud de los individuos desde la zona del nivel más bajo de marea hasta el más alto. Las relaciones entre los parámetros morfométricos de los bivalvos fueron altamente significativas y la relación entre la masa total (MT) y la longitud (Lt) estuvo representada por la ecuación  $MT = 0,0003 * Lt^{2,806}$  ( $r^2 = 0,93$ ). La biomasa total promedio fue de 400,33 g/m<sup>2</sup> y la densidad promedio de 69,33 ind/m<sup>2</sup> con valores máximos en la zona de marea baja, mientras que la mayor densidad se observó en la zona de marea alta. No se detectaron diferencias significativas en los promedios de biomasa y la densidad entre zonas, pero si entre franjas. El factor de condición presentó su máximo valor en mayo 2005 (36,6%) y el más bajo en agosto 2005 (28,8%). Se sugiere que la variabilidad periódica de la salinidad posee influencia sobre la condición fisiológica de la especie.

*Palabras clave:* *Asaphis deflorata*, abundancia, Caurantica, Golfo de Paria, Venezuela.

---

### **Population structure of the clam, *Asaphis deflorata*, in Caurantica, gulf of Paria, Sucre state, Venezuela**

### **ABSTRACT**

Populations structure and bioecological aspects of the bivalve *Asaphis deflorata* were evaluated in locality of Caurantica, northeastern of Guiria, Gulf of Paria, Sucre state, Venezuela. Samples were collected monthly from March 2005 until February 2006, using a stratified random sampling with a quadrat of 0.25 m<sup>2</sup>. During sampling water temperature and salinity were measured. In order to test the spatial dispersion, the area was divided into 3 zones parallel to the coast and 4 fringes perpendicular to it, according to the topographical characteristics of the substrate. The population presented a length interval from 10 until 74 mm, with a predominance of the lengths between 48-54 mm, although since September 2005 there were organisms with lengths smaller than 26 mm incorporated into the population. A aggregated microespacial dispersion was observed in each zone, with an

Recibido: 08/08/2007 Aceptado: 23/11/2007

increase of the length of bivalves from of the zone of low to one high tide. Relationships between morphometric parameters were highly significative and length (Lt)-total mass (TM) relationship was represented by the equation  $TM = 0.0003 * Lt^{2.806}$  ( $r^2 = 0.93$ ). Average biomass and density were 400.33 g/m<sup>2</sup> and 69.33 ind/m<sup>2</sup>. The biomass presented maximum values in the zone of low tide, whereas the maximum density was observed in zone of high tide. There were not detected significant differences in average biomass and density among zones, but among fringes. Condition factor presented its maximum value in May 2005 (36.6%) and minimum in August 2005 (28.8%) 2005. We suggest that salinity variation in the region has influence on the physiological condition of the species.

*Keywords:* *Asaphis deflorata*, abundance, Caurantica, Gulf of Paria, Venezuela.

## INTRODUCCIÓN

La almeja *Asaphis deflorata* (Linneaus, 1758) es una de las especies de bivalvos más comunes en las comunidades intermareales del Golfo de Cariaco y de las costas del Golfo de Paría, estado Sucre, Venezuela (Lodeiros *et al.* 1999), donde es explotada artesanalmente por pobladores cercanos a la playa como un componente importante de la dieta, por lo que se reconoce la importancia de realizar estudios ecológicos para el desarrollo de su pesquería (Gines, 1972). Esta especie ha sido considerada como coespecífica con la especie *A. dichotoma* la cual se distribuye en el Indo-Pacífico (Prashad 1932), tesis que fue sustentada por Abbott (1974), aunque investigaciones mas recientes basadas en análisis morfo-funcionales y características de la concha han confirmado que son dos especies diferentes; siendo redescrita la forma del Indopacífico como *Asaphis violacens* (Chernohorsky, 1972; Willan, 1993).

En el continente americano, la especie tiene una distribución muy amplia, extendiéndose desde el sureste de Florida hasta el oeste de las Indias Occidentales (Abbott, 1974). Sin embargo, a pesar de ello existen muy pocas investigaciones sobre su ecología (Berg y Alatalo, 1985; Domaneshi y Shea, 2004). Algunos autores han descrito aspectos de su anatomía (White, 1942; Purchon, 1960) relacionando la morfología de su concha con los hábitos de vida (Stanley, 1970) y se le ha citado en algunas colecciones bentónicas (Work, 1969; Princz, 1973). En Venezuela, se conocen aspectos de su biología en una localidad del Golfo de Cariaco (Marín, 1982) y datos de abundancia en algunas zonas de la Península de Paría (Prieto *et al.*, 2005).

Debido a la escasa información ecológica que se tiene sobre esta especie y vista su importancia

económica como recurso pesquero en localidades cercanas a la ciudad de Guiría, estado Sucre, donde se desarrollará una actividad de explotación gasífera, la cual podría afectar al recurso, se realizó una evaluación de la densidad y la distribución espacial de una población de *A. deflorata* en la localidad de Caurantica, aledaña a la ciudad de Guiría.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la localidad de Caurantica situada en el interior del Golfo de Paría y ubicada geográficamente a 10° 37' 58" N y 62° 14' 45" O. El área de muestro está sometida a un régimen de mareas semidiurnas con una amplitud máxima de unos 150 cm. Al producirse la bajamar queda al descubierto una amplia zona intermareal en la cual se encuentran enterradas las almejas, las cuales son recolectadas manualmente por los pobladores de la zona con ayuda de un madero o una pala metálica que usan para excavar. El sustrato está formado principalmente de grava, mezclado con piedras y cascajos suspendidos en una capa arenosa.

El área de distribución del bivalvo en la bahía de Caurantica fue estimada según muestreos preliminares, siendo dividida en tres sectores y cuatro franjas (Figura 1), atendiendo a las características topográficas. Para analizar la distribución mensual de las clases de talla y la condición de los organismos se realizaron muestreos mensuales desde marzo 2005 a febrero 2006, utilizando una cuadrata metálica de 0,25 m<sup>2</sup>.

El tamaño de la muestra fue determinado mediante la fórmula  $4\sigma^2 / L^2$ , donde L es el error de la media de la muestra y  $\sigma^2$  es la varianza estimada en un estudio piloto. Los ejemplares de *A. deflorata* fueron medidos determinando la longitud total (Lt),

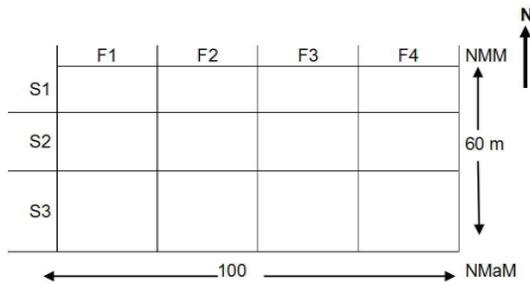


Figura 1. Sectorización del área de muestreo de *A. deflorata* en Caurantica, Península de Paria, Venezuela. F= Franjas, S= Sectores, NMM= Nivel mínimo de la marea, NMaM= Nivel máximo de marea.

estimada como la máxima distancia antero-posterior de la concha, la altura (Al) o distancia entre el umbo y el borde ventral y el ancho (An) o distancia entre las dos valvas cerradas, con un vernier digital (0,01 mm de precisión). El peso de la masa total (MT) de cada organismo fue obtenido utilizando una balanza analítica para determinar la ecuación de crecimiento relativo, las relaciones biométricas y la estructura poblacional de la especie. Las longitudes fueron distribuidas en intervalos de 2 mm Lt y se elaboraron histogramas de frecuencia mensual. El factor de condición (FC) se evaluó por la fórmula:  $FC = (MT/Lt^3) \times 100$ , donde: MT es la masa total y Lt la longitud total.

La disposición espacial, la biomasa y densidad de la población se evaluaron en muestreos intensivos realizados en enero y febrero 2006. Para ello se dividió la playa en sectores y franjas, y se evaluaron los parámetros mencionados en cada zona, utilizando el coeficiente de dispersión expresado por  $CD = S^2/X$ , donde  $S^2$  es la varianza y X la media, analizando la significancia estadística por una prueba t de Student (Rabinovich, 1980). La distribución binominal negativa se utilizó para estimar el parámetro de agregación K que oscila entre 0,5 y 3, siguiendo las recomendaciones en Bliss y Fisher (1953). Para la determinación de la biomasa ( $g/m^2$ ) y la abundancia ( $org/m^2$ ) de la especie, la masa y número de los ejemplares fueron agrupados por sectores y franjas. Utilizando la media de la densidad y la abundancia, así como el área de distribución del recurso se determinó la biomasa total de *A. deflorata* en el área de estudio.

Empleando la técnica de Box y Cox descrita en Zar (1984), los datos de biomasa fueron transformados a raíz cuadrada para corregir las desviaciones de normalidad y homogeneidad de varianzas, en función de comparar los sectores y franjas mediante un ANOVA de dos vías.

La temperatura y salinidad se determinaron mensualmente utilizando un termómetro de mercurio con 0,01°C de precisión y un refractómetro con 0,1‰ de precisión. La asociación de estos parámetros ambientales con la biomasa total y del tejido de la almeja, así como el factor de condición, fue determinado mediante la realización de una matriz de correlación de Pearson, siguiendo las recomendaciones de Zar (1984).

## RESULTADOS

Se determinó que la población está distribuida en un amplio intervalo de tallas, desde los 10 hasta los 74 mm con promedio de 37,7 mm. Las distribuciones mensuales de tallas fueron generalmente plurimodales en la mayoría de los meses, a excepción de marzo y abril 2005 (Figura 2). La longitud total promedio de la especie registró sus máximos valores en abril de 2005 y el menor en enero 2006. Desde marzo hasta agosto 2005 se recolectaron organismos con tallas mayores de 26 mm; sin embargo, a partir de septiembre 2005, comenzaron a agregarse a la población ejemplares con tallas menores que conformaron una moda bien diferenciada. La distribución total de tallas es predominantemente unimodal con un pico máximo de abundancia en la clase de 50-52 mm de longitud, aunque se observaron dos pequeños picos secundarios en las clases mayores (Figura 3).

La masa total promedio de los bivalvos presentó los mayores valores en mayo 2005 y los menores en enero del mismo año, mientras que la masa de la carne húmeda (MCH) osciló entre 1,35 g y 3,12 g con el máximo valor en mayo 2005 y el mínimo en enero 2006 (Figura 4).

La distribución microespacial de la población fue de agregación dentro de cada zona. El máximo valor del coeficiente de dispersión ( $CD = 25,62$ ) se obtuvo en la zona 1, mientras que el mínimo se observó en la 2 ( $CD = 8,64$ ), siendo en todos los casos significativamente superiores a 1 ( $P < 0,001$ ; Cuadro 1). El índice de agregación  $K_2$  de la DBN siguió la misma tendencia y osciló entre 0,85 en la zona 1 y 1,26 en la

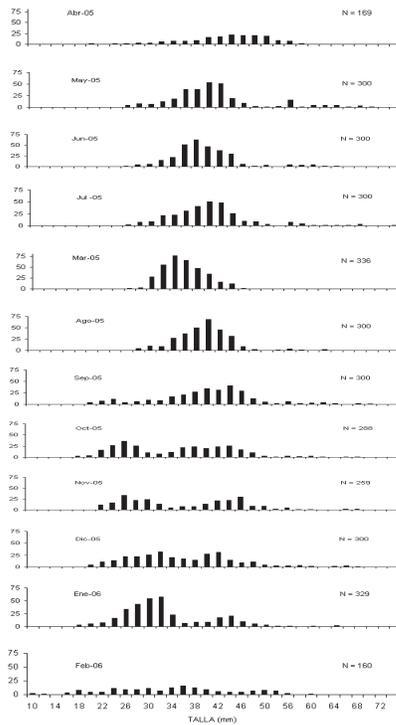


Figura 2. Distribución mensual de frecuencias de longitud de *A. deflorata* en la localidad de Caurantica Península de Paria, Venezuela.

zona 2 (Cuadro 1). En la distribución espacial de la población se evidencia un incremento progresivo en el promedio de la longitud total de los individuos desde la zona 3 (31,17) en el nivel bajo de la marea hacia la zona 1 (36,3) del nivel alto de la marea en el área de muestreo. Sin embargo, en la distribución por franjas no se observó un patrón definido, encontrándose las mayores tallas en la franja 3 correspondiente a la zona 1 (Cuadro 1).

En los muestreos de enero-febrero 2006 la biomasa de *A. deflorata* osciló entre 22 y 1.351 g/m<sup>2</sup>, correspondiendo los valores más elevados a la zona 1 y la franja 3. Los valores de la densidad (ind/m<sup>2</sup>) oscilaron entre 33 y 181 ind/m<sup>2</sup> (Cuadro 2). El promedio más elevado de la biomasa (g/m<sup>2</sup>) correspondió a la zona 3, mientras que la densidad más elevada se observó en la zona 1 (Cuadro 2), estimándose una biomasa promedio de 400,33 g/m<sup>2</sup> y una densidad promedio de 69,33 ind/m<sup>2</sup>.

El área de distribución de este recurso en la localidad fue de 3.741,4 m<sup>2</sup>, siendo la zona 2 la de mayor superficie, por lo cual la biomasa total del recurso se estimó en 1,4 t y 232.535 individuos (Cuadro 2). No se detectaron diferencias significativas en la biomasa

Cuadro 1. Parámetros de distribución espacial de *A. deflorata* obtenidos en la población de Caurantica. n= número de cuadratas, S<sup>2</sup>= varianza, X=promedio, CD = coeficiente de dispersión. t<sub>s</sub>= valor de t Student. P= significación, K<sub>2</sub>=parámetro de agregación.

Zona	n	S <sup>2</sup>	X	CD	t <sub>s</sub>	P	K <sub>2</sub>
1	28	601,96	23,5	25,6	90,5	<0,0001	0,86
2	22	109,26	12,6	8,7	24,7	<0,0001	1,26
3	24	216,39	15,8	13,7	46,6	<0,0001	0,95

Cuadro 2. Biomasa, densidad y abundancia total en cada una de las zonas de Caurantica.

Zona	Biomasa	Densidad	Superficie	Biomasa total	Abundancia total
	g/m <sup>2</sup>	ind/m <sup>2</sup>	m <sup>2</sup>	g	ind
I	416,2	94,0	702,4	292.338,9	66.026
II	344,7	51,0	2.079,0	716.631,3	106.029
III	440,1	63,0	960,0	422.596,0	60.480
Promedio	400,3	69,3			
Total			3.741,4	1.431.466,2	232.535

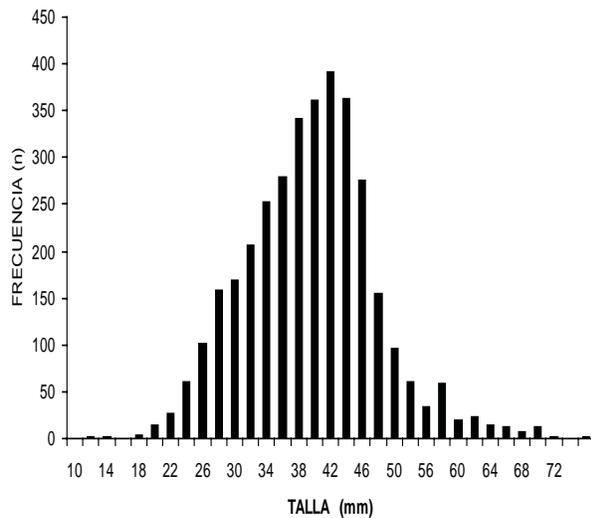


Figura 3. Distribución total de frecuencias de longitud en *A. deflorata*

entre zonas ( $F=0,38$ ;  $P>0,05$ ), pero si entre franjas ( $F=3,59$ ;  $P<0,02$ ). Igualmente tampoco se registraron diferencias significativas en la densidad entre zonas ( $F=0,57$ ;  $P>0,05$ ), pero si entre franjas ( $F=4,03$ ;  $P<0,01$ ), aunque no hubo interacción significativa ( $F=0,35$ ;  $P>0,05$ ).

La relación entre MT y Lt fue isométrica y altamente significativa ( $P<0,001$ ) con un  $r^2$  de 0,93. De la misma manera, las relaciones entre Al y An de la concha con la longitud mostraron también unas correlaciones altamente significativas ( $P<0,001$ ) con  $r^2$  de 0,97 y 0,92, respectivamente (Cuadro 3).

La masa seca de la concha representó el 74% de la masa total de la especie; igualmente la masa seca deshidratada de la carne constituyó entre 5 y 6% de la masa total con concha; finalmente la masa húmeda del tejido constituyó aproximadamente el 26% de la masa total del animal.

El factor de condición en la especie osciló entre 33,6 en mayo 2005 y 28,8 en agosto 2005, observándose disminuciones en mayo-junio y julio-agosto de ese año (Figura 4).

La temperatura mostró menor variabilidad que la salinidad en el periodo de estudio (Figura 5). Los valores mensuales de temperatura presentaron el valor máximo en septiembre 2005 ( $35^{\circ}\text{C}$ ) y el menor en enero 2006 ( $27^{\circ}\text{C}$ ), mientras que la salinidad presentó una amplia variación con máximos valores en marzo 2005 (35,3%) y mínimo en agosto y septiembre 2005

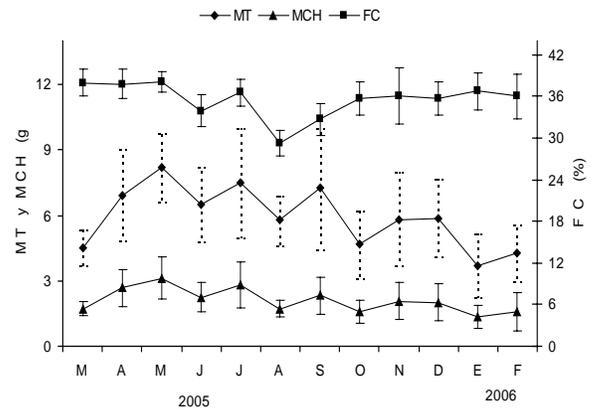


Figura 4. Variación mensual del promedio del factor de condición (FC), masa de la carne húmeda (MCH) y masa total (MT) de *A. deflorata* en Caurantica, Península de Paria, Venezuela.

(21,8%). El análisis de correlación del promedio de la masa total, masa húmeda del tejido y factor de condición mensual con los parámetros ambientales indicó que los mayores valores de correlación del coeficiente de Pearson se observaron con la masa húmeda del tejido y el factor de condición, siendo la salinidad el parámetro que explicó mejor la variabilidad entre los meses, no así la temperatura (Cuadro 4).

## DISCUSIÓN

En la bahía de Caurantica y regiones similares de la costa sur de la Península de Paría, *A. deflorata* vive enterrada en parches discontinuos de la arena en la zona intermareal, a una profundidad de 10 a 15 cm, formando densas agregaciones cohabitando con otro bivalvo *Chione* sp., el cual es menos abundante. Estas especies se encuentran expuestas al régimen semidiurno de mareas presente en la zona, razón por la cual permanecen sumergidas por cortos períodos de tiempo.

El patrón de distribución mensual de talla observado en *A. deflorata* concuerda con el reportado en una población de Turpialito, Golfo de Cariaco (Marín, 1982). Igualmente los intervalos de tallas de esta almeja en Caurantica y la estratificación por zonas fueron similares a los registrados por Domaneschi y Shea (2004) en Florida Keys, EEUU. El aumento progresivo de longitud desde la zona 3 hasta la zona 1 sugiere que la proporción de individuos juveniles

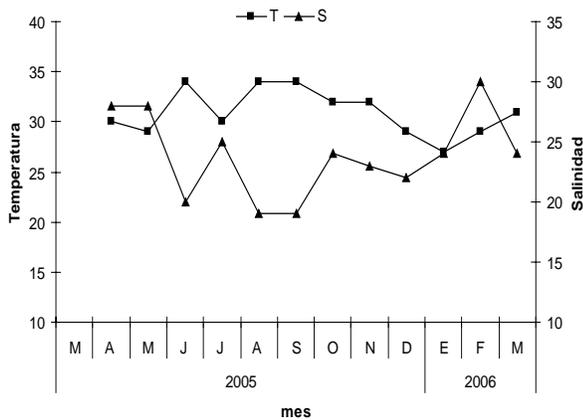


Figura 5. Variación mensual de la temperatura (°C) y la salinidad (‰) en el período abril 2005 marzo 2006 en Caurantica, Península de Paria, Venezuela.

es mayor en la zona más cercana al nivel más bajo de la marea. Este tipo de segregación en el cual los bivalvos más pequeños tienden a distribuirse a mayor profundidad también se ha reportado en *Tivela mactroides* (Prieto, 1983) y en *Cardium edule* (Stephen, 1953), señalándose que se debe a la acción dinámica del oleaje que tendría mayor poder de arrastre sobre los juveniles, los cuales son transportados hacia áreas más profundas. En otras especies como *Mya arenaria* (Turner, 1952) y *Mesodesma mactroides* (Olivier et al., 1971) se ha observado una situación inversa en

el cual los juveniles son segregados a canales de baja profundidad.

Las observaciones de campo indican que *A. deflorata* posee una escasa movilidad en el área debido a las características del sustrato (grava, piedras) y la profundidad a la cual se entierran (10 a 15 cm), que si bien les protege contra depredadores (gasterópodos y crustáceos), les impide emerger hacia la superficie. Las investigaciones de Stanley (1970) y Berg y Alatalo (1985) en las Bahamas indican que los movimientos de las poblaciones de *A. deflorata*, sólo se deben a las alteraciones del hábitat producidas por las mareas, oleajes o movimientos catastróficos de largo término que pueden inclusive eliminar poblaciones enteras por sofocación o inanición. Esta condición muestra la característica de poca movilidad de la especie.

Los resultados de dispersión espacial concuerdan con los reportados en el bivalvo *T. mactroides* en Playa Guiría, Carúpano, Venezuela (Prieto, 1983) y es característico de bivalvos que habitan en la zona intermareal como *Mesodesma mactroides* de Mar Azul, Argentina (Olivier et al., 1971) y *Anomalocardia brasiliama* en playas de Ubatuba, Brasil, en los cuales la tendencia a formar grupos no guarda relación con la inclinación de la playa ni con la granulometría del sedimento (Shaffer, 1978).

Tanto la densidad como la biomasa promedio de *A. deflorata* observada en esta zona fue inferior a la

Cuadro 3. Ecuaciones biométricas obtenidas en la especie *A. deflorata* en base a la masa total (M), longitud (Lt) y ancho (An).

	N	a	b	r <sup>2</sup>
M - Lt	3570	0,0003	2,739	0,939
Al - Lt	3570	1,7507	0,565	0,973
An - Lt	3570	0,0862	0,412	0,921

Cuadro 4. Valores del coeficiente de correlación de Pearson (r) en el análisis de correlación múltiple entre los promedios mensuales de masa total (MT), masa húmeda (MCH) y factor de condición (FC) y los parámetros ambientales, salinidad (S) y temperatura (T). P= valores de probabilidad asociados a r.

Parámetros	MT	MCH	FC	r	P
S, ‰	- 0,07	- 0,15	- 0,40	0,85	0,001
T, °C	0,10	- 0,65	- 0,73	0,12	0,25

registrada para la misma especie en las Islas Bahamas (Berg y Alatalo, 1985) que reportan una densidad media de 35 individuos por 0,25 m<sup>2</sup>. Sin embargo, son superiores a la informada para una población de la misma especie en Turpialito, Golfo de Cariaco donde se registró 34 ind/m<sup>2</sup> (Marín, 1982) y la informada para el venérido *Chione cancellata* en áreas someras del Golfo de Cariaco (Prieto *et al.*, 1998). En otras especies de bivalvos que habitan en playas de alta energía en el norte del estado Sucre y del estado Nueva Esparta como *Tivela mactroides* (Prieto *et al.*, 1983; Mendoza y Marcano, 2000) y *Donax denticulatus* (Vélez *et al.*, 1985) se han informado densidades mucho más altas. La baja densidad observada en comparación con la reportada por Berg y Alatalo (1985) puede ser explicada por la intensa extracción de que es objeto la especie por habitantes de las zonas vecinas quienes señalan que diariamente pueden extraer hasta un total de 500 almejas en unas 2 h de trabajo manual (Marcano J, observación personal).

Las relaciones entre los parámetros morfométricos (Lt, Al, An) fueron lineales y altamente significativas resultando ser muy semejantes a las informadas por Berg y Alatalo (1985) y Stanley (1970), aunque estos últimos autores utilizaron como variable dependiente a la longitud que fue entre 1,6 y 1,7 veces la altura de la concha.

La dispersión en parches discontinuos coincide con las reportadas por Berg y Alatalo (1985), en los cayos de la Isla Berry (Las Bahamas) quienes reportan además que *A. deflorata* se alimenta sólo durante cortos períodos de sumergimiento que tienen lugar con la marea alta.

Se encontró una asociación negativa de la variabilidad de salinidad con la variación mensual del promedio del factor de condición y la masa de la carne, la cual puede ser generada por la variación que presenta este parámetro debido tanto a las descargas estacionales del río Orinoco como a los aportes de agua dulce de los riachuelos que desembocan cerca del área durante la estación de lluvias. No obstante, las temperaturas fueron siempre elevadas y no muestran una asociación significativa con los parámetros de condición. Esto sugiere poca influencia de la temperatura en la condición fisiológica de la especie y a la vez una alta resistencia a las elevadas temperaturas registradas en el área de estudio (27 a 35°C). Son necesarios estudios de respuestas fisiológicas en

el organismo con un intervalo de temperatura para verificar esta hipótesis plantada.

Debido a la abundancia del recurso y a la explotación artesanal de que es objeto, se recomienda continuar con los estudios biológicos y de evaluación de la especie para profundizar el conocimiento del ciclo de vida, lo cual permitiría establecer medidas regulatorias que mejoren la explotación sustentable del recurso en las diferentes zonas de la península de Paria, estado Sucre.

### LITERATURA CITADA

- Abbott R. T. 1974. American Sea Shells. Van Nostrand Reinhold Company, New York. EEUU.
- Berg C.J. y P. Alatalo. 1985. Biology of the tropical bivalve *Asaphis deflorata* (Linné, 1758). Bull. Mar. Sci., 37: 827-838.
- Bliss C. y R.A. Fisher 1953. Fitting the negative binomial distribution to binomial distribution to biological data. Biometrics, 9: 175- 200.
- Cernohorsky W.O. 1972. Marine Shells of the Pacific. Vol. 2. Pacific Publications. Sydney, Australia.
- Domaneschi O. y E. Shea. 2004. Shell morphometry of Western Atlantic and Indo -West Pacific *Asaphis deflorata*. Functional morphology and ecological aspects of *A. deflorata* from Florida Keys, USA. (Bivalvia: Psammobidae). Malacología, 46(2): 249-275.
- Gines H. 1972. Carta Pesquera de Venezuela. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Monografía 16. Caracas, Venezuela.
- Lodeiros C., B. Marín y A. Prieto. 1999. Catálogo de moluscos marinos de las costas nororientales de Venezuela: Clase Bivalvia. Fundación Audubon, Caracas. Venezuela.
- Marín A. 1982. Crecimiento y producción en una población natural de la almeja, *Asaphis deflorata* (Eulamellibranchia: Sanguinolaridae). Trabajo de Grado, Lic. en Biología, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela
- Mendoza J y J. Marcano. 2000. Abundancia y Evaluación del guacuco *Tivela mactroides* en la Ensenada La Guardia. Isla de Margarita, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr., 39(182): 79-91.

- Prashad B. 1932. The Lamellibranchia of the Siboga Expedition. Systematic Part.II. Pelecypoda (Exclusive of the Pectinidae). Siboga Expedition Reports. Monograph 53: 1-353.
- Prieto A. 1983. Ecología de *Tivela mactroides* (Mollusca, Bivalvia) en Playa Guiria (Sucre, Venezuela). Bol. Inst. Oceanogr., 22(1-2): 7-19.
- Prieto A., C. Ramos y D. Arrieche. 1998. Producción secundaria de una población de *Chione cancellata* (Bivalvia: Veneridae) de la costa sur del golfo de Cariaco Venezuela. Rev. Biol. Trop., 46(4): 913 - 919
- Prieto A., Nuñez P. y C. Lodeiros. 2005. Evaluación de bancos de moluscos. Informe Técnico. Línea Base Ambiental Proyecto Mariscal Sucre. Análisis Espacial y Temporal de Pesquerías Costa Norte y Sur de Paria UDO-PDVSA. Cumaná, Venezuela.
- Princz D. 1973. Moluscos gasterópodos y pelecipodos del estado Nueva Esparta, Venezuela. Mem. Soc. Cien. Nat. La Salle, 33(96): 169 - 222.
- Purchon R.D. 1960. The stomach in the Eulamellibranchia, stomach type IV and V. Proc. Zool. Soc. Lond., 135: 431- 489.
- Rabinovich J. 1980. Introducción a la Ecología de Poblaciones Animales. Editorial Continental. México.
- Shaffer N.Y. 1978. Analise populacional de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin 1971) na praia do Saco da Ribeira. Ubatuba, Estado de Sao Paulo. Resumen V Simposio Latinoamericano Oceanografía Biológica. Sao Paulo, Brazil, p. 141.
- Stanley S.M. 1970. Relation on shell form to life habits of the bivalvia (Mollusca). Geol. Soc. Amer. Mem., 125: 1- 296.
- Stephen A.C. 1953. Life on some sandy shores: *En* Essays in Marine Biology. The Richard Elmhirst Memorial Lectures. pp. 50-72.
- Turner H.J. 1952. Raccon Island set. Fifth Report in investigation on the shell fisheries of Massachussets. Mass. Dpt. Conservation. p.30-32.
- Vélez A., B. Venables, L. y L. Fitzpatrick 1985. Growth and reproduction of the tropical beach clam *Donax denticulatus* (Tellinidae) in eastern Venezuela. Caribb. J. Sci., 21: 125-136.
- White K.M. 1942. The pericardial cavity and the pericardial gland of the Lamellibranchia. Proc. Malacol. Soc. Lond., 25: 37-88.
- Willan R.C. 1993. Taxonomic revision of the family Psammobidae (Bivalvia: Tellinoidea) in the Australian and New Zealand region. Record Aust. Mus. Sup., 18: 1-132.
- Work R.C. 1969. Systematic, ecology and distribution of the mollusks of Los Roques Venezuela. Bull. Mar. Sci., 19:614-711.
- Zar J. H. 1984. Biostatistical Analysis. 2<sup>da</sup> ed. Prentice-Hall, New Jersey. EEUU.

## Selectividad de la red de enmalle en la captura del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* de la cuenca del Orinoco medio

Ángel González<sup>1\*</sup>, Jeremy Mendoza<sup>2</sup>, Freddy Arocha<sup>3</sup> y Arístide Márquez<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instituto Limnológico, Universidad de Oriente, Caicara del Orinoco, estado Bolívar. Venezuela. \*Correo electrónico: angelgonzalez78@hotmail.com

<sup>2</sup> Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente (IOV-UDO), Dep. Biología Pesquera, Cumaná, estado Sucre. Venezuela.

<sup>3</sup> IOV-UDO, Dep. Biología Pesquera, Cumaná, estado Sucre. Venezuela.

<sup>4</sup> IOV-UDO, Dep. Oceanografía Química, Cumaná, estado Sucre. Venezuela.

---

### RESUMEN

Se utilizó el método indirecto de la comparación de las capturas de *Pseudoplatystoma fasciatum* por redes de enmalle de 10 cm de abertura de malla con las capturas con redes de 7 cm de abertura para estudiar la selectividad, empleándose 224 peces capturados con redes de 10 cm de abertura (30 - 84 cm de longitud total) y 76 peces capturados con redes de 7 cm de abertura (28 - 51 cm de longitud total), en una laguna de inundación del Orinoco medio durante la época de sequía. Los parámetros de selectividad se estimaron utilizando modelos log-lineal en cuatro distribuciones estadísticas (normal con varianza común, normal con varianza distinta, gamma y log-normal), suponiendo para los dos casos de un poder de pesca igual para cada malla y otro proporcional al tamaño de la malla. El valor más pequeño de la varianza fue utilizado como criterio de bondad de ajuste de los modelos, resultando el modelo normal con varianza distinta y un poder de pesca proporcional al tamaño de la malla como el de mejor ajuste. La talla óptima de captura de *P. fasciatum* por las redes de 10 cm de tamaño de malla fue  $51 \pm 8,9$  cm de longitud total. Estas redes son frecuentemente utilizadas en la cuenca del Orinoco medio y según los resultados, el promedio de la longitud en las capturas es brevemente menor que el tamaño de primera madurez sexual de la especie y gran parte de los peces capturados no tienen el tamaño mínimo requerido por las regulaciones de pesca.

*Palabras clave:* Administración pesquera, Orinoco, *Pseudoplatystoma fasciatum*, red de enmalle, talla óptima.

---

### Gillnet selectivity in the capture of barred sorubim *Pseudoplatystoma fasciatum* in the middle Orinoco basin

### ABSTRACT

An indirect method of the comparison of the captures of *Pseudoplatystoma fasciatum* by nets of 10 cm of mesh opening with the captures with nets of 7 cm of opening was used to study the selectivity, being used 224 fish captured with nets of 10 cm opening (30 - 84 cm total length) and 76 fish captured with nets of 7 cm opening (28 - 51 cm of total length) in a lagoon flood of the middle Orinoco during the dry season. The selectivity parameters were estimated using log-linear models in four statistical distributions (normal with common variance, normal with different variance, gamma and log-normal), assuming for the two cases a fishing power equally for each mesh and proportional to the size of the mesh. The smallest value in the variance was used as an approach of kindness of adjustment of the models, providing the best adjustment the normal pattern with different variance and a power of proportional fishing to the size of the mesh. The optimum size of capture of *P. fasciatum* for the 10 cm mesh was estimated at  $51 \pm 8.9$  cm total length. These nets are frequently used in the basin of middle Orinoco and according to the results the average of the length in the captures is shortly smaller than the size of

first sexual maturity of the species and great part of the captured fish don't have the minimum size required by the fishing regulations.

*Keywords:* Fishing administration, Orinoco, *Pseudoplatystoma fasciatum*, gillnet, optimum size.

## INTRODUCCION

*Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1866) y *P. tigrinum* (Valenciennes, 1840) constituyen dos de las especies de bagres rayados más conocidas del género *Pseudoplatystoma* de la Familia Pimelodidae de los peces agua dulce, ampliamente distribuidas en las Cuencas del Orinoco y el Amazonas (Buitrago-Suárez y Burr, 2007). En Venezuela están incluidas entre las de mayor importancia pesquera con un desembarque de 4.678 t (15,5% de la producción nacional), sólo superada por el coporo *Prochilodus mariae* (Novoa, 2002).

De la producción nacional de bagres rayados aproximadamente la mitad proviene del Orinoco (Novoa, 2002), resaltando en importancia la cuenca del Orinoco medio por la presencia del puerto pesquero de Cabruta (estado Guárico) como uno de los más importantes del país (Novoa *et al*, 1984), con un promedio anual en los desembarques de 40 t (30% de la composición de la captura) y con predominio en las capturas de la especie *P. fasciatum* (González, 2002). De allí que esta especie sea una de las más explotadas por la pesca artesanal de la cuenca del Orinoco medio, sin que se conozca su estado de explotación y si ésta cumple con las medidas establecidas para un buen manejo del recurso, según las Resoluciones MAC 178 y 336 (Novoa, 2002) y lo indicado por Copescal (1999). En este sentido, considerando que la red de enmalle de 10 cm de abertura de malla es una de las más utilizadas para la captura de *P. fasciatum* en la región del Orinoco medio (González, 2002), se propuso investigar su selectividad con miras al conocimiento de un posible impacto sobre los peces inmaduros. Esta selectividad permitiría además el ajuste de las frecuencias de tallas en muestras poblacionales tomadas con este tipo de red, con el fin de realizar estudios sobre el crecimiento, mortalidad y rendimiento sostenible de la especie, como otra forma de manejo del recurso.

## MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó durante el mes de noviembre del 2004 (época de sequía) en la laguna Castillero (7°39'09" N y 66°09'00" O) del río Orinoco medio en Venezuela, una de las lagunas más explotadas por la pesca artesanal de la región además del canal principal del Orinoco. La selectividad de la red de

enmalle de 10 cm de abertura de malla, como red experimental, se determinó utilizando el método indirecto de la comparación de las frecuencias de tallas en sus capturas, con las frecuencias de tallas capturadas por una red de 7 cm de abertura. Para ello se calaron de manera aleatoria cuatro pares de redes de 10 y 7 cm de abertura en diferentes lugares de la costa con vegetación de la laguna durante 10 días continuos, las cuales fueron revisadas cada dos horas para recoger las capturas. Estas capturas fueron registradas y totalizadas para cada tipo de red midiendo individualmente los peces en su longitud total (LT) en cm, determinándose posteriormente las frecuencias por clases de talla de los peces capturados por cada malla (Millar y Holst, 1997; Özyurt y Avsar, 2002; Booth y Poots, 2006). Todas las redes tuvieron las mismas características de longitud (50 m) y altura (2 m), así como el mismo patrón de construcción utilizado por los pescadores artesanales de la región.

Se utilizó el modelo log-lineal para estimar las curvas de selectividad para ambas redes de manera conjunta, considerándose cuatro distribuciones estadísticas para el ajuste de los datos: normal con varianza común, normal con varianza distinta, gamma y log-normal. Para cada una de las distribuciones estadísticas se consideraron dos casos distintos: poder de pesca igual para cada malla y poder de pesca proporcional al tamaño de la malla (Millar y Holst, 1997). El menor valor de la varianza estimada para cada curva de selectividad fue utilizado como criterio de bondad de ajuste de los diferentes modelos utilizados. En cada modelo la fórmula de la distribución de la longitud de peces en la población no fue establecida, utilizándose el principio de similitud geométrica (Baranov, 1948) para estimar la talla óptima de captura (moda) y su desviación. Según este principio, la moda ( $\mu_j$ ) y la desviación ( $\sigma_j$ ) de la curva son proporcionales al tamaño de la malla  $m_j$ , de tal manera que  $\mu_j = k_1 m_j$  y  $\sigma_j^2 = k_2 m_j^2$ , donde  $k_1$  y  $k_2$  fueron los parámetros de selectividad estimados.

El modelo log-lineal estándar fue representado por la ecuación  $\log(V_{Lj}) = \log(p_j) + \log(\lambda_L) + \log(r_j(L))$ , donde  $V_{Lj}$  fue el valor esperado de la captura de peces de longitud  $L$  por las redes de enmalle  $j$ ,  $p_j$  fue la intensidad de pesca relativa de dichas redes (medida combinada del esfuerzo de pesca y el poder de pesca),  $\lambda_L$  fue la abundancia de la clase de longitud  $L$  y  $r_j(L)$  la probabilidad de retención de los peces de longitud

$L$  por la red  $j$ . El término  $\log(r_j(L))$  fue expresado como igual a  $\sum \beta_i \cdot f_i(j,L)$ , el cual denota un término que es función solo de  $m_j$  y/o  $L$ . El no establecimiento de la fórmula de la distribución de la longitud de los peces en la población y considerando una intensidad de pesca relativa igual para cada tamaño de abertura de malla, permitió la representación del modelo log-lineal como  $\log(V_{Lj}) = \text{factor}(L) + \sum \beta_i \cdot f_i(j,L)$ ; mientras que cuando se supuso una intensidad de pesca relativa proporcional al tamaño de cada abertura de malla, el modelo fue representado como  $\log(V_{Lj}) = \log(m_j) + \text{factor}(L) + \sum \beta_i \cdot f_i(j,L)$ . Esto considerando que la intensidad de pesca relativa dependió sólo del poder de pesca (tamaño de la malla  $m_j$ ) por cuanto las redes fueron caladas con igual esfuerzo. El término "factor ( $L$ )" denotó que las clases de longitud fueron fijadas como un factor en cada uno de los modelos utilizados.

El término  $\sum \beta_i \cdot f_i(j,L)$  fue específico para cada distribución estadística según las siguientes ecuaciones (Millar y Holst, 1997; Millar y Fryer, 1999):

#### 1.- Modelo Normal con varianza común:

$$b.- \sum \beta_i \cdot f_i(j,L) = \left[ \frac{k_1}{k_2} \right] \cdot \left\{ \frac{L}{m_j} \right\} + \left[ -\frac{1}{2k_2} \right] \cdot \left\{ \left( \frac{L}{m_j} \right)^2 \right\}$$

$$a.- \text{Selectividad} = \exp \left[ \frac{(L - k \cdot m)^2}{2\sigma^2} \right]$$

$$b.- \sum \beta_i \cdot f_i(j,L) = \left[ \frac{k}{\sigma^2} \right] \cdot \{L \cdot m_j\} + \left[ \frac{k^2}{2\sigma^2} \right] \cdot \{m_j^2\}$$

c.- Parámetros:  $k$  y  $\sigma$ .

#### 2.- Modelo Normal con varianza distinta:

$$a.- \text{Selectividad} = \exp \left[ \frac{(L - k_1 \cdot m)^2}{2k_2 \cdot m_j^2} \right]$$

c.- Parámetros:  $k_1$  y  $k_2$ .

#### 3.- Modelo Gamma:

$$a.- \text{Selectividad} = \left[ \frac{L}{(\alpha-1) \cdot k \cdot m_j} \right]^{\alpha-1} \exp \left( \alpha-1 - \frac{L}{k \cdot m_j} \right)$$

$$b.- \sum \beta_i \cdot f_i(j,L): [\alpha-1] \cdot \left\{ \log \left( \frac{L}{m_j} \right) \right\} + \left[ -\frac{1}{k} \right] \cdot \left\{ \frac{L}{m_j} \right\}$$

c.- Parámetros:  $\alpha$  y  $k$

#### 4.- Modelo Log-normal:

$$a.- \text{Selectividad} = \frac{1}{L} \exp \left( \mu_1 + \log \left( \frac{m_j}{m_1} \right) - \frac{\sigma^2}{2} - \frac{(\log(L) - \mu_1 - \log \left( \frac{m_j}{m_1} \right))^2}{2\sigma^2} \right)$$

$$b.- \sum \beta_i \cdot f_i(j,L): \left[ \frac{1}{\sigma^2} \right] \cdot \left\{ \log(L) \cdot \log \left( \frac{m_j}{m_1} \right) - \frac{1}{2} \log^2 \left( \frac{m_j}{m_1} \right) \right\} + \left[ 1 - \frac{\mu_1}{\sigma^2} \right] \cdot \left\{ \log \left( \frac{m_j}{m_1} \right) \right\}$$

c.- Parámetros:  $\mu_1$  y  $\sigma$

Los parámetros de selectividad fueron estimados a partir del ajuste de cada modelo, escogiendo para el estudio aquellos parámetros correspondientes al modelo de mejor ajuste según el menor valor de la varianza.

### RESULTADOS

Con las redes de 7 cm de abertura de malla se capturaron un total de 76 peces de longitudes comprendidas entre 28 y 51 cm LT y 244 peces de tallas comprendidas entre 28 y 84 cm LT con las redes de 10 cm de abertura de malla (Figura 1). En el Cuadro 1 se encuentran representados los resultados de las distribuciones estadísticas consideradas para el ajuste de los datos. El modelo log-lineal aplicado a la curvas de selectividad Normal con varianza distinta fue el que presentó el mejor ajuste de los datos (menor valor de la desviación), principalmente donde se supuso un poder de pesca proporcional al tamaño de la abertura de la malla. Los parámetros de selectividad estimados a través de este modelo tuvieron un valor de  $k_1 = 5,1$  y  $k_2 = 0,8$  y fueron los utilizados para la determinación de la curva de selectividad. Según estos parámetros y el principio de similitud geométrica, la talla óptima de captura de *P. fasciatus* por las redes de 7 cm de abertura de malla fue  $\mu = 5,1 * 7 = 35,7$  cm LT y  $\mu = 5,1 * 10 = 51$  cm LT, con desviaciones estándar de  $\sigma = \sqrt{0,8 * 7^2} = 6,3$  cm LT y  $\sigma = \sqrt{0,8 * 10^2} = 8,9$  cm LT, respectivamente.

Se estimaron dos curvas de selectividad en forma de campana cuyas modas correspondieron a las tallas óptimas de captura (Figura 1). El intervalo de selección ó ancho de las curvas (0,1% de retención) estuvo aproximadamente comprendido entre 20 y 47 cm LT para las redes de 7 cm de abertura y entre 31 y 70 cm LT para las redes de 10 cm. La altura de las curvas representó la eficiencia de cada abertura de

Cuadro 1. Parámetros y desviación del modelo Log-normal aplicado a las curvas de selectividad Normal con varianza común, Normal con varianza distinta, Distribución Gamma y Distribución Log-normal.

Modelo	Igual Poder de pesca		Poder de pesca proporcional	
	Parámetros	Desv.	Parámetros	Desv.
Normal con varianza común	$(k, \sigma) = (4,7; 7,4)$	18,56	$(k, \sigma) = (4,9; 7,5)$	18,56
Normal con varianza distinta	$(k_1, k_2) = (5,0; 0,8)$	16,21	$(k_1, k_2) = (5,1; 0,8)$	16,19
Distribución Gamma	$(\alpha, k) = (30,7; 0,2)$	18,56	$(\alpha, k) = (31,7; 0,2)$	18,56
Distribución Log-normal	$(\mu, \sigma) = (3,5; 0,2)$	21,65	$(\mu, \sigma) = (3,6; 0,2)$	21,65

malla para la captura de los peces de talla óptima y fue de aproximadamente 0,70 para las redes de 7 cm de abertura y uno para las redes de 10 cm de abertura (Figura 1).

El análisis de las desviaciones aplicado al modelo de selectividad normal con varianza distinta y poder de pesca proporcional a la abertura de malla comprobó el ajuste satisfactorio del modelo a las tallas capturadas, sin tendencias evidentes en el comportamiento de las desviaciones a las diferentes tallas (Figura 2).

## DISCUSION

La selectividad de las redes de enmalle puede estimarse directamente a través de experimentos que incluyan la captura y recaptura de peces marcados en poblaciones de distribución por tallas conocidas como se ha hecho en las especies *Stizostedion vitreum vitreum* (Hamley y Regier, 1973), *Salmo trutta* (Jensen, 1995), *Rutilus rutilus* (Borgström, 1989) y *Oncorhynchus mykiss* (Losanes *et al.*, 1992). Aunque la mayoría de los estudios de selectividad se han realizado indirectamente a través de la comparación de las capturas de la pesca simultánea con redes de diferentes variantes (aberturas de malla) ejercidas con un mismo esfuerzo (Hamley, 1975; Millar y Fryer, 1999). Para ello se han utilizado series de redes de diferentes aberturas como en el caso de *Perca fluviatilis* y *R. rutilus* (Anu, 2004), *Cyprinus carpio* (Özyurt y Avsar, 2005), *Amblygaster sirm* (Karunasinghe y Wijeyaratne, 1991), *P. fluviatilis* (Psuty-Lipska *et al.*, 2006) y *Stizostedion lucioperca* y *Abramis brama* (Machiels *et al.*, 1994), así como pares de redes de mallas diferentes como en el caso de *Plagioscion squamosissimus* (González *et al.*, 2003), *Cyprinus carpio* (Özyurt y Avsar, 2002) y *Stizostedion lucioperca* (Balik, 1999). Los parámetros

de selectividad en cada uno de estos casos se han estimado utilizando diferentes modelos de curvas de selectividad como el modelo normal, log-normal, modelo gamma, modelo de dos lados y el modelo logístico (Hovgard y Lassen, 2000; Anu, 2004).

En el presente trabajo se comparó la captura de *P. fasciatus* con una red de enmalle experimental (10 cm de abertura de malla) con la captura de una red de 7 cm de abertura como variante (Millar y Fryer, 1999; Hovgard y Lassen, 2000; Anu, 2004), en cuyo caso el modelo de regresión lineal de Holt (1963) ha sido el más utilizado para el estudio de la selectividad (Hamley, 1975; Sparre y Venema, 1995; Özyurt y Avsar, 2002). Sin embargo, como este modelo de regresión lineal tiene el inconveniente de ser específico para curvas de selectividad que siguen una distribución normal, además de no aplicarse a los datos completos de la captura por cuanto excluye algunos datos de tallas que no son lo suficiente representativos, como fue el caso de *P. fasciatus*, se optó por la alternativa de aplicar modelos log-lineal para curvas de selectividad; los cuales son aplicables a curvas de selectividad de diferentes formas y a la totalidad de los datos incluyendo las pequeñas capturas (Millar y Holst, 1997). Estos modelos de log-lineal tienen también la ventaja de asumir que las varianzas de las dos curvas de selectividad son distintas (contrario al modelo de regresión lineal) y considerar un poder de pesca proporcional al tamaño de la malla, lo cual resultó lo más adecuado en el presente caso.

Con el modelo de selectividad normal con varianza distinta y poder de pesca proporcional al tamaño de la abertura de malla se estimó una talla óptima de captura de *P. fasciatus* de  $51,0 \pm 8,9$  cm LT para las redes de 10 cm de abertura de malla. Según lo indicado por Özyurt y Avsar (2002) una

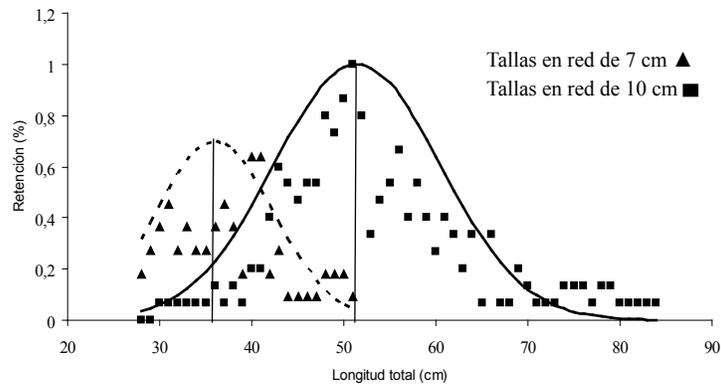


Figura 1. Curvas de selectividad de las redes de enmalle según modelo normal con varianza distinta y poder de pesca proporcional a la abertura de malla.

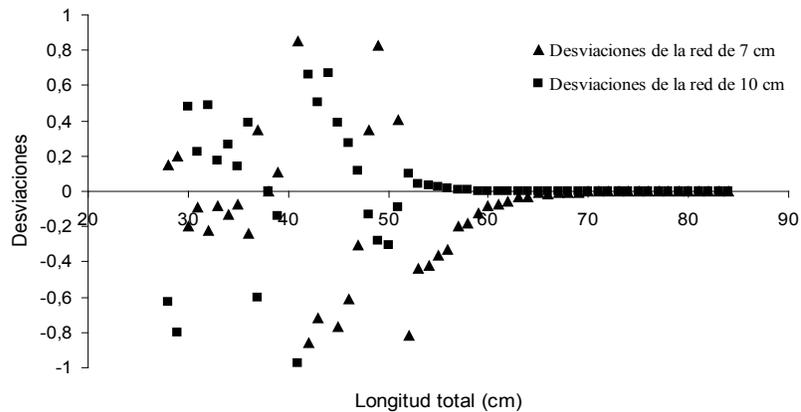


Figura 2. Desviaciones del modelo de selectividad normal con varianza distinta y poder de pesca proporcional a la abertura de malla sobre *P. fasciatum*

pesca recomendable de *P. fasciatum* se lograría cuando la talla óptima de captura se ajuste a la talla de primera madurez, lo cual aparentemente no fue el caso de las redes de 10 cm de abertura de malla que se utilizan comúnmente en el Orinoco. Esta talla óptima de captura fue aparentemente inferior a la talla de primera madurez de *P. fasciatum*, estimada para el Orinoco en 53 cm LT (Loubens y Aquim, 1986), 54 cm de longitud estándar para el bajo Apure y Arauca

(Barbarino, 2005) y 39 cm de longitud estándar para el río Apure (Reid, 1983). Tallas de primera madurez inferiores a la talla óptima de captura de *P. fasciatum* por las redes de 10 cm de abertura de malla, también han sido reportada para Laguna Grande (estado Monagas, Venezuela) (Reyes, 1989), la cuenca del Mamoré en Bolivia (Loubens y Panfili, 2000) y la Guayana Francesa (Le Bail *et al.*, 2000).

Aparentemente la talla de primera madurez de *P. fasciatum* tiende a variar en diferentes regiones y por lo tanto existe la necesidad de establecerla exactamente para la región del Orinoco medio, para comprobar si en realidad es afectada por el uso de redes de enmalle de 10 cm de abertura de malla. Lo que sí es evidente es que este tipo de red en la región del Orinoco medio está capturando eficientemente ejemplares de *P. fasciatum* que no tienen la talla mínima establecida por la ley de pesca, ubicada en 60 cm de longitud total con redes de 12 cm de abertura de malla, según Resoluciones MAC 178 y 336 (Novoa, 2002). La determinación exacta de la talla de primera madurez de la especie permitiría establecer realmente su talla mínima de captura y por ende la abertura de malla más adecuada, ante la posibilidad de que estas varíen con las diferentes regiones del Orinoco como se ha demostrado para el Amazonas (Barthem *et al.*, 1995).

### CONCLUSIONES

Las redes de enmalle que se utilizan en la región del Orinoco medio para la pesca comercial de especies como *P. fasciatum* deben estar diseñadas adecuadamente para impedir la captura de peces de inmaduros y cumplir con lo establecido en los reglamentos de pesca, principalmente en lo que se refiere a la talla mínima de captura. La abertura de malla de las redes para la pesca de *P. fasciatum* se ha establecido según la ley de pesca en 12 cm o más, sin embargo en la región del Orinoco medio es común el uso de redes de 10 cm de abertura que capturan con mayor eficiencia peces de 51 cm de longitud total, aparentemente inmaduros e inferiores a la talla mínima establecida por los reglamentos de pesca. De no corregirse el uso de este tipo de redes para la captura de *P. fasciatum* en la cuenca del Orinoco medio, se estaría corriendo el riesgo de una disminución de la producción en el futuro e incluso una extinción comercial de la especie.

### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente por el financiamiento del proyecto que dio origen a esta investigación, así como a la Dirección del Instituto Limnológico de la Universidad de Oriente por la logística prestada. A Alexis Guerrero, Juan Infante, Humberto Solórzano y Carlos Cardozo, del personal de empleados y obreros del Instituto

Limnológico, por su colaboración en los muestreos y otros aspectos del trabajo.

### LITERATURA CITADA

- Anu A. 2004. Selectivity of gillnet series in sampling of perch (*Perca fluviatilis* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.) in the coastal sea of Estonia. United Nations University, Fisheries Training Programme, Final Project. Tokio, Japón.
- Balik I. 1999. Investigation of the selectivity of multifilament and monofilament gill nets on pike perch (*Stizostedion lucioperca* (L., 1758)) fishing in lake Beysehir. Tr. J. Zool., 23(1999): 179-183.
- Baranov F.I. 1948. The Theory and Assessment of Fishing Gear. (Cap. 7, Theory of fishing with gill nets). Pishchepromizdat, Moscu, Rusia. Traducción del ruso por Ontario Dep. Lands For. Maple. Ontario, Canadá.
- Barbarino A. 2005. Aspectos biológicos y pesqueros de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766) y *P. tigrinum* (Valenciennes, 1840) en la parte baja de los ríos Apure y Arauca, Venezuela. Mem. Fund. La Salle Cienc. Nat., 163: 71-91.
- Barthem R.B., H. Guerra y M. Valderrama. 1995. Diagnóstico de los recursos hidrobiológicos de la Amazonia. Tratado de Cooperación Amazónica. Brasilia, Brasil.
- Borgström R. 1989. Direct estimation of gill-net selectivity for roach (*Rutilus rutilus* L.) in a small lake. Fish. Res., 7(3): 289-298.
- Booth A.J. y W.M. Potes. 2006. Estimating gill-net selectivity for *Labeo umbratus* (Pisces: Cyprinidae), and an evaluation of using fyke-nets as a non-destructive sampling gear in small reservoirs. Fish. Res., 79(2): 202-209.
- Buitrago-Suárez U.A. y B.M. Burr. 2007. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. Zootaxa, 1512: 1-38.
- Copescal 1999. Manejo de las pesquerías de bagres migratorios del Amazonas. Comisión de Pesca Continental para América Latina. Santiago, Chile.

- González S.A.R. 2002. Dinámica poblacional de la Curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en la región del Orinoco Medio. Tesis de Maestría en Ciencias Marinas. Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela. Cumaná, Venezuela.
- González A., J. Mendoza y F. Arocha. 2003. Selectividad de la red de enmalle sobre la curvinata de río *Plagioscion squamosissimus* en el Orinoco medio. *Zootecnia Trop.*, 21(4): 371-382.
- Hamley J.M. y H.A. Regier. 1973. Direct estimates of gillnet selectivity to walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*). *J. Fish Res. Board Can.*, 30: 817-830.
- Hamley J.M. 1975. Review of gillnet selectivity. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32:1943-1969.
- Holt S.J. 1963. A method for determining gear selectivity and its application. *Inter. Commn. Northwest Atlantic Fish. Spec. Publ.*, 5: 106-115.
- Hovgard H. y H. Lassen. 2000. Manual on estimation of selectivity for gillnet and longline gears in abundant surveys. *FAO Fish. Tech. Paper No. 397*. Roma, Italia.
- Jensen J.W. 1995. A direct estimate of gillnet selectivity for brown trout. *J. Fish. Biol.*, 46(5): 857-861.
- Karunasinghe W.P.N. y M.J.S. Wijeyaratne. 1991. Selectivity estimates for Amblygaster sirm (Clupeidae) in the small-meshed gill net fishery on the west coast of Sri Lanka. *Fish. Res.*, 10(3-4): 199-205.
- Le Bail P., Y.P. Keith y P. Planquette. 2000. Atlas des poissons d'eau douce de Guyane (Tome 2, Fascicule II). *Pub. Scient. Museum Nattionat Hist. Nat.*, Paris, Francia.
- Losanes L.P., K. Matuda y Y. Fujimori. 1992. Estimating the entangling effect of trammel and semi-trammel net selectivity on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish. Res.*, 15(3): 229-242.
- Loubens G. y J.L. Aquim. 1986. Sexualidad y reproducción de los principales peces de la cuenca del Rio Mamore, Beni-Bolivia. ORSTOM-Cordebene-UTB, *Inf. Cien. No. 5*. Trinidad, Bolivia.
- Loubens G. y J. Panfili. 2000. Biologie de *Pseudoplatystoma fasciatum* et *Pseudoplatystoma tigrinum* (Teleostei : Pimelodidae) dans le bassin du Mamoré (Amazonie Bolivienne). *Ichthyl. Explor. Freshwat.*, 11: 13-34.
- Machiels M.A.M., M. Klinge, R. Lanfers y W.L.T. Densen. 1994. Effect of snood length and hanging ratio on efficiency and selectivity of bottom-set gillnets for pikeperch, *Stizostedion lucioperca L.*, and bream *Abramis brama*. *Fish. Res.*, 19(3-4): 231-239.
- Millar R.B. y R. Holst. 1997. Estimation of gillnet and hook selectivity using log-linear models. *ICES J. Marine Sci.*, 54: 471-477.
- Millar R.B. y R.B. Fryer. 1999. Estimating the size-selection curves of towed gears, traps, nets and hooks. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, 9: 89-116.
- Novoa D.F., R. Ramos y E. Cartaza. 1984. Las pesquerías artesanales del río Orinoco, Sector Caicara - Cabruta. Parte I. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle*, 121(44): 163-215.
- Novoa D.F. 2002. Los recursos pesqueros del eje fluvial Orinoco-Apure: Presente y Futuro. *Inst. Nac. Pesca, Caracas. Venezuela*.
- Özyurt C.E. y D. Avsar. 2005. Investigation of the selectivity parameters for carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) in Seyhan Dam Lake. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29(2): 219-223.
- Psuty-Lipska I., N. Madsen, B. Draganik y W. Blady. 2006. Gillnet selectivity for perch (*Perca fluviatilis*) in the Szczecin Lagoon, Poland. *Fish. Res.* 80(2-3): 339-244.
- Reid S. 1983. La biología de los bagres rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del río Apure, Venezuela. *Rev. UNELLEZ Cienc. Tecnol.*, 1: 13-41.
- Reyes A. 1989. Algunos aspectos del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*, Linnaeus 1766 (Pises: Pimelodidae) en el ecosistema Laguna Grande, estado Monagas, Venezuela. Tesis de

Maestría en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Cumaná, Venezuela.

Sparre P. y S.C. Venema. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual. FAO. Doc. Tec. Pesca. 306/1. Roma, Italia.

## Nota Técnica

### Efecto como desparasitante del metronidazol y tinidazol frente a *Trichomonas muris* en hamsters

Anabel Hernández<sup>1\*</sup>, Magaly Molina<sup>1</sup>, Gustavo Morales<sup>1</sup>, Julio Garmendia<sup>2</sup>  
y Zoraida Nava<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Sección de Sanidad Animal. Apartado Postal 70. Maracay 2101. Aragua. Venezuela. \*E-mail: heranabel@gmail.com

<sup>2</sup> Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay. Aragua. Venezuela.

---

#### RESUMEN

Esta investigación evaluó la eficacia del metronidazol y tinidazol utilizados para eliminar *Trichomonas muris* en hámsters infectados naturalmente provenientes de un bioterio convencional. Se seleccionaron 40 hámsters machos positivos a *Trichomonas muris*, diagnosticados por demostración del trofozoito en examen coprológico. Se les administraron los antiparasitarios a concentraciones crecientes de 2,5 5,0 6,25 y 7,5 mg/mL por vía oral en una sola toma diaria por 5 días. Posterior a estas aplicaciones se instauró un segundo tratamiento, cuya dosificación fue 7,5 mg/mL, con dos tomas diarias. Finalmente, al culminar dichos tratamientos se les practicó la necropsia. El resultado del primer tratamiento fue una desparasitación del 20% al 6,25 mg/mL con el uso de tinidazol, obteniendo igual resultado para metronidazol al 7,5 mg/mL. En adición, el tinidazol fue eficaz en 40% al 7,5 mg/mL. Con respecto al tratamiento 2 se logró el 50% de desparasitación con metronidazol al 7,5 mg/mL y el 100% con tinidazol a la misma concentración. Los datos expuestos de manera descriptiva sugieren una baja actividad de los fármacos utilizados y resistencia del parásito; sin embargo, se recomienda el uso del segundo tratamiento aplicado y el realizar estudios prospectivos *in vitro* e *in vivo* e incluir los derivados sintéticos del nitroimidazole para así obtener un esquema de administración eficiente en la eliminación del protozoario.

*Palabras clave:* Metronidazol, tinidazol, hámster, *Trichomonas muris*, protozoarios.

---

#### Metronidazole and tinidazole effects on *Trichomonas muris* in hamsters

#### ABSTRACT

The main purpose of this research was to evaluate and compare metronidazole and tinidazole efficacy against *Trichomonas muris* in hamsters naturally infected and raised under conventional bioterio conditions. There were selected 40 male hamsters based on positiveness to *T. muris* infection diagnosed for demonstration of the trophozoites on the direct coprological observation. For this purpose metronidazole and tinidazole were administered daily, initially given in one intake during five days at concentrations of 2.5, 5, 6.25, and 7.5 mg/mL by oral way during five days. Thereafter, a second treatment was imposed with two intakes at 7.5 mg/mL. In the first five days of treatment 1, it was obtained a 20% of parasite elimination using tinidazole at a 6.25 mg/mL concentration. A similar response at was obtained by metranidazole at a concentration of 7.5 mg/mL. Additionally, tinidazole efficacy was 40% at a concentration of 7.5 mg/mL. Regarding treatment 2, it was found 100% of effectiveness for tinidazole at 7.5 mg/mL, whereas effectiveness for metronidazole was 50%, with an effective eradication specter lower than the seven days period. It is evidence of a low efficacy of the drugs against tricomicide activity. It is recommended to realize *in vitro* studies in order to evidence parasite resistance to synthetic drugs derived from nitroimidazole and to stimulate the study and development of new alternative drugs able to proportionate experimental models useful for research.

*Keywords:* Metronidazole, tinidazole, hamster, *Trichomonas muris*, protozoa.

## INTRODUCCIÓN

La experimentación con animales de laboratorio ha sido un factor importante en el avance y desarrollo en las ciencias biomédicas, por lo tanto, las patologías generadas por diversos microorganismos, en especial los de origen parasitario, interfieren de manera preponderante en la fiabilidad de los resultados de una investigación. Las enfermedades asintomáticas que pueden presentarse en estos sustratos vivos no deben pasar desapercibidas por parte del investigador, ya que dichas infecciones pueden estimular significativas alteraciones metabólicas y fenómenos adversos que conducirían a modificar sustancialmente los resultados obtenidos y a incrementar costos, duración del ensayo en el tiempo y recursos de toda índole aportados por la comunidad científica. Aunado a estos, se suman los gastos generados en sistemas de prevención y repoblación de colonias animales. Tales complicaciones se evitarían mediante la prevención y la erradicación selectiva de organismos patógenos en el animal proveniente de bioterio (Zúñiga *et al.*, 2001).

Las infecciones parasitarias por protozoos presentes en las colonias de hámster de laboratorio, representan un problema difícil de controlar y deben ser solventados con el uso y administración de los quimioterápicos más apropiados. El metronidazol posee un espectro extraordinariamente amplio de actividad antiprotozoica y antimicrobiana y ha sido muy utilizado en los seres humanos y en animales, siendo activa contra diversos protozoos parásitos anaerobios y bacterias anaerobias. El mecanismo de acción de los nitroimidazoles se refleja en la toxicidad selectiva que poseen contra microorganismos anaerobios o microaerófilos y por células anóxicas e hipóxicas (Brunton *et al.*, 2006). Después de la administración oral, el metronidazol es rápidamente absorbido, al menos un 80% en menos de una hora. La biodisponibilidad oral es del 100% y no se modifica por la ingestión de alimentos. Las concentraciones plasmáticas obtenidas, tanto con la administración oral como parenteral, son proporcionales a las dosis administradas y dan lugar a curvas de concentración en función del tiempo, muy similares. También es buena la absorción por vía rectal (Fernández, 2002).

Con respecto al tinidazol, al igual que el metronidazol, es un derivado del nitroimidazole (Fernández, 2002). Puede administrarse en infecciones

producidas por tricomonas, giardiosis y amibiasis, infecciones por organismos estrictamente anaerobios y más allá de esta aplicación, también se administra en las inflamaciones de la encía (Ferreiro *et al.*, 2001). El tinidazol es un antiparasitario y antimicrobiano. Comparte con el metronidazol el mismo espectro de acción y efectividad, pero los diferencia el tiempo de vida media útil, siendo para el tinidazol mayor que para metronidazol. Este 5-nitroimidazólico reducido produce pérdida de la estructura helicoidal del ADN del parásito con ruptura de sus cadenas (Ferreiro *et al.*, 2001). El nitrato del tinidazol inhibe la biosíntesis del ergosterol y otros esteroides, impidiendo la desmetilación del lanosterol. Daña la pared y altera la permeabilidad de la membrana celular y como resultado, se produce pérdida de elementos intracelulares necesarios para la vida del microorganismo. También inhibe la biosíntesis de los triglicéridos y fosfolípidos y la actividad de las enzimas oxidativas y peroxidativas acumulándose concentraciones tóxicas del peróxido de hidrógeno en los organelos.

En animales de laboratorio las tricomonas pueden infectar una gran variedad de huéspedes, siendo las especies más frecuentemente identificadas la *T. minuta* que afecta rata y ratón, *T. microti* y *T. criceti* hámster, *T. caviae* cobayo y *T. muris* rata, ratón y hámster (Cuba, 1982). Las infecciones por *T. muris* pueden ser diagnosticadas por los signos clínicos, tales como enteritis y caquexia, en hámster infectados y por demostración del trofozoito en el contenido fresco proveniente del ciego o colon, emitiendo estos movimientos abruptos o tambaleantes muy característicos. En las muestras histopatológicas preparadas con hematoxilina y eosina, provenientes del ciego o colon de los hospedadores, se pueden observar estructuras teñidas, tal como el núcleo o la pared celular pobremente teñida del parásito, apareciendo esta última plegada sobre sí misma (Lipman *et al.*, 1999).

A nivel mundial, se han realizado investigaciones sobre la acción de los antiparasitarios sobre el género *Trichomonas*, entre los que se destaca el efectuado en Canadá donde se emplearon metronidazol, tinidazol y dimetronidazol para estudiar la eliminación de *Trichomonas* en ratones de laboratorio. Los resultados obtenidos mostraron resistencia al tratamiento con dimetronidazol a concentraciones crecientes de la droga y lograron eliminación de la *trichomonas* al usar

2,5 mg/mL de metronidazol o tinidazol suministrado de la misma manera logrando el 100% de efectividad (Roach *et al.*, 1988).

En este ensayo se describen los resultados obtenidos al evaluar el efecto de metronidazol y tinidazol en la desparasitación de hámsters infectados naturalmente con *Trichomonas muris*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La población inicial de la cual se seleccionó la muestra para el presente estudio fue de 680 hámsters dorados (*Mesocricetus auratus*) criados en el bioterio de Sanidad Animal del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, en Maracay, Aragua, Venezuela.

La muestra de la población resultó ser de 30 hámsters machos positivos a *Trichomonas muris* y 10 negativos, con 2 meses de edad y peso promedio de 100 g, mantenidos individualmente durante toda la experimentación en jaulas de acero inoxidable conteniendo como cama cáscara de arroz estéril, alimentación *ad libitum* a base de alimento concentrado (Ratarina®) y agua filtrada. Se practicaron medidas higiénicas tales como: esterilización de jaulas, bebederos y cama, se realizaron cambios una vez a la semana de la cama de los animales.

La evaluación de identificación de protozoos en animales para establecer el estado fisiológico, tanto al inicio como durante el protocolo de investigación, se logró a través de la realización de necropsias; se toma muestras del ciego e intestino delgado para efectuarles el examen microscópico con solución salina y detectar la presencia de *T. muris*, tomando como referencia lo descrito por Lipman *et al.* (1999).

Se procedió a la aplicación de los tratamientos con metronidazol y tinidazol. El protocolo de trabajo a la dosis terapéutica y administración de las drogas fue el utilizado en los estudios de Roach *et al.* (1988). Para cada uno de los 4 grupos se seleccionaron al azar 10 hamsters, asignados de la siguiente manera de acuerdo a la dosificación: grupo 1. No infectados y sin administración de fármacos (control positivo), grupo 2. Infectados y sin droga (control negativo), grupo 3. Infectado y con dosificación con metronidazol y grupo 4. Infectado y con tinidazol. Las concentraciones de cada uno de los antiparasitarios fueron de 2,5 3,75

5,0 6,25 y 7,5 mg/mL. Se evaluaron con respecto a su actividad contra *T. muris*. Las dosis de cada fármaco fueron preparadas inmediatamente antes de su administración por vía oral en una sola toma diaria por 5 días consecutivos. Luego, cada fármaco, a una dosis de 7,5 mg/mL, se administro en dos tomas al día, una en la mañana y la otra en la tarde, utilizando una inyectadora de 1 mL. El Cuadro 1 presenta un esquema de la aplicación de los dos tratamientos y su duración usados para erradicar el parásito. Luego de iniciado el tratamiento de cada una de las diferentes concentraciones para los cuatro grupos, al 8<sup>vo</sup> día de cada tratamiento se efectuó el sacrificio de un hamster por inhalación con formaldehído. Se tomó una muestra de ciego e intestino delgado para realizar el examen coprológico y detectar la presencia de *T. muris*.

### Examen parasitológico

Inicialmente, se realizó el examen microscópico para determinar infección y realizar la selección de los animales positivos a *Trichomonas muris*. En un porta objeto se colocó separadamente una gota de solución salina al 0,85% y se cubrió con un porta objeto de 22 x 22 mm y se observó al microscopio con objetivo 10X y luego 40X. El diagnóstico se realizó mediante la demostración de los trofozoitos que permitieron observar la movilidad característica del microorganismo y la forma quística indicativa de resistencia.

Para determinar el porcentaje de desparasitación se utilizó una relación semicuantitativa entre el grupo tratado con metronidazol y el tratado con tinidazol para determinar el porcentaje de eliminación parasitaria producida por los medicamentos. Para tal fin, se dividió el campo visual del microscopio en 4 cuadrantes, se contó la cantidad de parásitos presentes en uno de los cuadrantes y se multiplicó por cuatro. Se realizó el conteo de trichomonas para determinar el porcentaje de desparasitación y comparar los resultados obtenidos en los grupos III con metronidazol y IV con tinidazol.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prueba se inicio con la administración de una dosis terapéutica de 2,5 mg/mL de metronidazol y tinidazol a los grupos III y IV, respectivamente, tal

Cuadro 1. Representación esquemática de los tratamientos utilizados para la erradicación de *Trichomonas muris*.

Días	Grupo III	Grupo IV
1		
2		
3	Metronidazol (2,5 mg/mL)	Tinidazol (2,5 mg/mL)
4	1 toma diaria	1 toma diaria
5		
6-7		
8		Evaluación
9		
10		
11	Metronidazol (3,75 mg/mL)	Tinidazol (3,75 mg/mL)
12	1 toma diaria	1 toma diaria
13		
14		
15-16		
17		Evaluación
18		
19		
20	Metronidazol (5,0 mg/mL)	Tinidazol (5,0 mg/mL)
21	1 toma diaria	1 toma diaria
22		
23		
24-25		
26		Evaluación
27		
28		
29	Metronidazol (6,25 mg/mL)	Tinidazol (6,25 mg/mL)
30	1 toma diaria	1 toma diaria
31		
32		
33-34		
35		Evaluación
36		
37		
38	Metronidazol (7,5 mg/mL)	Tinidazol (7,5 mg/mL)
39	1 toma diaria	1 toma diaria
40		
41		
42-43		
44		Evaluación
45		
46		
47	Metronidazol (7,5 mg/mL)	Tinidazol (7,5 mg/mL)
48	2 tomas diarias	2 tomas diarias
49		
50		
51-52		
53		Evaluación Final

como se muestra en el Cuadro 2. Los datos obtenidos luego de esta dosificación permiten definir que no hubo disminución de la carga parasitaria en ninguno de los tratamientos utilizados. Tal resultado, contrasta con lo referido por Roach *et al.* (1988), quienes demostraron que el uso del metronidazol y tinidazol administrado en el agua de bebida, a una concentración de 2.5 mg/mL fue eficiente en la eliminación de *T. muris* en los ratones de laboratorio.

En vista de esto, se procedió a la aplicación del segundo tratamiento con una dosis mayor del medicamento. Se repitió el protocolo variando la concentración de los medicamentos de 2,5 a 3,75 mg/mL. Los resultados fueron similares ya que no se observó disminución de la carga parasitaria a dicha concentración. Nuevamente, se repitió el protocolo de trabajo incrementando la concentración a 5,0 mg/mL, observándose movimientos lentos y atenuados de los parásitos, pero sin eliminación de estos para los animales que fueron dosificados con metronidazol. Por su parte, en los hámsters que recibieron tinidazol, se evidenció un estado de latencia e inamovilidad del trofozoito del parásito, pero sin eliminación del mismo. Una vez más se repitió el protocolo de trabajo con incremento de la concentración de los dos medicamentos a 6,25 mg/mL. Hubo una disminución de la parasitosis en 20% con el tinidazol. Sin embargo, para el metronidazol no se evidenció disminución ni eliminación de la parasitosis.

Continuando el ensayo y buscando la dosis para la eliminación de *T. muris* se modificó la concentración de los dos medicamentos a 7,5 mg/mL y se aplicó la administración de una toma diaria y otro ensayo con la misma concentración de 7.5 mg/mL, pero con dos tomas al día, una en la mañana

Cuadro 2. Efecto antiparasitario de desparasitación frente a *T. muris* del metronidazol y tinidazol a distintas concentraciones.

Dosis mg/mL	Metronidazol ----- % -----	Tinidazol
2,5	0	0
3,75	0	0
5,0	0	0
6,25	0	20
7,5	50	100

y otra en la tarde. El porcentaje de desparasitación fue el siguiente: En la evaluación de forma clásica se observó una eliminación de la parasitosis en una 40% para los hámster tratados con tinidazol y un 20% de eliminación para los tratados con metronidazol, así como se muestra en la Figura 1. Sin embargo, en los animales con 2 tomas diarias de los medicamentos, se evidenció la eliminación total del parásito para los que recibieron tinidazol y solo una desparasitación del 50% para el grupo que recibió metronidazol.

La resistencia al metronidazol se ha estudiado ampliamente en trichomonas en cepas aisladas en laboratorio. En Canadá, Cudmore *et al.* (2004) realizaron un estudio sobre el tratamiento de las infecciones causadas por *Trichomonas vaginalis* resistentes a metronidazol. En cuanto al tratamiento, la administración por vía oral o intravenosa les resultó

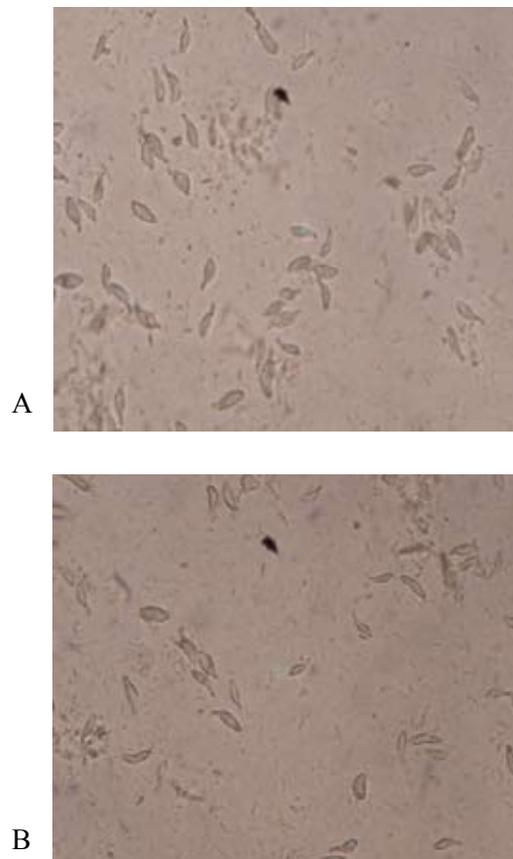


Figura 1. Examen directo del contenido intestinal del ciego e intestino delgado de hamsters tratados con tinidazol y metronidazol en (A) una sola toma a la concentración de 7,5 mg/mL con metronidazol, 20% de desparasitación y (B) tinidazol, 40% de desparasitación.

eficaz en un 85 a 95%. La reinfección y otros factores deben considerarse cuando el tratamiento falla. Estos autores también refieren que el 5% de los casos resultan consecuencia de cepas trichomona resistentes a metronidazol. El grado de resistencia a la droga puede ser útil al estimar la dosificación que puede ser eficaz aumentando la dosis o combinando varios fármacos. La información limitada sobre el efecto de estas drogas hace cuestionable si estos tratamientos son curativos o no. Meri *et al.* (2000) realizaron una investigación sobre la resistencia de trichomonas al metronidazol y describen cepas resistentes. Se han hallado mecanismos metabólicos de resistencia al cultivar estas trichomonas tanto en aerobiosis como en anaerobiosis.

La resistencia anaerobia al metronidazol se observa solo en estudios de laboratorio en cepas de *T. vaginalis* y *T. foetus* expuestas a concentraciones crecientes del fármaco en el cultivo. A diferencia de estas, existen cepas que muestran un tipo de resistencia al metronidazol cuando estas son aisladas y cultivadas en aeróbiosis.

Dichas cepas resistentes al medicamento contienen valores más bajos de ferredoxina, proteína que cataliza la reducción del metronidazol en dichos microorganismos. El hecho de que disminuyan los valores de ferredoxina, pero sin que desaparezcan del todo, quizás explica porque las infecciones con las cepas mencionadas suelen reaccionar a mayores y más prolongadas dosis de metronidazol (Brunton *et al.*, 2006).

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La utilización del metronidazol como antiparasitario de elección para la eliminación de las trichomonas en hámster no resultó ser efectiva, al obtener solo una disminución del 50% de los parásitos a la concentración de 7,5 mg/mL, administrándolo 2 veces al día por 5 días.

Se recomienda un tratamiento alternativo de elección con la utilización del tinidazol por un periodo menor a 7 días a la concentración de 7,5 mg/mL, administrándolo 2 veces al día por cinco días.

La no determinación de una dosis 100% efectiva en este modelo experimental para eliminar esta parasitosis *in vivo* permite recomendar estos ensayos tanto *in vivo* como *in vitro* con la finalidad de

determinar presencia o ausencia de resistencia frente a *Trichomonas muris* bajo la acción de las azomicinas (2-nitroimidazol).

Se sugiere continuar con el establecimiento de una línea de investigación basada en actividades destinadas a la determinación de un esquema de administración antiparasitaria frente a *Trichomonas muris* que sea adecuado y eficiente, en función de incluir y comparar en dichos trabajos, a saber: especie animal, dosis terapéutica, vía de administración y tiempo de dosificación.

### LITERATURA CITADA

- Botero D. y M. Restrepo. 1998. Parasitosis Humana. 3<sup>ra</sup> ed. CIB. Medellín, Colombia.
- Cuba A. 1982. Manual de Patología de Animales de Laboratorio. Ed. Panamericana de Salud.
- Cudmore S., K. Delgaty, Sh. Hayward-McClelland, D. Petrin y E. Gary. 2004. Treatment of infections caused by metronidazole-resistant *Trichomonas vaginalis*. Rev. Clin. Microbiol., 17(4): 783-793.
- Fernández I. 2002. Metronidazol. Universidad Nacional del Uruguay. Disponible en: <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/metro/METRONIDAZOL.htm>
- Ferreiro G., L. Badias, E. González y J. Aguirre. 2001. Tinidazol: una droga antimicrobiana con actividad genotóxica. Rev. Cub. Inv. Biomed., 20(1): 54-58.
- Brunton L.L., J.S. Lazo y K.L. Parker. 2006. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 10<sup>na</sup> ed. Interamericana, México.
- Lipman N.S., N. Lampen y H.T. Nguyen. 1999. Identification of pseudocysts of *Tritrichomonas muris* in Armenian hamsters and their transmission to mice. Lab. Anim. Sci., 49(3): 313-315
- Meri T., T.S. Jokiranta, L. Suhonen y S. Meri. 2000. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: Report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. J. Clin. Microbiol., 38(2). 763-767

Roach P.D., P.M. Wallis y M.E. Olson. 1988. The use of metronidazole, tinidazole and dimetridazole in eliminating trichomonads from laboratory mice. *Lab. Anim.*, 22(4): 361-364.

Zúñiga M., J. Turmari, S. Milocco y R. Piñeiro. 2001. *Ciencia y Tecnología en Protección y Experimentación Animal*. McGraw-Hill/Interamericana de España. Madrid, España.

## SUMARIO Vol. 26 No.1

### ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- García-Castillo C. G., Martínez-Tinajero J. J., Montañez-Valdez O. D., Sánchez-Orozco L., Posada-Cruz S., Izaguirre-Flores F. y Martínez-Priego G. Degradación ruminal de la materia seca del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis*) .....1
- García D. E., Wencomo H. B., Gonzalez M. E., Medina M. G., Cova L. J. y Spengler I. Evaluación de diecinueve accesiones de *Leucaena leucocephala* basada en la calidad nutritiva del forraje .....9
- De Jesús R. y Quintero Z. Comparación del crecimiento, parámetros reproductivos y de hematología y glicemia en hámsters (*Mesocricetus auratus*) alojados a diferentes niveles de intensidad de luz ..... 19
- Cabrera P, Fernández A., Bastidas P., Perozo E., Molina M, Bethencourt A., Vivas I., Reyes Y. y Díaz T. Efecto de la vitrificación sobre la viabilidad morfológica de embriones murinos (*Mus musculus*).....27
- Bravo M. J., Coronado A. y Henríquez H. Eficacia in vitro del amitraz sobre poblaciones de *Boophilus microplus* provenientes de explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela ..... 35
- Bravo M. J., Coronado A. y Henríquez H. Susceptibilidad de larvas y adultos de *Boophilus microplus* al ixodicida coumafos en explotaciones lecheras del estado Lara, Venezuela ..... 41
- Pinilla L. J. C. y Coronado F. J. Prevalencia de *Isospora suis* en lechones criados en granjas de la región centro-occidental de Venezuela .....47
- Prieto A., Marcano J., Villegas L. y Lodeiros C. Estructura poblacional de la almeja, *Asaphis deflorata*, en la localidad de Caurantica, golfo de Paria, estado Sucre, Venezuela .....55
- González A., Mendoza J., Arocha F. y Márquez A. Selectividad de la red de enmalle en la captura del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* de la cuenca del Orinoco medio .....63

### NOTA TÉCNICA

- Hernández A., Molina. M, Morales G., Garmendia J. y Nava Z. Efecto como desparasitante del metronidazol y tinidazol frente a *Trichomonas muris* en hamsters ..71