



INIA
Instituto Nacional
de Investigaciones
Agrícolas

Zootecnia Tropical

ISSN: 0798 - 7269

AÑO 26 VOL. 26 No. 2 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/zooindex.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)



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; jgil@inia.gob.ve; 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), Bioline (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. 2

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

- Sulbarán L., Drescher K., Martínez N., Colmenares O. y Ricca R. Diagnóstico técnico del sistema de producción con vacunos de doble propósito en la zona de colinas del estado Guárico, Venezuela..... 79
- Sulbarán L., Drescher K., Martínez N., Colmenares O. y Ricca R.. Patrón tecnológico del sistema con vacunos de doble propósito en la región colinosa del bosque seco tropical en Venezuela..... 87
- Ruiz A. Z., Domínguez C., Martínez N., Pinto L., Drescher K., Rossini M., Pérez R., Rojas J., Araneda R., Fernández A. y Jerez N. Efecto del nivel de alimentación sobre la actividad ovárica, expresión de transportadores de glucosa y tolerancia a la insulina en vacas mestizas durante el posparto 95
- Rossi C. A., De León M., González G. L., Chagra D. P. y Pereyra A. M. Composición química, contenido de polifenoles totales y valor nutritivo en especies de ramoneo del sistema silvopastoril del chaco árido argentino 105
- Sánchez A, Faria M. J. y Araque C. Producción de materia seca en una asociación *Cenchrus ciliaris* – *Leucaena leucocephala* al aplazar su utilización durante la época seca 117
- Fernandes F. M., Prado R. de Mello, Kawatoko M. e Isepon O. J. Efeito residual de calcário, nitrogênio e zinco na produção de matéria seca de *Brachiaria decumbens* em condições de campo 125
- Sánchez G. A. y Faria M. J. Efecto de la edad de la planta en el contenido de nutrientes y digestibilidad de *Leucaena leucocephala* 133
- Morales G., Sandoval E., Pino L. A. y Rondón R. Evaluación de dos criterios de utilidad en un programa de control de la infección por nematodos gastrointestinales en ovinos mediante tratamiento antihelmíntico selectivo..... 141
- Gende L. B., Principal J., Maggi M. D., Palacios S. M., Fritz R. y Eguaras M. J. Extracto de *Melia azedarach* y aceites esenciales de *Cinnamomun zeylanicum*, *Mentha piperita* y *Lavandula officinalis* como control de *Paenibacillus larvae* 151
- Manrique A. J. y Santana W. C. Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) de Brasil y Venezuela 157
- Principal J., D' Aubeterre R., Barrios C. J., Puzzar S., García de la Rosa S. B. y Fuselli. S. B. Comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lapeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela 167

TABLE OF CONTENTS Vol. 26 No. 2

SCIENTIFIC ARTICLES

Sulbarán L., Drescher K., Martínez N., Colmenares O., and Ricca R. Technical diagnosis of the production system with dual purpose bovine in the hilly area in Guárico state, Venezuela.....	79
Sulbarán L., Drescher K., Martínez N., Colmenares O., and Ricca R. Pattern of technological systems with dual purpose of cattle in the hilly region of dry tropical forest in Venezuela.....	87
Ruiz A. Z., Domínguez C., Martínez N., Pinto L., Drescher K., Rossini M., Pérez R., Rojas J., Araneda R., Fernández A., and Jerez N. Effect of nutritional level on ovarian activity, glucose transporters expression and insulin tolerance in dual purpose cows during the postpartum period.....	95
Rossi C. A., De León M., González G. L., Chagra D. P., and Pereyra A. M. Composición química, contenido de polifenoles totales y valor nutritivo en especies de ramoneo del sistema silvopastoril del chaco árido argentino	105
Sánchez A, Faria - Mármol J., and Araque C. Dry matter production in an association of <i>Cenchrus ciliaris</i> - <i>Leucaena leucocephala</i> subjected to a deferring use during the dry season.....	117
Fernandes F. M., Prado R.de Mello, Kawatoko M., and Isepon O. J. Residual effect of lime, nitrogen and zinc on dry matter production of <i>Brachiaria decumbens</i> in field conditions.....	125
Sánchez G. A., and Faria M. J. Effect of age on plant nutrient content and digestibility of <i>Leucaena leucocephala</i>	133
Morales G., Sandoval E., Pino L. A., and Rondón R. Evaluation of two utility criteria in a program of control of the infection for gastrointestinal nematodes in sheep by means of selective antihelmintic treatment	141
Gende L. B., Principal J., Maggi M. D., Palacios S. M., Fritz R., and Eguaras M. J. <i>Melia azedarach</i> extract and essential oils of <i>Cinnamomun zeylanicum</i> , <i>Mentha piperita</i> and <i>Lavandula officinalis</i> as a control of <i>Paenibacillus larvae</i>	151
Manrique A. J., and Santana W. C. Flavonoids, antibacterial and antioxidant activities of propolis of stingless bees, <i>Melipona quadrifasciata</i> , <i>Melipona compressipes</i> , <i>Tetragonisca angustula</i> , and <i>Nannotrigona</i> sp. (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) from Brazil and Venezuela.....	157
Principal J., D'Aubeterre R., Barrios C. J., Puzzar S., García de la Rosa S. B., and Fuselli. S. B. Hygienic behavior of Africanized honeybees (<i>Apis mellifera scutellata</i> Lepeletier) in apiaries of Lara state, Venezuela.....	167

Diagnóstico técnico del sistema de producción con vacunos de doble propósito en la zona de colinas del estado Guárico, Venezuela

Luis Sulbarán^{1*}, Karín Drescher¹, Nelson Martínez¹, Omar Colmenares² y Robustino Ricca³

¹ Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela. *Correo electrónico: apusulbaran@yahoo.es

² Área de Agronomía, Universidad Rómulo Gallegos. San Juan de los Morros, Guarico. Venezuela.

³ Asociación de Productores del Municipio Ribas, Guarico, Venezuela.

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo realizar un diagnóstico técnico del sistema de producción ubicado en una zona de colinas del estado Guárico, Venezuela. Se siguieron los criterios de ubicación geográfica y un número máximo de 150 animales para determinar la muestra, la cual fue de 95 fincas seleccionadas al azar. Como instrumento de recolección de información se utilizó una encuesta que contenía variables socioeconómicas, productivas y de manejo. Se usó estadística descriptiva para el análisis de los datos. Se observó baja proporción de vacas en ordeño (23,6%), sin control de apareamiento, con promedio de 18 vacas por toro, en rebaños mestizos con predominio de reproductores mestizos (47%). La mano de obra más importante es familiar y son escasos los productores que llevan y usan registros. La superficie promedio por finca fue 113,1 ha. La productividad física fue muy baja, con una carga animal de 0,3 UA/ha. El 78,4% de las fincas producen cereales como producto principal, mientras que la producción bovina es un complemento del sistema, siendo la leche extraída por ordeño manual y procesada en forma de queso para su venta. Se encontraron índices productivos bajos que reflejan un escaso uso de tecnología en el sistema, conformado a su vez por una alta variabilidad de fincas que se diferencian en la forma como utilizan los recursos de la zona. Igualmente, se evidenció la alta influencia que sobre el sistema doble propósito tienen cereales como maíz y sorgo, los cuales están estrechamente relacionados por el beneficio alimenticio que tienen sobre los animales del rebaño.

Palabras clave: Doble propósito, sistemas, diagnóstico, zona de colinas, factores de producción

Technical diagnosis of the production system with dual purpose bovine in the hilly area in Guárico state, Venezuela

ABSTRACT

This research aimed to make a diagnosis of the technical production system located in a hilly area of Guarico state, Venezuela. We followed the criteria: of geographic location and a maximum of 150 animals to determine the sample, which was 95 farms selected at random. As a tool for collecting information, a survey containing socio-economic, production, and management variables was utilized. Descriptive statistics were used to analyze the data. It was observed low proportion of milking cows (23.6%), uncontrolled mating, with an average of 18 cows per bull in herds with a predominance of breed and crossbred herd (47%). The most important workforce was the family and a few producers keep and use records. The average farm size was 113.1 ha. The physical productivity was very low, with a stocking rate of 0.3 AU/ha. Farms produced grain as the main product (78.4%), while beef production was a complement system, as the milk being drawn by hand and processed as cheese for sale. We found that low production rates reflect a small use of technology in the system, in turn shaped by a high variability of properties that differ in the way they used local resources. Also, it was shown the high influence on the dual purpose system by cereals, such as maize and sorghum, which are closely linked by the feeding benefit that have on the animals of the herd.

Keywords: Double purpose, systems, diagnosis, hill zones, production factors

INTRODUCCIÓN

Son abundantes las investigaciones que se han realizado en la ganadería venezolana que indican que la producción de vacunos se ha desarrollado bajo fuertes limitaciones de clima, salud animal, alimentación deficiente y un manejo extensivo o semi-intensivo, además de políticas desarticuladas por parte de los entes gubernamentales aplicadas al sector ganadero, las cuales han provocado fluctuaciones en la magnitud del rebaño y en sus características productivas (Capriles, 1993; Salazar *et al.*, 2001; Paredes *et al.*, 2003). A pesar de ello el sistema de ganadería de doble propósito es considerado como la ganadería futura del país, gracias a su preponderancia y aporte que ha tenido en la producción de leche, alcanzando el 90% del total, mientras que 45% de la carne consumida en Venezuela proviene de estos tipos de sistemas (González-Stagnaro, 2002). Molinett *et al.* (2002) encontraron que 86% de los ingresos en una unidad de producción bajo el sistema de doble propósito provienen de la leche y el 14% restante se origina por el rubro de la carne.

El sistema de doble propósito en la zona de colinas del estado Guárico, Venezuela, ha estado vinculado a la producción cerealera (maíz y sorgo), constituyendo el 80% de los sistemas de producción en la región. Además tiene la particularidad que la leche obtenida en el ordeño es procesada en forma de queso a nivel de finca, siendo éste un producto que actúa como flujo de caja diario para la unidad de producción (Arias, 1983; Pereira, 1989; Rodríguez, 1991). Debido a esta singularidad y a la heterogeneidad del sistema predominante en esta región, se planteó realizar un diagnóstico técnico con la finalidad de determinar las condiciones en la que se encuentran este tipo de sistema en la zona e identificar los problemas que dicho sistema presenta.

MATERIALES Y METODOS

La zona donde se llevo a cabo este estudio fue el municipio Ribas del estado Guárico, Venezuela, en marco del proyecto "Red de cooperación productiva para el mejoramiento de los sistemas de producción de doble propósito leche-queso en los municipios Ribas y Zaraza del estado Guárico". Esta región pertenece al paisaje conocido como zona de colinas, que presenta una combinación de relieves, suelos y vegetación de norte a sur del Municipio. El relieve ondulado y

la topografía disminuye de norte a sur, provocando diferencias de suelos donde los más comunes son los Alfisoles, Vertisoles e Inceptisoles, mientras que la vegetación es variable, encontrándose leguminosas con predominio de la vegetación de sabana en las partes bajas. De acuerdo a la clasificación de Holdrige la zona pertenece a un bosque seco tropical, la cual presenta un promedio de precipitación anual de 1.276 mm, con la época de lluvias de mayo a noviembre y la de sequía de diciembre a abril, con una temperatura media anual de 26°C (Arias *et al.*, 1984; MARNR, 1996; Tenias *et al.*, 1992).

La selección de las unidades de producción se realizó considerando dos criterios: ubicación geográfica y número de animales. Para el primer caso, el municipio se dividió en tres subregiones: norte, centro y sur, seleccionándose fincas del centro y sur por presentar condiciones agroecológicas similares a diferencia de la región del norte cuyo relieve es más pronunciado que el resto. Para el segundo criterio, se seleccionaron unidades de producción de pequeños y medianos productores que mantenían una cantidad menor o igual a 150 animales, con una producción orientada al rubro vacuno pudiendo estar asociada o no con cultivos.

Conociendo las variables condicionantes y el universo de fincas se planteó un muestreo aleatorio por estrato del cual se seleccionó una muestra de 95 unidades de producción del centro y sur, siguiendo la metodología de distribución proporcional en base al número de individuos en cada estrato (Azorin, 1961). Las 95 unidades de producción se eligieron al azar, de las cuales 59% representó el centro y 41% el sur del municipio.

El instrumento de recolección de información se basó en una encuesta que contenía los siguientes aspectos técnicos: Generalidades, manejo de la unidad de producción, estructura del rebaño, mano de obra, Instalaciones y maquinarias, suelos y forrajes, genética, reproducción, ordeño, alimentación, sanidad animal, productos y comercialización (Da Silva, 2002). La información obtenida se analizó por estadística descriptiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobre la base del enfoque de sistemas y en la descripción y variables evaluadas en el estudio, se estableció un diagrama de flujo que representa el

sistema encontrado en el municipio Ribas (Figura 1) en donde que se aprecian los aspectos técnicos más importantes del sistema de producción.

En el Cuadro 1 se aprecian los distintos factores que alimentan el sistema de producción con vacunos en la región estudiada, donde los servicios básicos son poco comunes en las unidades de producción encuestadas encontrándose que sólo 35% de las

fincas cuentan con servicio de electricidad, 90,9% del agua para consumo humano proviene de lagunas y 12,5% tienen acceso a gas para cocina. El 78,4% de las unidades de producción reciben asistencia técnica, similar a lo planteado por Ortiz (1993), que en la misma zona encontró que 80% de los productores recibían dicha asistencia en forma ocasional, siendo el área de mayor importancia la sanidad animal y el cultivo de cereales, cuyas actividades son ejercidas

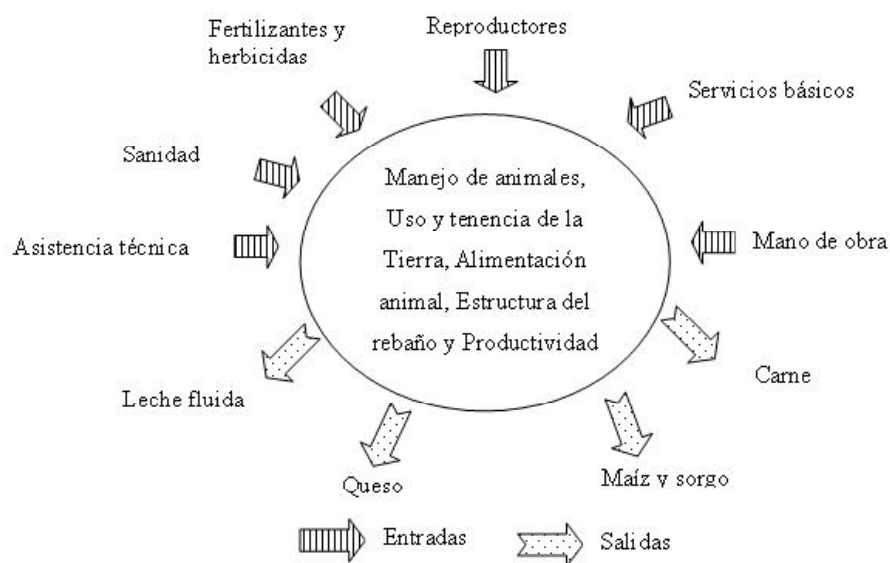


Figura 1. Esquema del sistema de producción en el Municipio Ribas

Cuadro 1. Factores que alimentan el sistema de producción de doble propósito

Variables	Indicadores	Frecuencia
		%
Servicios básicos	Electricidad	35
	Agua potable	9
	Gas	12,5
Asistencia técnica	Cereales y Sanidad animal	78,4
Fertilización	Si	100
Adquisición de reproductores	En la región	81
	Fuera de la región	13
Mano de obra	Familiar	40,7
	Fija	37,0
	Eventual	22,3

por veterinarios e ingenieros agrónomos provenientes de instituciones públicas o privadas.

En lo referente a la sanidad animal, el control de aftosa se cumple en 100% de estas unidades de producción, mientras que el control de rabia y triple se lleva a cabo en 97% y 66% de los casos, respectivamente. Las vacunas para la prevención de enfermedades reproductivas como brucela y leptospira es aplicado en 51% y 5%, respectivamente, del total de fincas, lo cual tiene relación con la información reportada por Alfaro *et al.* (2004) en el oriente del país con 48% de fincas con presencia de leptospira en el rebaño, enfermedad que influye negativamente sobre el crecimiento del rebaño y la calidad de los productos generados en las unidades de producción.

El cultivo en secano de cereales (maíz y sorgo) es realizado por 78,4% de los productores, donde todos fertilizan el área sembrada sin previo análisis de suelo, efectuando un control de malezas en forma química (28,4%), mecánica (30,8%) o ambas (40,7%). Los toros reproductores son adquiridos en 81% de las unidades de producción en hatos cercanos, 13% fuera de la región y el 7% restante usan toros prestados para el servicio de las hembras.

La mano de obra de mayor importancia es la familiar y fija constituyendo 40,7 y 37%, respectivamente, del total de obreros (197). Ambos tipos realizan las distintas labores en las unidades de producción durante todo el año, existiendo además una mano de obra eventual (22%) que se necesita para las actividades relacionadas al cultivo de los cereales. En cuanto al nivel de instrucción de dicha mano de obra, 61,4% alcanzan la primaria, 16% secundaria y 23% son analfabetas. Páez *et al.* (2003) encontraron para un sistema de doble propósito muy tradicional leche-carne, sin la producción de cultivo, una mayor proporción de mano de obra eventual (59%) en el estado Apure.

En el Cuadro 2 se muestran los factores de procesamiento que se dan en el sistema de producción, el cual es manejado por un productor con una edad promedio de 42 años (± 12), donde el nivel de instrucción en 80% de los predios es primaria o secundaria incompleta, siendo analfabetas y profesionales el 6 y 14%, respectivamente. En promedio existen 113,1ha ($\pm 93,7$) por unidad de producción cuyas tierras en 78% de los casos pertenecen al INTI, 16% son tierras propias y 6% alquiladas. El uso destinado a

estas tierras es 35% para el cultivo de cereales, 37% para áreas cubiertas por pastos y 28% son superficies boscosas.

En estas superficies se mantiene un rebaño conformado principalmente por vacas (35,5%), muy inferior a lo encontrado por Páez *et al.* (1998) y Alvarado *et al.* (2002) en el estado Yaracuy y Lara con valores de 70 y 83%, respectivamente, siendo las vacas de ordeño las de mayor importancia (Cuadro 3). Existe, además, una presencia significativa de hembras en crecimiento pudiendo esto indicar el represamiento de estos animales en el rebaño.

Los animales son marcados con el hierro del productor sin llevarse registros en 69% de las unidades de producción, mientras que el 31% restante llevan anotaciones relacionadas a fechas de nacimientos de las crías y en casos aislados, la producción de queso semanal. Es común (63%) la separación de los animales en dos grupos, las vacas de ordeño y el ganado horro, lo cual se realiza con la intención de darle prioridad en el uso del recurso alimenticio a las vacas de ordeño, mientras que el grupo horro se mantiene en potreros con pasto de menor calidad y cantidad.

La productividad física en general es muy baja con una carga animal de 0,3 UA/ha, donde la alimentación de los animales se diferencia en la época de lluvias y sequía. En la primera se basa en un pastoreo de gramíneas naturales o introducidas, con suplementación en 19% de los predios evaluados, siendo las vacas de ordeño las más importantes, suministrándole sal y melaza principalmente. En la época seca, además del pastoreo de gramíneas, 80,7% de las fincas utilizan el rastrojo y el bosque como recurso para los animales, debido a las limitaciones de crecimiento de los pastos que ocasionan su escasez en la región, aumentando de esta manera la proporción de fincas que suplementan (39%), utilizándose la sal, melaza, minerales, alimento concentrado y de elaboración artesanal para tratar de cubrir de este modo en forma parcial los requerimientos nutricionales de los animales, pero sin seguir un plan estratégico acorde con las necesidades de los animales.

En lo referente al aspecto genético, se tiene que los toros con mayor frecuencia en el rebaño son los de raza Brahman (40,3%), Pardo Suiza (12,7%) y de distintas razas como Carora, Senepol, Pardos x Brahman, Holstein x Brahman y Simmetal que

Cuadro 2. Factores de procesamiento y transformación del sistema de producción de doble propósito

Variable	Indicadores	Frecuencia %
Productor	Permanencia en la finca	48,0
	Nivel de instrucción secundaria	80,6
	Capacitación técnica	5,3
Tipo de vivienda	Bloque	66
	Bahareque	33
Tenencia de la tierra	INTI	78
	Propia	16
	Alquilada	6
Uso de la tierra	Cereales	35
	Pastos	37
	Bosque	28
Superficie de los potreros	5-10 ha	25
	10-20 ha	38
	20-50 ha	26
Registros	Si	28
	No	69
Carga animal	0,3 UA/ha	
División de rebaño	Si	63
Uso de residuos y bosques para la alimentación	Si	80,7
Suplementación	Época de lluvia	19
	Época de sequía	39
Raza del reproductor	Brahman	40,3
	Cruzado o europeo	47
Apareamientos controlados	No	80
Relación vaca:toro	Mínimo	4:1
	Promedio	18:1
	Máximo	35:1
Vacas por ordeñador	13	

juntas representan 47% de los machos reproductores en los rebaños, favoreciendo su conformación racial indefinida. No hay control de apareamiento, siendo lo tradicional en 80% de las unidades de producción, la monta libre continua de las hembras, con una relación promedio de vacas por toro que alcanza un valor de 18:1, beneficiando más aún el mestizaje del rebaño. El ordeño se realiza manualmente con presencia del becerro en corrales abiertos una vez por día, existiendo 13 vacas/ordeñador.

Como productos del sistema se obtienen los cereales, el cual es el principal rubro de explotación en el sistema de producción evaluado, alcanzando 78% de los predios agrícolas en esta zona, de los cuales,

80% se orienta a la producción de maíz y 20% a la producción de sorgo. Rodríguez (1991) encontró que en esta región 75% de los ingresos totales del sistema se deben a la producción cerealera, mientras que el 25% restante proviene de la producción pecuaria, particularmente la venta de la leche procesada en forma de queso a nivel de finca, tanto en la época de lluvia (94% de las fincas) como en la época de sequía (83% de las fincas), alcanzando un promedio de 5 kg/día, cifra que es poco confiable y variable por la escasez de este tipo de registro en las unidades de producción. Por su parte, la leche fluida es vendida por los productores durante todo el año a queseras (6%), existiendo una fracción de productores (11%) que dejan de ordeñar en la temporada seca. Los

Cuadro 3. Número promedio de animales por grupo etario.

Grupo etario	Total animales	Promedio/Unidad de Producción	D.E	Proporción %
Vacas totales	2.109	23,9	13,3	35,5
Vacas en ordeño	1.417	16,1	9,8	23,8
Vacas secas	692	7,9	5,6	11,6
Novillas	909	10,3	8,6	15,3
Mautas	757	8,6	6,0	12,7
Becerras	732	8,3	5,6	12,3
Toro	121	1,4	0,8	2,0
Mautes	619	7,0	5,5	10,4
Becerras	685	7,8	5,2	11,5

machos jóvenes son vendidos cuando alcanzan un peso de 200 kg.

CONCLUSIONES

Se encontraron índices productivos bajos que reflejan un escaso uso de tecnología en el sistema, conformado a su vez por una alta variabilidad de fincas que se diferencian en la forma como utilizan los recursos de la zona. Igualmente, se evidenció la alta influencia que sobre el sistema doble propósito tienen cereales como maíz y sorgo, los cuales están estrechamente relacionado por el beneficio desde el punto de vista alimenticio tiene sobre los animales del rebaño.

LITERATURA CITADA

- Alfaro C., Y. Aranguren, A. Clavijo y C. Díaz. 2004. Prevalencia serológica de leptospirosis en ganado doble propósito del noreste de Monagas, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 22(2): 117-132.
- Alvarado A. L. Paredes y M. Carriles. 2002. Estudio funcional de pequeños sistemas doble propósito en el municipio Torres del estado Lara (estudio de casos). *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 12(2): 644-649.
- Arias L. 1983. Identificación y clasificación de los sistemas de producción en la zona de depresión del Unare, estado Guárico. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie C, N° 2 – 07. Maracay, Venezuela.
- Arias L., J. Faria y L. Barreto. 1984. Manejo de pastos promisorios para el oriente del estado Guárico. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie A, N° 6. Maracay, Venezuela.
- Azorin F. 1961. Curso de muestreo y aplicaciones. Facultad de Economía, Instituto de Investigaciones Económicas, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Capriles M. 1993. Realidades de la producción de leche con vacunos en Venezuela. I Seminario sobre producción de leche de calidad. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía y Fundación INLACA. Cuaderno de Agronomía, N° 4. Valencia, Venezuela.
- Da Silva A. 2002. Diagnostico de sistemas de producción con vacunos en la zona norte del estado Carabobo. Tesis de Postgrado. Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- González-Stagnaro C., E. Soto y L. Ramírez. 2002. Avances en la Ganadería de Doble Propósito. Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data. Maracaibo, Venezuela.
- MARNR (Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales Renovables). 1996. Resumen climatológico de Venezuela. MARNR. Caracas, Venezuela.

- Molinett A., L. Paredes y M. Capriles. 2002. Estudio de funcionalidad tecnológica de un sistema de producción intensivo de leche en la zona de Humocaro, estado Lara. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 12(2): 635-638.
- Ortiz P. 1993. Caracterización de sistemas de producción de doble propósito en el Municipio Tucupido del Distrito Ribas, estado Guárico. Tesis de Postgrado. Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Páez L., M. Capriles y N. Obispo. 1998. Funcionalidad tecnológica en fincas de doble propósito (leche-carne) ubicadas en el valle de Aroa, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 16(2): 207-227.
- Páez L., T. Linares, W. Sayazo y R. Pacheco. 2003. Caracterización estructural y funcional de fincas ganaderas de doble propósito en el municipio Páez del estado Apure, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 21(1): 87-108.
- Paredes L., V. Hidalgo, T. Vargas y A. Molinete. 2003. Diagnósticos estructurales en los sistemas de producción de ganadería doble propósito en el municipio Alberto Arvelo Torrealba del estado Barinas. *Zootecnia Trop.*, 21(1): 301-323.
- Pereira L. 1989. Tipificación de patrones tecnológicos en fincas incorporadas a la producción de leche a partir de agosto de 1984 en el Municipio Valle de la Pascua, Distrito Infante, estado Guárico. Tesis de Pregrado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Rodríguez I. 1991. Identificación y caracterización de sistemas de producción de medianos productores con bovinos de doble propósito en el Municipio Chaguaramas del estado Guárico. Tesis de Postgrado. Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
- Salazar L., J. De Sousa, J. Cheaz y S. Torres. 2001. Proyecto Nuevo Paradigma. La dimensión de la Participación en la Construcción de la Sostenibilidad Institucional. Serie: Innovación para la Sostenibilidad Institucional. INIA. Maracay, Venezuela.
- Tenias J., F. Blanco, E. Velásquez, A. Sánchez y L. Arias. 1992. Diagnóstico agroecológico de la región nor-oriental de Venezuela. Fonaiap. Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Región Nor-Oriental. Maturín, Venezuela.

Patrón tecnológico del sistema con vacunos de doble propósito en la región colinosa del bosque seco tropical en Venezuela

Luis Sulbarán^{1*}, Karín Drescher¹, Nelson Martínez¹, Omar Colmenares² y Robustino Ricca³

¹ Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Aragua. Venezuela. *Correo electrónico: apusulbaran@yahoo.es

² Área de Agronomía, Universidad Rómulo Gallegos. San Juan de los Morros, Guarico, Venezuela.

³ Asociación de Productores del Municipio Ribas, Guarico. Venezuela.

RESUMEN

El estudio fue realizado en una región de bosque seco tropical en paisajes de colinas en los llanos centrales de Venezuela teniendo como objetivo general la definición del patrón tecnológico implementado por el sistema de producción con vacunos en la zona. Para ello se dispuso de una muestra de 79 unidades de producción en las que se evaluaron 20 variables tanto estructurales como funcionales. Se utilizó el análisis multivariado de clasificación ascendente jerárquica con la finalidad de detectar grupos de unidades de producción con características similares en las variables evaluadas con la intención de homogenizar en clases las fincas evaluadas. De esta manera se definieron tres tipologías de fincas con características específicas en el área tecnológica: Clase 1, conformada por unidades de producción de doble propósito (29,1%) con bajo uso en el nivel tecnológico. Clase 2, representada por unidades de producción de doble propósito (60,8%) con un uso intermedio de tecnología y Clase 3, constituida por unidades de producción de doble propósito (10,1%) con un alto uso de tecnología. Se concluye que de las 79 unidades de producción estudiadas se definieron tres patrones de uso tecnológicos diferentes, demostrando la gran variabilidad existente en el sistema de doble propósito en la región que se hace más acentuada a medida que se profundiza dentro de cada tipología de fincas establecidas.

Palabras clave: Patrón tecnológico, bosque seco tropical, zona de colinas, sistemas de doble propósito.

Pattern of technological systems with dual purpose of cattle in the hilly region of dry tropical forest in Venezuela

ABSTRACT

The study was carried out in a tropical dry forest on a hilly landscape at the central plains of Venezuela having as objective the definition of the technological patterns implemented in the bovine production system in the area. A sample of 79 production units was chosen, in which 20 structural and functional variables were evaluated. The multivariate analysis of hierarchical upward classification was used with the purpose of detecting groups of production units with similar variable characteristics with the intention to homogenize into classes of similar properties. There were defined three farm typologies with characteristic specific in the technological area: Class 1, conformed by units of production of double purpose (29.1%) with low use of technological level. Class 2, represented by units of production of double purpose (60.8%) with an intermediate use of technology, and Class 3, constituted by units of production of double purpose (10.1%) with high use of technology. It is concluded that in the 79 farms surveyed, three patterns of technological use were identified, demonstrating a wide variability of the existing dual system in the region, which becomes more pronounced as it deepens within each type of farms established.

Keywords: Technological pattern, tropical dry forest, area of hills, double purpose, systems.

INTRODUCCIÓN

En la ganadería tropical coexisten múltiples sistemas de producción en diferentes pisos térmicos, distintos grados de intensificación, los cuales se ubican en ambientes socioeconómicos de diversa naturaleza. Dentro de esta amplia gama sobresale por su magnitud y dinámica de crecimiento el sistema doble propósito o producción mixta de carne y de leche. Desde el punto de vista socioeconómico en los sistemas ganaderos mixtos predominan los pequeños y medianos productores, con recursos físicos, técnicos y financieros muy limitados y frecuentemente ubicados en áreas de producción marginales, bien sea por su ubicación geográfica o por la pobre calidad de sus recursos productivos (Rivas y Holmann, 2003).

En la región de los llanos centrales de Venezuela se ha establecido un sistema de producción de bovinos de doble propósito muy particular en comparación a otras regiones del país. En esta región, los sistemas se orientan principalmente a la producción cerealera, que se basan en la explotación de maíz y sorgo como productos principales del sistema, alcanzando el 75% de los ingresos totales, mientras que los productos pecuarios aportan el 25% restante a la unidad de producción (Rodríguez, 1991). A pesar de ello, la producción de leche y queso, representa el flujo de caja más importante en la unidad de producción, cuya actividad se apoya en los restos de cosecha originados por los cereales como una alternativa alimenticia para los animales en la época de sequía, que es la más crítica y donde escasea el recurso alimenticio (Pereira, 1989).

Dentro de este sistema existe una alta heterogeneidad de unidades de producción que está influenciada por las características agroecológicas de la zona, los recursos, el impacto económico que han generado las distintas políticas aplicadas al sector agropecuario, la baja calidad del recurso fibroso para los animales y las superficies en las que estos se desarrollan (Contreras, 1997). Considerando la alta variabilidad presente en las unidades de producción se planteó como objetivo definir el patrón tecnológico implementado en el sistema de producción con vacunos de doble propósito en el municipio Ribas del estado Guárico, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el municipio Ribas del estado Guárico, Venezuela, donde se consideraron las unidades de producción ubicadas en las subregiones del centro y sur de dicho municipio, las cuales presentan características agroecológicas (vegetación, suelo, relieve y clima) similares. Se seleccionaron medianos y pequeños productores que mantenían rebaños con una cantidad igual o menor a 150 animales, pudiendo estar asociada o no con cultivos. Se muestrearon 95 fincas cuya información se obtuvo a través de una encuesta que consideraba indicadores sociales, productivos y de manejo del sistema. La identificación y ubicación de los productores se realizó a través de la asociación de productores del municipio Ribas (Asoribas), junto a la colaboración del programa de vacunación que mantiene el Servicio Autónomo de Sanidad Animal (SASA).

Para la toma de información se utilizó una encuesta que consideró indicadores referidos a aspectos sociales, manejo de la unidad de producción, rebaño, mano de obra, instalaciones, maquinarias, alimentación, sanidad, reproducción, genética producción y comercialización. A partir de esta información se crearon 20 variables que resultaron de la combinación de indicadores relacionados (Cuadro 1).

Para definir el patrón tecnológico se relacionaron las 20 variables creadas a partir de la información obtenida directamente en las unidades de producción mediante un análisis factorial por componentes principales (AFCP), a partir del cual se realizó el análisis por clasificación ascendente jerárquica (ACAJ), utilizando el programa estadístico CSTAT (1989). El AFCP permitió reducir la dimensión de la muestra partiendo del principio de que sólo entraría en el análisis aquellas variables y fincas cuya calidad de representación en los componentes fuese superior al 15%, quedando seleccionadas 79 unidades de producción, donde se consideraron tanto variables de estructura como de funcionalidad del sistema. De esta manera se generaron 10 componentes principales, donde los cinco primeros contribuyeron a explicar el 51,8% de la varianza, siendo éstos los utilizados como ejes principales para el ACAJ, asignándole un nombre específico a cada uno (Cuadro 2).

Para el ACAJ se establecieron tres clases, cada una de las cuales representaron grupos de fincas

Cuadro 1. Variables originales de la base de datos integral

Variable	Significado
TGE	Perfil social del productor (total general)
TMA	Labores de rutina (total manejo)
VOR	Vacas en ordeño
NBM	Hembras en crecimiento
HTP	Porcentaje de hembras totales en el rebaño
EMT	Eficiencia de la mano de obra con los animales totales
INS	Cantidad y tipo de instalaciones para los animales
SGA	Superficie destinada a la ganadería
LIM	Limitaciones del suelo para la producción agrícola
CON	Conservación de forrajes agrícolas
REG	Registros o anotaciones de animales
RAZ	Raza del toro reproductor
DES	Descartes de animales
RVT	Relación vaca/toro
MRE	Manejo reproductivo reproductivos
NVO	Número de vacas por ordeñador
ALI	Alimentación de animales
SUP	Suplementación de animales
AGU	Agua disponible para los animales en los potreros
STO	Sanidad total del rebaño

Cuadro 2. Variables artificiales y su contribución en el establecimiento de cada una de las clases

VARIABLES OBTENIDAS A PARTIR DEL AFCP	Clase 1	Clase 2	Clase 3
Eficiencia en el uso de los factores de producción	-2,065	0,604	2,310
Fincas orientadas a la producción de leche	-0,093	0,051	-0,041
Eficiencia en el manejo del recurso animal para la producción de leche	-0,458	0,442	-1,338
Producción tradicional hacia leche	0,053	-0,072	0,280
Uso de la infraestructura en las actividades de manejo de los animales	0,085	-0,373	1,998
Unidades de producción	23	48	8

homogéneas y definidas por las variables generadas partir del AFCP (Courbon y Gómez 1985). Se establecieron los promedios para el comportamiento de cada una de las variables artificiales. Su valor en sentido positivo o negativo expresa que tan lejos o cerca está el valor de la variable artificial del promedio del grupo, el cual se encuentra en el punto cero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Clase 1 representó las unidades de producción con bajo nivel tecnológico y estuvo conformada por 29,1% de las fincas, caracterizándose por el nivel más bajo del uso de la tecnología, donde la mayor parte de las variables consideradas resultaron por debajo del promedio general de las clases. La eficiencia en el

uso de los factores de producción y el manejo del recurso animal para la producción de leche están por debajo del promedio del conjunto, viéndose reflejado en las variables (Cuadro 3), donde la eficiencia de la mano de obra con respecto a los animales totales (EMT = 27,33 animales/obrero \pm 13,37) es la de menor valor entre todas las clases, al igual que el número de vacas por ordeñador (NVO = 8,78 \pm 3,87). En estas fincas se destina la mayor cantidad de superficie a la producción ganadera con un valor promedio de 82,95 ha (\pm 27,43), siendo además donde existe la menor disponibilidad de vacas por toro reproductor (RVT) con un promedio de 11,79 (\pm 6,96).

Por otro lado, el porcentaje de vacas en ordeño se estimó en 58,91% (\pm 13,01) y el de las hembras totales de 75,98% del rebaño (HTP) similar a lo reportado por Rodríguez *et al.* (2001) en la región zuliana con un valor de 76% para un tipo de finca definido como leche-carne tradicional. También se observa la presencia

significativa de hembras en crecimiento (NBM = 0,89 \pm 0,81) que se ven retrasadas productivamente, quizás por el manejo alimenticio (ALI) y de suplementación (SUP) ofrecido al rebaño cuyos promedios estimados son los más bajos entre todas las clases establecidas, debido a que los mejores potreros con los mayores recursos se destinan al grupo de ordeño.

El plan sanitario llevado a cabo en estas unidades de producción es deficiente (STO = 15,87 \pm 1,71) aplicándose las vacunas obligatorias definidas por el SASA (aftosa y rabia), mientras que el control de leptospira, brucela y neumoenteritis son poco consideradas por los productores en este grupo de fincas, tal como lo demuestran Tamasaukas *et al.* (2002) y Alfaro *et al.* (2004) quienes reportaron prevalencia endémica de las enfermedades reproductivas en la zona. Estas deficiencias se ven fuertemente influenciada por el bajo perfil social del productor (TGE = 45,89 \pm 5,14), el cual viene dado

Cuadro 3. Valores promedio y desviación estándar (DE) de cada una de las variables originales en las distintas clases.

Variables	Nivel tecnológico					
	Bajo		Intermedio		Alto	
	Promedio	DE	Promedio	DE	Promedio	DE
TGE ¹	45,89	5,14	52,72	4,80	53,19	6,74
TMA ¹	6,48	1,04	7,60	0,92	7,13	1,55
HTP (%)	75,98	7,04	75,96	4,65	78,85	8,20
VOR (%)	58,91	13,01	70,37	13,82	55,60	13,53
NBM	0,89	0,81	0,74	0,51	0,45	0,43
EMT (Animal/obrero)	27,33	13,37	41,70	20,33	41,19	26,75
INS ¹	28,13	4,63	29,42	5,53	41,13	6,94
SGA (ha)	82,95	27,43	68,25	21,70	71,94	41,67
LIM ¹	14,04	2,14	14,17	1,94	13,88	2,80
CON ¹	22,83	2,59	24,56	4,02	24,75	3,54
DES (Animal)	1,63	3,13	5,94	8,69	12,20	11,45
REG ¹	2,17	0,58	2,71	1,05	3,88	1,25
RAZ ¹	3,74	0,45	3,27	1,07	4,00	-
MRE ¹	4,00	-	4,00	-	5,00	1,07
RVT Vaca:toro)	11,79	6,96	18,63	8,08	21,03	6,96
NVO (Vacas/ordeñador)	8,78	3,87	14,52	6,38	16,38	4,66
ALI ¹	30,74	7,31	38,08	9,16	39,88	9,28
SUP ¹	20,91	16,60	24,85	14,51	30,25	13,79
AGU ¹	11,35	1,19	11,77	4,68	10,25	1,58
STO ¹	15,87	1,71	18,29	1,03	18,75	1,28

¹ Variables calculadas por combinación entre varios indicadores, por lo tanto no presentan unidades.

por la poca disponibilidad de asistencia técnica, al no contar con los servicios básicos necesarios en su unidad de producción y un nivel bajo de instrucción de este tipo de productor. Páez *et al.* (2003), haciendo uso de la misma metodología multivariada, describieron en el estado Apure una alta proporción de fincas (48%) definidas como tradicionales con características similares a las obtenidas en esta clase: problemas de salud, baja productividad física, una proporción de vacas en ordeño por el orden de 50% a las cuales ofrecen los mejores potreros con forrajes de mediana a baja calidad.

La Clase 2 identifica las unidades de producción con un nivel tecnológico intermedio (60,8% de las fincas), especificada por la eficiencia en el uso de los factores de producción y junto al manejo del recurso animal para la producción de leche son las variables artificiales que se encuentran por encima del promedio general de todas las fincas (Cuadro 2), mientras que el uso de la infraestructura en las actividades de manejo de los animales mostró el menor promedio general en toda la muestra. Estas tres características son avaladas por los estadísticos de las variables originales mostradas en el Cuadro 3, donde en el caso de la eficiencia de la mano de obra con los animales totales (EMT) mostró la mayor estimación promedio con un valor de 41,70 animales/ obrero ($\pm 20,33$), mientras que la superficie destinada a la producción ganadera (SGA) alcanzó 68,75 ha ($\pm 21,70$) de promedio en este grupo de fincas, siendo la menor entre todas las clases. De otro modo, se tiene que las hembras en producción, determinadas por el porcentaje de vacas en ordeño (VOR), fue la de mayor valor con un promedio de 70,37% ($\pm 13,82$) similar a las hembras en el rebaño encontradas por Paredes *et al.* (2003) con valor de 72% en Barinas definiendo esta modalidad como doble propósito leche-carne.

Por otro lado, en la clase aquí establecida el tipo de infraestructura (INS) para el manejo de los animales es inadecuada, en particular para el manejo reproductivo, similar a lo encontrado por Páez *et al.* (2000); además, el número de vacas por reproductor (RVT = $18,63 \pm 8,08$) es bajo si se compara con el valor ideal de 25 vacas por toro. La alimentación (ALI) y suplementación (SUP) de los animales mostraron un valor intermedio entre las otras dos clases establecidas ($24,85 \pm 14,51$ y $38,08 \pm 9,16$ respectivamente), donde el primero se fundamenta en el pastoreo de gramíneas naturales e introducidas tanto en la época de lluvia y

sequía, pero con un uso marcado en esta última de forrajes provenientes de los restos de maíz y sorgo (CON = $24,56 \pm 4,02$), mientras que el suministro de sal y alimento elaborado en la propia finca, como suplemento, es lo común en estas unidades de producción, los cuales se realizan sin tomar en cuenta los requerimientos de los animales.

La Clase 3 resultó en unidades de producción (10,1%) con alto nivel tecnológico, donde la eficiencia en el uso de los factores de producción en las actividades de manejo de los animales son las variables que estando por encima del valor promedio del grupo (Cuadro 2) mostraron la mayor representación dentro de esta clase, siendo estas a su vez las que determinan el mayor nivel en el uso de la tecnología en este grupo de fincas. La importante disponibilidad de instalaciones (INS = $41,13 \pm 6,94$) se relaciona efectivamente con el manejo reproductivo que se lleva a cabo en estas unidades de producción, principalmente en el apareamiento del toro con la vaca, donde la mayor disponibilidad de potreros permite la asignación de reproductores a un grupo determinado de hembras con la posibilidad de rotarlos periódicamente con la consecuente división del rebaño. Esto permite una mayor relación vaca/toro (RVT = $21 \pm 6,96$) en una superficie para la ganadería con un valor promedio de 71,94 ha ($\pm 41,67$) siendo una estimación intermedia entre las dos clases establecidas. Otras características relacionada al uso de tecnología en estas fincas son los valores altos en el manejo alimentación ($39,88 \pm 9,28$) y de suplementación de los animales (SUP = $30,25 \pm 13,79$) en comparación a las otras dos clases donde estas variables estuvieron por debajo de dicho valor.

También, el descarte de animales (DES = $12,20 \pm 11,45$) es otra variable que indica el nivel de tecnología en estas unidades de producción, caracterizado por el desecho de aquellas hembras de poca producción, avanzadas en edad, con problemas reproductivos que a la poste restan rendimiento en la unidad de producción. La toma de registros (REG = $3,88 \pm 1,25$) junto al perfil social del productor (TGE = $53,19 \pm 6,74$), son variables que están relacionadas, gracias a que el productor tiene disponibilidad asistencia técnica por parte de entes públicos o privados.

Contrario a esta descripción se mostró la eficiencia en el manejo del recurso animal para la producción de leche, la cual se observó con signo negativo (Cuadro 2), condición que puede corresponderse por la baja

proporción de vacas en ordeño ($VOR = 55,60\% \pm 13,53$) en un rebaño constituido primordialmente por hembras ($HTP = 78,85\% \pm 8,20$) indicando que estas unidades de producción a pesar de que disponen de tecnología, no es eficientemente aplicada. Esta situación permite que la variable producción de leche tradicional se haya estimado positiva (Cuadro 2), donde el productor considera que las hembras en crecimiento ($NBM = 0,45 \pm 0,43$) son los posibles reemplazos de las vacas en el rebaño, razón por la cual mantiene en el mismo una importante cantidad de este tipo de animales. Páez y Jiménez (2001) reportaron en Barinas unidades de producción que disponían de instalaciones adecuadas para el manejo de animales con una proporción de vacas en ordeño de 32%, mucho menor a la encontrada en esta investigación, y una producción de leche (600 L/d) cuyas variables permitieron definir a este tipo de fincas como unidades hacia la intensificación para la producción de leche.

CONCLUSIONES

De las 79 unidades de producción estudiadas se definieron tres patrones tecnológicos diferentes: 29,1% de las fincas se determinaron como bajo, 60,8% intermedio y 10,1 como alto nivel tecnológico, demostrando la gran variabilidad existente del sistema de doble propósito en la región que se hace más acentuada a medida que se profundiza dentro de cada tipología de fincas establecidas.

LITERATURA CITADA

- Alfaro C., Y. Aranguren, A. Clavijo y C. Díaz. 2004. Prevalencia serológica de leptospirosis en ganado doble propósito del noreste de Monagas, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 22(2): 117-132.
- Contreras A. 1997. Estudio técnico económico del sistema de producción con bovinos de doble propósito integrado al cultivo de cereales en la cuenca del río Unare. Tesis de Maestría. Univ. Central Ven. Fac. Agronomía y Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela..
- Courbon R. y A. Gómez. 1985. Métodos de análisis de datos para el diagnóstico de sistemas de producción. Fonaiap, Ceniap, Serie A N° 3-02. Maracay, Venezuela.
- CSTAT. 1989. Programa para el procesamiento y análisis estadístico en microcomputadoras. Servicio Informativo CIRAD, Montpellier, Francia.
- Ortiz P. 1993. Caracterización de sistemas de producción de doble propósito en el Municipio Tucupido del Distrito Ribas, estado Guárico. Tesis de Maestría. Univ. Central Ven. Fac. Agronomía y Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela.
- Páez L. y M. Jiménez. 2000. Caracterización estructural y tipologías de fincas de ganadería de doble propósito en la microregión Acequia - Socopó del estado Barinas. *Zootecnia Trop.*, 18(2): 177-196.
- Páez L. y M. Jiménez. 2001. Caracterización estructural de fincas doble propósito en la microregión Acequia-Socopó del estado Barinas. *Rev. Unellez Cien. Tecn.*, Vol. Esp.: 91-101.
- Páez L., T. Linares, W. Sayazo y R. Pacheco. 2003. Caracterización estructural y funcional de fincas ganaderas de doble propósito en el municipio Páez del estado Apure, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 21(1): 87-108.
- Paredes L., V. Hidalgo, T. Vargas y A. Molinete. 2003. Diagnósticos estructurales en los sistemas de producción de ganadería doble propósito en el municipio Alberto Arvelo Torrealba del estado Barinas. *Zootecnia Trop.*, 21(1): 301-323.
- Pereira L. 1989. Tipificación de patrones tecnológicos en fincas incorporadas a la producción de leche a partir de agosto de 1984 en el Municipio Valle de la Pascua, Distrito Infante, estado Guárico. Tesis de Pregrado. Univ. Central Ven. Fac. Agronomía, Maracay, Venezuela.
- Rivas L. y F. Holmann. 2003. Sistemas de doble propósito y su viabilidad en el contexto de los pequeños y medianos productores en América Latina Tropical. Conferencia Electrónica "Sistemas Pecuarios Diversificados para el Alivio de la Pobreza Rural en América Latina". CATIE - LEAD, Turrialba, Costa Rica. Disponible en <http://www.virtualcentre.org/es/ele/conferencia4/articulos/Ponencia5.htm>.
- Rodríguez I. 1991. Identificación y caracterización de sistemas de producción de medianos productores con bovinos de doble propósito en el Municipio

- Chaguaramas del estado Guárico. Tesis de Maestría en Ciencias. Univ. Central Ven. Fac. Agronomía y Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela.
- Rodríguez Y., D. Morin, L. Paredes, M. Carriles, T. Vargas, R. Núñez y V. Hidalgo. 2001. Diagnóstico estructural de fincas doble propósito en Santa Bárbara, Municipio Colón, estado Zulia. *Zootecnia Trop.*, 19(1): 17-29.
- Tamasaukas R., R. Purroy, C. Rodríguez, I. Ruiz, N. Roa y C. Labrador. 2002. Seroprevalencia de tripanosomiasis y brucelosis bovina en fincas integradas a la producción de maíz, de la zona alta de los municipios Roscio y Ortiz, estado Guárico, Venezuela. *Rev. Cien. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 12(2): 630-634.

Efecto del nivel de alimentación sobre la actividad ovárica, expresión de transportadores de glucosa y tolerancia a la insulina en vacas mestizas durante el posparto

Ana Z. Ruiz^{1*}, Carlos Domínguez³, Nelson Martínez², Livia Pinto², Karin Drescher², Mario Rossini¹, Rafael Pérez³, Jesús Rojas¹, Richard Araneda¹, Adriana Fernández¹ y Nancy Jerez⁴

¹ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Apartado Postal 4563, Maracay 2101, Aragua Venezuela. *Correo electrónico: ruizz11@yahoo.com.

² Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía. Maracay, Aragua. Venezuela.

³ Universidad Experimental Rómulo Gallegos, IDESSA. San Juan de los Morros, Guarico. Venezuela.

⁴ Universidad del Zulia, Instituto de Investigaciones Agronómicas. Maracaibo, Zulia. Venezuela.

RESUMEN

Para evaluar el efecto del plano nutricional sobre estructuras ováricas (EO), calidad de ovocitos, expresión de transportadores de glucosa (Gluts) y tolerancia a la insulina, se emplearon ocho vacas mestizas doble propósito (*Bos taurus* x *Bos indicus*). Los animales fueron aleatoriamente asignados a dos grupos de tratamientos: Tratamiento 1: cuatro vacas de condición corporal (CC) alta y baja, sometidas a nivel de alimentación bajo (BA) y Tratamiento 2: cuatro vacas de CC baja y alta sometidas a nivel de alimentación alto (AA). La evaluación de la actividad reproductiva se realizó semanalmente mediante palpación transrectal y ultrasonografía entre los 15 y 45 días posparto. Las EO fueron evaluadas a través de la presencia de cuerpos lúteos y por las clases de folículos ováricos. Los ovocitos fueron clasificados en: A (ovocitos con presencia de un *cumulus oophurus* claro y compacto y un ooplasma oscuro), B (ovocitos con un *cumulus oophurus* oscuro y compacto y un ooplama oscuro) y C (ovocitos con *cumulus oophurus* oscuro y expandido y ooplasma oscuro). Se evaluó la expresión de Glut-1 y Glut-4 mediante la técnica de Western Blot. Se realizó una prueba de tolerancia a la insulina. Se encontró asociación entre el nivel de nutrición con el porcentaje de ovocitos A (0,756; P<0,05). Se detectó una mayor expresión del Glut-1 en las vacas sometidas a BA y del Glut-4 en animales sometidos a AA. También, se evidenció el efecto del nivel de nutrición sobre la concentración plasmática de glucosa, tanto antes como después de la administración de insulina. Los resultados de este estudio sugieren que el plano de alimentación podría afectar el desarrollo folicular en su etapa final de maduración, debido a que el aporte nutricional es capaz de influir sobre la respuesta reproductiva tanto a nivel ovárico como hipotalámico.

Palabras clave: alimentación, actividad ovárica, transportadores glucosa, tolerancia insulina, vacas doble propósito.

Effect of nutritional level on ovarian activity, glucose transporters expression and insulin tolerance in dual purpose cows during the postpartum period

ABSTRACT

To evaluate the feeding effect on ovarian structure (OS), ovocyte quality, Glut-1 receptor expression, and insulin tolerance test, eight crossbred (*Bos taurus* x *Bos indicus*), dual purpose cows were used. The animals were randomly allocated to two treatments: Treatment 1: Four cows with low and high corporal conditions and a low feed level (LF) and Treatment 2: Four cows with low and high corporal conditions and a high feed level (HF). The evaluation of reproductive activity was done weekly using trans-rectal palpation and ultrasound from 15 to

45 days post-partum. The OS was assessed by the presence of corpus *luteum* and the classes of ovarian follicles. The oocytes were classified as follows: A (oocyte with the presence of a clear and compact *cumulus oophorus* and translucent ooplasm), type B (oocyte with dark and compact *cumulus oophorus* and dark ooplasm), and type C (oocyte with dark and expanded *cumulus oophorus* and dark ooplasm). The expression of Glut-1 and Glut-4 was evaluated by Western Blot analysis; additionally, an insulin tolerant test was performed. The correlation analysis showed an association between feed level and oocytes type A (0.756; $P < 0.05$). The Glut-1 expressed more in animals under Treatment 1 and Glut-4 in animal under Treatment 2. Also, the feed level affected plasmatic glucose concentration before and after insulin injection. The results of this study suggest that the feed level affects the follicular development at its final stage of maturation because the nutritional supply is capable of modulating the reproductive response both at the hypothalamic and ovarian levels.

Keywords: nutrition, ovarian activity, glucose transporter, insulin tolerance, dual purpose cattle.

INTRODUCCIÓN

En el trópico, uno de los factores productivos limitantes a considerar es el bajo aporte nutricional de la dieta animal debido a que existen diferencias marcadas en cuanto a la cantidad y calidad de la alimentación basal, especialmente en ciertas épocas del año. La magnitud del aporte nutricional va a depender de las características ambientales de la zona de producción (Domínguez *et al.*, 1998). En épocas de escasez de nutrientes disponibles para el animal, pueden presentarse importantes redistribuciones en la partición de uso de los mismos, lo que conlleva a la disminución de las reservas corporales endógenas, así como en la deposición de tejido muscular y a una baja tasa de reproducción (Cronjé *et al.*, 2000; Khun *et al.*, 2004).

Se han evidenciado respuestas diferenciales en el comportamiento reproductivo, dependiendo de la condición corporal al momento del parto y de su variación posparto (Martínez *et al.*, 1998; Butler, 2000; Domínguez *et al.*, 2007). En animales con deficiente estado corporal o balance energético negativo, los niveles de leptina circulante en sangre disminuyen y producen un efecto estimulador de la secreción del neuropéptido Y (Iain y Henry, 1999). Este mensajero químico produce una retroalimentación negativa sobre las neuronas hipotalámicas que estimula la secreción de la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH), disminuyendo en consecuencia, la secreción de la hormona luteinizante (LH). El juego hormonal anteriormente mencionado afecta el desarrollo de los folículos en el estadio preantral, los cuales no evolucionan y terminan en atresia (Bach, 2001). Es importante mencionar el efecto del balance energético negativo sobre el inicio de la actividad ovárica y

sobre las concentraciones del factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF-1), insulina y glucosa, los cuales se presentan en bajos niveles (Buttler, 2000). Buttler (2000) y Bach (2001) coinciden con que el reestablecimiento de la actividad ovárica ocurre cuando se produce el NADIR (cambio a balance energético positivo) en el balance energético, lo que trae como consecuencia una elevación de los niveles de insulina, IGF-1, leptina y LH, estradiol (E_2) y la producción de folículos dominantes destinados a la ovulación (Morrison *et al.*, 2001). La regulación endocrina de la foliculogénesis involucra a las gonadotropinas, además de hormonas y factores de crecimiento producidos localmente (Fortune *et al.*, 2004). Existe evidencia (Hafez y Hafez, 2000) de que durante el inicio de la foliculogénesis, hasta la etapa en que se forma el antro folicular, la hormona foliculo estimulante (FSH) no tiene influencia sobre esa fase, pues se ha confirmado que dicha fase inicial se encuentra estimulada por otros factores de carácter intraovárico (Díaz, 1999), mientras que el folículo antral requiere la presencia de gonadotropinas (Eppig, 2001).

El término “perfil metabólico” involucra el estudio de diferentes grupos de parámetros sanguíneos para monitorear el estado metabólico y de salud de las vacas lecheras (Payne, 1989). Quintela *et al.* (2003) correlacionaron las concentraciones sanguíneas de glucosa y del colesterol total en el período posparto con la involución del útero, encontrando una clara correlación, entre las concentraciones séricas de colesterol total, en las primeras semanas del posparto, con el transcurso de la involución uterina.

Para mantener una adecuada nutrición celular cuando la disponibilidad de nutrientes es escasa, se

modifica la expresión de transportadores de glucosa (Gluts), como parte de una respuesta adaptativa (Kahn, 1994). Rubio *et al.* (1996) evidenciaron un incremento significativo en la expresión de transportadores de glucosa no sensible a insulina tipo 1 (Glut-1) en el tejido adiposo en ratas previamente sub-nutridas, mientras que el contenido global del transportador de glucosa sensible a insulina tipo 4 (Glut-4), tanto de tejido muscular como adiposo, no se vio alterado. El Glut-1 se encuentra en todas las células del organismo, tiene una elevada afinidad por la glucosa y su función principal sería la de mantener la concentración de glucosa basal en la célula y posibilitar su entrada al interior de la misma, en estado reposo. Este receptor aumenta su expresión en condiciones de hipoglicemia como un mecanismo de protección al cerebro. La composición de la dieta y el contenido de macronutrientes influyen marcadamente el contenido de Gluts (Kahn, 1994). Estudios *in vivo* en cerdos, vacas y cabras han demostrado que la regulación de la expresión de los Gluts (especialmente Glut-4) es debido a factores nutricionales y hormonales (Hocquette y Abe, 2000).

En función de lo anteriormente descrito, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del nivel de alimentación sobre la expresión del Glut-1 y Glut-4, tolerancia a la insulina, involución uterina, crecimiento folicular y calidad de los ovocitos en vacas mestizas durante el posparto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y localización

Este estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de la Sección de Bovinos del Instituto de Producción Animal de la Facultad de Agronomía de la UCV, Maracay, Aragua, Venezuela. La precipitación promedio anual en la zona es de 800 mm, con una temperatura promedio de 27°C.

Fueron empleados un total de ocho vacas mestizas (3/4-1/2 *Holstein* x *Brahman*) de doble propósito, con dos o más partos. Los animales fueron evaluados entre los 15 y 45 días posparto, luego de los cuales fueron faenados en un frigorífico industrial (Matadero Industrial de Turmero, FITCA, Turmero, Aragua).

Manejo general y alimentación

Las vacas fueron alojadas en puestos individuales de 18 m largo y 2 m de ancho, con piso de cemento y tierra en partes iguales y techado. Cada puesto fue condicionado con un comedero y un bebedero automático donde se ofreció agua a voluntad. La alimentación se basó en el suministro de alimento concentrado (AC), bloque multinutricional (BMN) y pacas de heno de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*). El AC y el BMN se prepararon en el laboratorio. El aporte calculado de la energía metabolizable del AC y BMN fue de 3,2 y 0,86 EM/kg, respectivamente. En el caso de la proteína cruda (PC) y proteína degradable en el rumen (PDR), los aportes fueron de 23,1 y 19,3%, respectivamente, para el AC y de 50,9 y 47,9%, respectivamente, para el BMN. El pasto aportó 2,01 EM/kg, 8,0% de PC y 4,68 % de PDR.

Tratamientos y diseño del experimento

Los animales fueron asignados al azar y balanceados de acuerdo a la condición corporal (CC) al momento del parto y el nivel de producción de leche de la lactancia anterior. Se dividieron en dos tratamientos experimentales, cada uno con 4 repeticiones (vacas). El Tratamiento 1 estuvo conformado por cuatro vacas sometidas a un nivel bajo de alimentación (BA). El Tratamiento 2 contó con cuatro vacas, sometidas a un nivel alto de alimentación (AA). En el grupo de animales con BA, la dieta cubría el 85% de los requerimientos totales de energía del animal, mientras que para los animales sometidos a una AA, las dietas cubrían 115% de los requerimientos totales de energía. La aplicación de los tratamientos se inició a los tres días posparto. Los requerimientos de las vacas fueron determinados en función del peso corporal y la producción de leche de la lactancia anterior (promedio diario hasta los 60 días), de acuerdo a los requerimientos del National Research Council (NRC, 1984). Se decidió mantener la relación de la cantidad de nitrógeno fermentable (NFR) y de materia orgánica degradable en el rumen (MODR) entre 25 y 30 g NFR/kg, con el propósito de evitar efectos confundidos debido a la variación entre tratamientos por dicha causa.

Medidas corporales

Se evaluó la condición corporal al momento del parto y el cambio de la CC a los 15, 30 y 45 días posparto. La CC fue clasificada en la escala del 1 al 5, según National Institute of Research in Dairying,

modificado por Fattet y Jaurena (1988). Las vacas fueron consideradas como de CC alta al momento del parto, si tenían valores mayores o iguales a 2,5 y como de CC baja al momento del parto, si sus valores eran inferiores a 2,5.

Actividad ovárica

La evaluación de la actividad ovárica se llevo a cabo a través de la palpación rectal y del uso de ultrasonido por vía transrectal (Aloka SSD 900 Co. Ltd., Tokyo, Japón), usando una sonda lineal de 7,5 MHz. Dicha evaluación se realizó una vez por semana, antes de la aparición del primer celo y dos veces por semana, a partir de la misma (Domínguez *et al.*, 2007). Esto permitió clasificar la población folicular en el momento del examen ginecológico en varias clases: Clase 1: ≤ 5 mm, Clase 2: 6-9 mm y Clase 3: ≥ 10 mm (Díaz *et al.*, 1998). Igualmente, la evaluación con el ultrasonido permitió confirmar la presencia de cuerpos lúteos.

Prueba de tolerancia a la glucosa

A los 45 días posparto se tomaron muestras seriadas de sangre para la determinación de glucosa de las vacas sometidas al experimento. Para la toma de muestras se colocó en la vena yugular un catéter con estilete metálico (Intracath®, Becton Dickinson, México). El muestreo se inició previo al consumo de alimento (tiempo basal ó tiempo 0) y continuó, con intervalos de 30 min, hasta 3 h después del suministro del mismo. Posteriormente, se inyectó por vía endovenosa, una dosis de insulina (0,1 UI/100 kg peso vivo; Insulina Zinc ADN Recombinate Humana, HUMULIN, Eli Lilly and Company, EUA). El muestreo de sangre continuó, con intervalos de 20 min cada uno, durante 3 h adicionales para completar 6 h totales de muestreo. La concentración de glucosa fue determinada a través del método enzimático descrito por Henry (1974), cuyo principio se basa en la reacción de la glucosa oxidasa (GOP) con la glucosa de la muestra, la cual produce una coloración de color rojo, cuya intensidad es proporcional a la concentración de la glucosa (mg/dL) y es medida por espectrometría a 510 nm.

Toma de muestras de tejido en el matadero

Los animales fueron faenados a los 45 días posparto. Inmediatamente después de la faena, se procedió a la toma de muestras de tejido

adiposo a nivel intercostal. Las muestras fueron inmediatamente conservadas en nitrógeno líquido y posteriormente, almacenadas a -80°C hasta ser procesadas.

Clasificación de los ovocitos (calidad de ovocitos)

Aproximadamente 20 min después del sacrificio de las vacas, se recolectaron los ovarios para evaluar la calidad de sus ovocitos, lo cual se realizó en el Laboratorio del Instituto de Reproducción de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UCV. Los ovarios se separaron con bisturí y se colocaron en frascos que contenían 500 mL de medio de transporte (solución salina estéril a temperatura entre $37-39^{\circ}\text{C}$). Luego, aproximadamente a las 4 h de recolectadas se procedió a la aspiración de los folículos con diámetros mayores a 2 mm, usando para esto una jeringa de plástico de 5 mL con aguja calibre 18 (Weplast®). El contenido aspirado se colocó en tubos cónicos de 50 mL (Falcon®, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA), que contenía el medio de cultivo modificado con líquido folicular humano (HTF, Irvine Scientific, UK).

Finalmente, se clasificaron los ovocitos, colocando el precipitado con una pipeta de transferencia estéril en una placa de cultivo de 100 mm (Costa Falcon®, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA), la cual contenía el medio de maduración HTF (pH 7,4) a 37°C . Mediante el uso de un estéreomicroscopio (Carl Zeiss, Modelo Stemi SV8, Jena GmbH, Jena, Germany) con aumento de 100X, los ovocitos fueron clasificaron en: Ovocitos tipo A (ovocitos con presencia de un cumulus oophurus claro y compacto y un ooplasma oscuro), B (ovocitos con un cumulus oophurus oscuro y compacto y un ooplasma oscuro) y C (ovocito con cumulus oophurus oscuro y expandido y ooplasma oscuro) (Boni *et al.*, 2002).

Expresión del Glut-1 y Glut-4 mediante la técnica de Western Blot

Se preparó un minigel de poliacrilamida-dodecil sulfato sódico (10-5% p/v) del tipo discontinuo (SDS-PAGE). En este gel, se descargaron 200 μg de proteínas (cuantificadas mediante kit de BCA (Pierce, Rockford, IL, EUA) del tejido adiposo de cada animal. Las proteínas fueron separadas mediante un sistema de electroforesis vertical (GIBCO BRL, Life Technologies, Gaithersburg, MD, EUA). Además, se cargó el gel con diferentes estándares: estándar

precoloreado de proteínas (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA), muestras de tejido adiposo de rata y ratón (100 µg, como controles positivos) y una muestra de ganglio bovino (100 µg, como control negativo).

Se realizó la corrida electroforética del gel a 120 V, durante 3 h a 4°C. Las bandas proteicas fueron transferidas desde el gel hacia una membrana de nitrocelulosa (45 µm; Sigma, St. Louis MI, EUA), mediante un equipo de transferencia semi seco (Owl Separation System, Portsmouth, NH, EUA). Para este procedimiento, se aplicaron 14 V durante 1,5 h a 4°C. Las membranas fueron bloqueadas con solución buffer Tris-Tween (2,42 g de Base Tris + 29,24 g de NaCl + 0,5 mL Tween-20 / 1 L de H₂O destilada; TBST, pH 7,5), que contenía 5% de leche deshidratada y descremada. Este procedimiento se realizó durante 1 h a 4°C.

La membrana se incubó con el primer anticuerpo para el Glut-1 de humano producido en conejo (H-43: sc-7903, Santa Cruz Biotechnology, EUA) a una dilución 1:100 durante 16-20 h a 4°C, luego de lo cual fue lavada tres veces con TBST durante 5 min. Posteriormente, fue incubada con el segundo anticuerpo, policlonal de cabra anti-conejo conjugado con la enzima peroxidasa (sc: 2004, Santa Cruz Biotechnology, EUA), durante 1 h a 4°C. El segundo anticuerpo fue usado a una dilución de 1: 5000.

Las bandas proteicas inmunoreactivas se visualizaron mediante una reacción de quimoluminiscencia (Signal^R West Pico; Pierce, Rockford, IL, EUA). Finalmente, las membranas se expusieron a películas de rayos X durante 30 min para visualizar las bandas proteicas respectivas. Las películas de rayos X, conteniendo las bandas proteicas, fueron escaneadas (Hewlet Packard Scanjet 3970, Palo Alto CA, EUA) y almacenadas en imágenes de 811 x 614 píxeles (5,41 x 4,10 pulgadas).

Luego, la membrana fue incubada con el primer anticuerpo para el Glut-4 de humano producido en cabra (C-20: sc-1608, Santa Cruz Biotechnology, EUA) a una dilución 1:100 durante 16-20 h. Posteriormente fue incubada con el segundo anticuerpo, IgG (molécula completa) de conejo anti-cabra conjugado con la enzima peroxidasa (A-5420, Sigma St. Louis, MI, EUA), durante 1 h a 4°C. El segundo anticuerpo fue usado a una dilución de 1: 80.000. Luego se siguió el mismo procedimiento anteriormente descrito.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados a través del paquete estadístico SPSS (2000), versión 10. Para evaluar el efecto del nivel de alimentación sobre la CC al momento del parto y el cambio de CC, poblaciones foliculares, presencia de cuerpo lúteo y tipos de ovocitos, por ser todas variables respuestas de tipo cualitativo (discretas) se recurrió a estadística no paramétrica. Primero, se calculó una matriz de correlación no paramétrica de Kendall y posteriormente se realizó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal y Wallis, por tener solo un criterio de clasificación.

Las concentraciones de glucosa plasmática con y sin administración de insulina fueron analizadas empleando el mismo paquete estadístico, mediante un análisis de varianza univariado para medidas paramétricas. El modelo estadístico incluyó tratamiento, tiempo y la interacción tiempo*tratamiento, y los niveles de glucosa como variable dependiente.

RESULTADOS

Medidas corporales

El análisis de la matriz de correlación no paramétrica y el ANAVAR no mostró efecto del nivel de alimentación sobre la CC al parto.

Actividad ovárica

El análisis no paramétrico de los datos no detectó asociaciones entre las clases de folículos ováricos y el nivel de alimentación; así como tampoco se detectó este efecto al aplicar el ANAVAR. Además, no se detectó efecto de nivel de alimentación sobre la aparición del CL.

Prueba de tolerancia a la glucosa

El nivel de alimentación de las vacas afectó significativamente ($P < 0,05$) la concentración plasmática de glucosa posprandial. Los valores de glucosa previa inyección de insulina fueron en promedio de 58,04 y 64,62 mg/dL para los animales sometidos a los tratamientos BA y AA, respectivamente (Figura 1). La concentración de glucosa posterior a la inyección de insulina también fue afectada significativamente por el tipo de alimentación ($P < 0,01$). Los animales sometidos a AA mostraron los niveles más bajos de glucosa plasmática posterior a la inyección de insulina en comparación al grupo sometido a BA

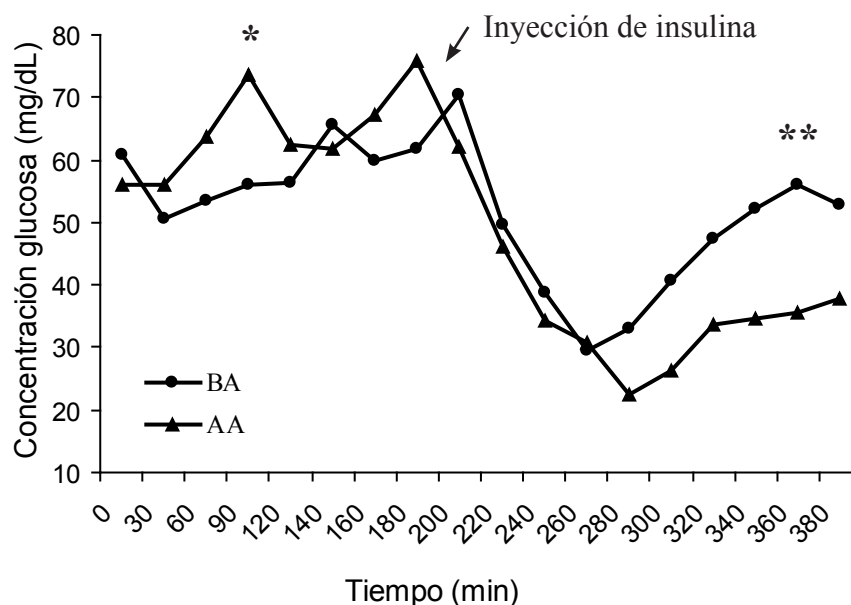


Figura 1. Concentración plasmática de glucosa (mg/dL) antes y después de la administración de insulina en vacas mestizas sometidas a dos niveles de alimentación. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

(22,60 vs. 29,53 mg/dL), así como el efecto de la insulina fue más prolongado para el tratamiento 2 (80 min posinyección de insulina), en comparación con los animales sometidos al tratamiento 1, los cuales comenzaron a recuperar sus valores plasmáticos de glucosa a los 60 min posinyección de insulina (Figura 1).

Calidad de los ovocitos

El análisis de la matriz de correlación no paramétrica reveló una relación de 0,756 ($P < 0,05$) entre los ovocitos tipo A y el los tratamientos aplicados. Además, al analizar los datos mediante el ANAVAR se pudo evidenciar que el nivel de alimentación afectó significativamente ($P < 0,05$) el porcentaje de ovocitos tipo A (Cuadro 1). En la Figura 2 (a, b y c) se pueden observar los tipos de ovocitos encontrados en el experimento. Los promedios de ovocitos tipo A para los tratamientos 1 y 2 fueron 0,620 y 0,845, respectivamente, aplicando un ANAVAR no paramétrico.

Expresión del Glut-1 y Glut-4

La expresión del Glut-1 fue demostrada mediante la aparición de una banda de peso molecular de aproximadamente 55 kDa. La mayor expresión del receptor de Glut-1 en el tejido adiposo, medido como unidades de densidad óptica, se presentó en las vacas

sometidas a un BA en comparación con las que fueron sometidas a un AA, independientemente de la CCde las vacas al momento del parto (Figura 3).

En el caso del Glut-4, se identificó una banda proteica de aproximadamente 60 kDa. Al evaluar la expresión del Glut-4 en el tejido adiposo, se pudo observar una mayor expresión de este transportador de glucosa en los animales sometidos a un AA en comparación con los que fueron sometidos a un BA (Figura 4).

DISCUSIÓN

Las vacas sometidas al tratamiento 1 mostraron un menor número de ovocitos maduros tipo A. Se ha reportado que una alimentación insuficiente y/o sin balancear puede causar graves desórdenes reproductivos y un retraso en el inicio de la ovulación (Ferguson, 1996). Una deficiencia energética puede reducir el crecimiento folicular y el desarrollo y secreción hormonal de IGF-I, estrógeno y progesterona (Reksen y Ropstad, 2002). El desbalance energético negativo (BEN) puede afectar la calidad de los ovocitos, durante el período de posparto temprano (Buttler, 2005), imprimiendo condiciones negativas dentro de los folículos durante su desarrollo, fundamentalmente durante los días 60-80 del posparto. En el presente estudio se evidenció

Cuadro 1. Tipos de ovocitos (%) en vacas mestizas sometidas a dos niveles de alimentación

Tratamiento	Ovocitos	Tipos de ovocitos		
		A	B	C
	N°	----- % -----		
BA	21	66,67	14,29*†	19,05
AA	17	82,3*	5,8	11,7

† Asterisco indica diferencia significativa (P<0,05) entre medias

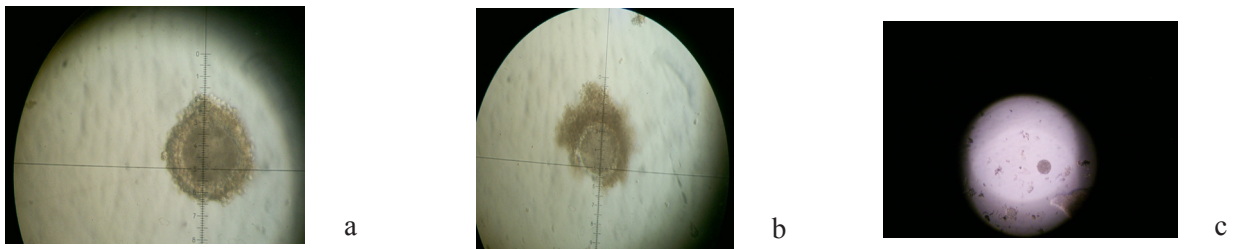


Figura 2. Tipos de ovocitos. a). Tipo A, b) Tipo B y c). Tipo C

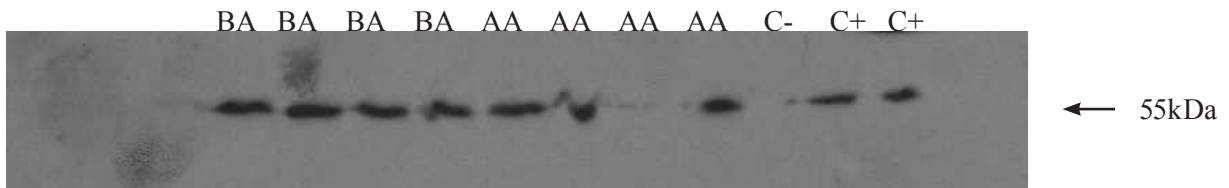


Figura 3. Expresión del Glut-1 en el tejido adiposo de vacas mestizas sometidas a dos niveles de alimentación

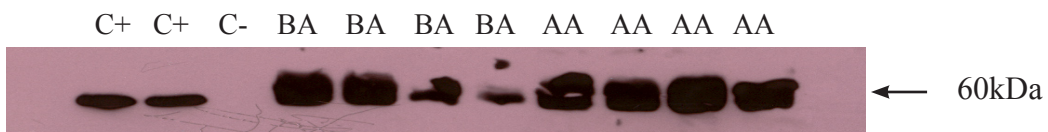


Figura 4. Expresión del Glut-4 en el tejido adiposo de vacas mestizas sometidas a dos niveles

que de los animales que recibieron un AA, el 83,3% de sus ovocitos fueron del tipo A. Fihri *et al.* (2005) colectaron ovocitos de vacas de diferentes CC faenadas en matadero y encontraron que en las vacas de alta condición el 79% de dichos ovocitos fueron de buena calidad ($P < 0,05$). Las vacas de pobre CC tuvieron bajos rendimientos en el número de ovocitos colectados, lo cual estuvo relacionado con el nivel de energía de la dieta. Kendrick *et al.* (1999) señalaron que el rendimiento en la aspiración de ovocitos fue mayor en vacas que consumían dietas altas en energía. De hecho, la CC tiene un significativo efecto sobre el número de folículos y sobre el rendimiento y calidad de los ovocitos (Rhind *et al.*, 1989; Domínguez, 1995; Kumar *et al.*, 1998). Las observaciones de los trabajos anteriormente mencionados indican que la calidad de los ovocitos está asociada con la reducción de la fertilidad en las vacas de baja CC al parto, las que probablemente estén en un balance energético negativo. En el presente estudio, no pudo ser evidenciado efecto del nivel de alimentación sobre la CC, aunque se detectó una asociación significativa entre los folículos Clase 1 con los cambios en la CC.

En cuanto a la concentración de glucosa, previo a la inyección de insulina, ésta estuvo afectada por el nivel de alimentación, siendo mayores las concentraciones registradas en los animales que recibieron un AA, como era de esperarse. El descenso en las concentraciones plasmáticas de glucosa después de la inyección de insulina fue mayor en los animales sometidos a un AA, así como el efecto de esta hormona se mantuvo más en el tiempo en este grupo (Figura 1), lo que permite sugerir que después de la liberación de insulina posprandial, los niveles de glucosa sanguíneas normales se recuperan más rápidamente en animales sometidos a un BA, debido a que estos animales pudieran hacerse no dependientes de la insulina para mantener sus requerimientos energéticos, sobre todo los del sistema nervioso. Uno de los mecanismos que pone en marcha el organismo animal para compensar esta situación de déficit de nutrientes es a través de la modificación de la expresión de algunos genes, como los que codifican para los transportadores de la glucosa. Así, en el presente estudio se observó un incremento de la expresión del Glut-1 en el tejido adiposo de los animales sometidos a un BA. Esto coincide con los resultados presentados por Rubio *et al.* (1996), los cuales evidenciaron cómo la hipoglicemia crónica de las ratas mal-nutridas

influyó sobre el aumento de la expresión del Glut-1. Estos resultados sugieren que ante el suministro de niveles energéticos bajos en la dieta, el organismo animal puede compensar el déficit nutricional sobre-expresando los transportadores de glucosa que no dependen de la insulina para de esta forma captar la mayor cantidad posible de la glucosa circulante. En cuanto a la expresión del Glut-4, fue mayor en los animales sometidos a un AA (Figura 4), difiriendo con lo reportado por Rubio *et al.* (1996), los cuales no pudieron evidenciar alteración en el contenido global del Glut-4, tanto de tejido muscular como adiposo. Es de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa, en animales sometidos a diferentes planos nutricionales, la estimulación de la síntesis de transportadores de glucosa en los tejidos sensibles a la insulina, como es el tejido muscular y adiposo (Kahn, 1994). Ha sido reportado que el balance energético negativo conduce a bajos niveles hormonales (insulina e IGF), así como al descenso en los niveles de glucosa (Buttler, 2000), lo cual podría explicar el bajo número de ovocitos observado en el grupo de animales que recibieron un BA.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten sugerir que el nivel de alimentación afecta la calidad de los ovocitos, especialmente los del tipo A, debido a que las restricciones nutricionales, particularmente las del tipo energético, podrían afectar la actividad reproductiva, así como a la concentración de algunos metabolitos como es el caso de la glucosa, los cuales imprimen un efecto negativo sobre la actividad reproductiva.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (Fonacit) por haber aportado los recursos económicos (Proyecto G-2005000446) para llevar a cabo esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Bach A. 2001. La reproducción del vacuno lechero: Nutrición y Fisiología. XVII Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal. FEDNA. Purina, España.
- Boni R., A. Cuomo y E. Tosti. 2002. Developmental potential in bovine oocytes is related to cumulus-

- oocyte complex grade, calcium current activity, and calcium stores *B. Rep.*, 66: 836-842.
- Buttler W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Rep. Sci.* 60 –61: 449–457.
- Buttler R. 2005. Relationship of dietary protein and fertility. *Adv. Dairy Tech.*, 17.: 159-168.
- Cronjé P., M. Jager y E. Vlok. 2000. Nutrient partitioning and response to insulin challenge at different planes of nutrition during lactation in goats of high vs. low milk production potential. *South African J. Anim. Sci.*, 30(3): 178 – 185.
- Diaz T., E.J-P Schmitt, R.L. de la Sota, M.J. Thatcher y W.W. Thatcher. 1998. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.*, 76: 1929–1936.
- Díaz T. 1999. Dinámica del desarrollo folicular ovárico durante el ciclo estral en el bovino. *Rev. Fac. Cien. Vet. UCV*, 40: 3-18.
- Domínguez C., P. Herrera, B. Birbe y N. Martínez. 1998. Impacto de la suplementación estratégica con bloques nutricionales en vacas de doble propósito. *En* C. González Stagnaro, N. Madrid Bury y E. Soto Belloso (Eds). *Mejora de la Ganadería Mestiza de Doble Propósito*. Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Facultad de Agronomía, CONDES, GIRARZ. Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. pp. 349-379.
- Domínguez C.E., J. Garmendia y N. Martínez. 2007. Influencia de la época de parto, la condición corporal y la suplementación sobre la actividad ovárica posparto de vacas mestizas bajo pastoreo mixto en el norte del estado Guarico, Venezuela. *Rev. Fac. Cien. Vet. LUZ*, 48(1): 37-50.
- Dominguez M.M. 1995. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. *Theriogenology*, 43: 1405-1418.
- Eppig J.J. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 122: 829-838.
- Fattet I. y M. Jaurena. 1988. *El Estado Corporal de las Vacas Lecheras*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Fihri A.F., H. Lakhdissi, L. Derqaoui, M. Naciri y A. Goumari. 2005. Genetic and nongenetic effects on the number of ovarian follicles and oocyte yield and quality in the bovine local (*Oulmes zaer*), exotic breeds and their crosses in Morocco. *African J. Biotech.*, 4(1): 9-13.
- Ferguson J.D. 1996. Diet, production and reproduction in dairy cows. *An. Feed Sci. Tech.*, 59: 173-184.
- Fortune J.E., G.M. Rivera y M.Y. Yang. 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim. Rep. Sci.*, 82- 83: 109-126.
- Hafez E.S.E. y B. Hafez. 2000. Folliculogenesis, egg maturation, and ovulation. *En* Hafez E.S.E. y B. Hafez (Eds.) *Reproduction in Farm Animals*. Lippincott Williams & Wilkins. PA, pp. 68-81.
- Hocquette J.F. y H. Abe 2000. Facilitative glucose transporters in livestock species. *Reprod. Nutr. Dev.*, 40(6): 517-533.
- Iain J.C. y A. Henry. 1999. Leptin and reproduction. *Rev. Rep.*, 4: 48-55.
- Henry R.J. 1974. *Clinical Chemistry. Principles and Techniques* 2^{da} ed, Harper & Row, New York, NY..
- Kahn B.B. 1994. Dietary regulation of glucose transporter gene expression: tissue specific effects in adipose tissue cells and muscle. *J. Nutr.* 124(8 suppl): 1289S-1295S.
- Kendrick K.W., T.L. Bailey, A.S. Garst, A.W. Pryor, A. Ahmadzadeh ARM. Akers, W.E. Eyestone, R.E. Pearson y G. Gwazdauskas. 1999. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows, using transvaginal follicular aspiration. *J. Dairy Sci.*, 82: 1731-1740.
- Kühn, C., Bellmann, O., Voigt, J., Wegner, J., Guiard, V. y K. Ender. 2004. An experimental approach for studying the genetic and physiological background of nutrient transformation in cattle with respect nutrient secretion and accretion

- type. Research Institute for the Biology of Farm Animals, Dummerstorf, Alemania.
- Kumar B., S.M. Francis, J.M. Suttie y M.P. Thompson. 1998. Expression of obese mRNA in genetically lean and fat selection line sheep. *Comp. Biochem. Physiol.*, 120: 543-548.
- Martínez, N., P. Herrera, B. Birbe y C. Domínguez. 1998. Relación entre la condición corporal y la respuesta reproductiva de hembras bobinas de doble propósito. *En* C. González, N. Madrid-Bury y E. Soto Belloso (Eds). *Mejora de la Ganadería Mestiza de Doble Propósito*. Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, Facultad de Agronomía, CONDES, GIRARZ. Ediciones Astro Data, Maracaibo. Venezuela. pp.398-412.
- Morrison C.D., J.A. Daniel, B.J. Holmberg, J. Djiane, N. Raver, A. Gertler y D.H. Keisler. 2001. Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs: Effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone. *J. Endocrin.*, 168: 317-324.
- NRC.1984. *Nutrient Requirement of Beef Cattle 6th ed*, National Academy Press. Washington, DC.
- Payne J.M. 1989. *Metabolic and nutritional diseases of cattle*. Blackwell Scientific. Oxford. Londres.
- Reksen O y E. Ropstad. 2002. Influence of dietary energy and protein on reproductive performance in dairy cattle. *Norsk-Veterinaertidsskrift*, 114(1): 21-25.
- Rhind S.M., W.A.C. McKelvey, S.R. McMillen, R.G. Gunn y D.A Elston. 1989. Effect of restricted food intake, before and/or after mating, on the reproductive performance of greyface ewes. *Anim. Prod.*, 48: 149-155.
- Rubio E., M. Agote, F. Escriba y A.M. Pascual-Leone. 1996. Contenido en glut-4 y glut-1 en respuestas in vivo a la insulina en músculos de ratas subnutridas y realimentadas. *Ars. Pharma.*, 37: 957-969.
- Quintela L.A., M.E. García, A.I. Peña, A.C. Díaz, M. Barrio, J.J. Becerra y P.G. Herradón. 2003. Asociación entre el perfil sérico bioquímico y la duración de la involución uterina en hembras bovinas de producción láctea. *Arch. Zootec.*, 52: 419-429.

Composición química, contenido de polifenoles totales y valor nutritivo en especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino

Carlos A. Rossi^{1*}, Marcelo De León^{2,3}, Gabriela L. González¹, Patricia Chagra Dib⁴
y Ana M. Pereyra¹

¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Santa Catalina, Llavallol, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Correo electrónico: carossi2000@yahoo.com

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Manfredi, Provincia de Córdoba, Argentina.

³ Facultad de Ciencias Agropecuaria, Universidad Nacional de Córdoba, Provincia de Córdoba, Argentina.

⁴ INTA Estación Experimental Chamental, Provincia de La Rioja, Argentina.

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la composición química, contenido de polifenoles totales (CPT) y valor nutritivo en las principales especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino. Los resultados mostraron para proteína bruta (PB) un rango entre 19,4% para *Mimozyanthus carinatus* y 10,2% para *Aspidosperma quebracho-blanco*. Para fibra detergente neutro, los valores fueron elevados: 46,7% para *Acacia aroma*, 44,3% *Prosopis flexuosa*, 42,3% *A. quebracho-blanco* y el mínimo 17,9% resultó para *Bulnesia foliosa*. El porcentaje de fibra detergente ácido resultó máximo (41,3%) en *A. aroma* y mínimo (13,8%) en *B. foliosa*. Los mayores CPT se encontraron en *Larrea cuneifolia* (24,3%) y *Larrea divaricata* (14,4%) y los menores en *A. aroma* (3,6%), *A. quebracho-blanco* (3,4%) y *Celtis pallida* (1,2%). Los análisis de la degradabilidad *in situ* de la materia seca (DIS MS) y de la PB (DIS PB) se realizaron a lapsos de 24 y 48 h. Para DIS MS a 24 h, *B. foliosa* (86,7%), *C. pallida* (72,1%) y *L. divaricata* (67,9%) resultaron con la mayor degradabilidad. Los menores valores fueron para *M. carinatus* (44,47%), *Prosopis torquata* (44,2%) y *A. aroma* (27,1%). Para DIS MS a 48 h, las especies se agruparon en forma similar. La DIS PB mostró valores superiores al 70% en la mayoría de las especies (*B. foliosa*, *C. pallida*, *L. divaricata*, *A. quebracho-blanco*, *L. cuneifolia* y *P. flexuosa*) Para ambos lapsos, *B. foliosa* resultó con los mayores valores (91,7 y 91,3% para 24 y 48 h, respectivamente), mientras que *A. aroma* mostró los menores (18,4 y 16,8% para 24 y 48 h, respectivamente). No se detectaron correlaciones positivas entre CPT y la DIS MS y de la DIS PB, probablemente debido a que la técnica usada no es específica para detectar solo taninos.

Palabras clave: proteína bruta, fibra, degradabilidad *in situ*, bosque xerofítico, caprinos, vacunos.

Chemical composition, total polyphenols content and nutritional value of browsing species at the silvopastoral system in Argentinean arid Chaco

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the chemical composition, total polyphenols content (TPC), and nutritional value of the main browsing species of the Argentinean arid Chaco. The results showed that crude protein (CP) registered a range between 19.4% for *Mimozyanthus carinatus* and 10.2% for *Aspidosperma quebracho-blanco*. For neutral detergent fiber, the values were high for *Acacia aroma* (46.7%), *Prosopis flexuosa* (44.3%), and *A. quebracho-blanco* (42.3%) and minimum for *Bulnesia foliosa* (17.9%). For acid detergent fiber, *A. aroma* had the maximum value with 41.2% and *B. foliosa* with the lowest, 13.8%. For TPC, the highest values were 24.3

and 14.4% for *Larrea cuneifolia* and *Larrea divaricata*, respectively, while the lowest values were 3.6, 3.4, and 1.2% for *A. aroma*, *A. quebracho-blanco*, and *Celtis pallida*, respectively. The *in situ* degradability analyses for dry matter (ISD DM) and CP (ISD CP) were carried out at 24 and 48 h. For ISD DM at 24 h, *B. foliosa* (86.7%), *C. pallida* (72.1%) and *L. divaricata* (67.9%) were the species with the highest values. The smallest values were for *M. carinatus* (44.5%), *Prosopis torquata* (44.2%), and *A. aroma* (27.1%). For ISD DM at 48 h, the species grouped in similar form. The ISD CP analyses showed values greater than 70% in most of the species (*B. foliosa*, *C. pallida*, *L. divaricata*, *A. quebracho-blanco*, *L. cuneifolia* and *P. flexuosa*). For both lapses, *B. foliosa* showed the highest values (91.7 and 91.3% for 24 and 48 h, respectively) and *A. aroma* with the lowest (18.4 and 16.8% for 24 and 48 h, respectively). Positive correlations were not detected among TPC and ISD DM and ISD CP, probably due to the TPC method used is not specific for tannins.

Keywords: crude protein, fiber, *in situ* degradability, xerophytic forest, goats, cattle.

INTRODUCCION

La región del Chaco árido de Argentina es una extensa planicie (llanura chaqueña) de pendientes suaves que se extiende en el noroeste del país y ocupa una superficie estimada en 8 000 000 ha. El clima es subtropical cálido con una prolongada estación seca, las lluvias son marcadamente estivales (régimen monzónico) que promedian los 320 mm/año. La vegetación se corresponde con un bosque xerofítico bajo, que en condiciones de poca degradación se estructura con tres niveles de vegetación: un estrato superior arbóreo dominado por quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*) y algarrobo (*Prosopis* spp.), un estrato medio de árboles menores y arbustos y un estrato inferior de pastos nativos megatérmicos (Poaceas C4) de gran diversidad florística (Morello *et al.*, 1977; Cabrera, 1994).

La producción agropecuaria se basa en un sistema silvopastoril con aprovechamiento del bosque nativo para obtención de leña, carbón, madera y ganadería extensiva de vacunos y caprinos (Rossi, 2003). El pastizal natural es el principal recurso forrajero para el ganado, el que es complementado por el ramoneo de diferentes especies leñosas y subleñosas durante casi todo el año (Miñón *et al.*, 1991; Aguirre *et al.*, 1993; Martín *et al.*, 1993).

En el Chaco árido, el mayor porcentaje de ramoneo en la dieta de los rumiantes se produce durante la estación seca, que se presenta durante el otoño e invierno en esta región. Este ramoneo es la forma en que los animales mejoran la ingesta de proteína debido a que los pastos en esta etapa del año tienen su menor calidad con niveles de proteína inferiores al 3% (Baumer, 2000; Pisani *et al.*, 2000).

En la bibliografía se encuentran diferentes trabajos sobre composición química y valor nutritivo de Poaceas nativas y cultivadas de la región, pero existe una vacante de información científica en lo que respecta a las especies de ramoneo, a pesar de su comprobada importancia en la dieta de caprinos y bovinos (Dalmasso *et al.*, 1995; Burghi *et al.*, 2002).

El objetivo central del presente trabajo fue determinar la composición química, el contenido de polifenoles totales y el valor nutritivo del follaje de las principales especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del área del estudio

El estudio se realizó en la provincia de La Rioja, en el noroeste de Argentina, en la región denominada Los Llanos. Los muestreos se realizaron en diferentes potreros de la Estación Experimental Agropecuaria "Juan C. Vera" del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, distantes aproximadamente a 21 km. al sur de la ciudad de Chamental (30°21'34.90" S y 66°18'51.73" O) y en campos aledaños a la misma. El área de estudio fue seleccionada porque presenta condiciones típicas de bosque xerofítico, representativo de la vegetación de la región del Chaco árido.

Especies estudiadas

Para la selección de las especies se realizó una revisión bibliográfica sobre preferencia y consumo de caprinos y vacunos en esta región. Se siguió el criterio de considerar abundancia y grado de utilización de los herbívoros, en particular de caprinos, que son los más ramoneadores (Nicosia *et al.*, 1993, 1995;

Martín, 1994; Dayenoff *et al.*, 1996; Pisani *et al.*, 1999, 2000).

El resultado fue la conformación de tres grupos de plantas:

1.- Especies abundante y de baja utilización: *Aspidosperma quebracho-blanco*, *Larrea divaricata* (jarilla) y *Larrea cuneifolia* (jarilla norte-sur).

2.- Especies abundantes y de media a alta utilización: *Prosopis flexuosa* (algarrobo negro) y *Mimozyanthus carinatus* (lata).

3.- Especies de abundancia media a baja y utilización media a alta: *Prosopis torquata* (tintitaco), *Acacia aroma* (tusca), *Celtis pallida* (tala), *Bulnesia foliosa* (jarilla negra o bulnesia) y *Lippia turbinata* (burro o poleo).

Época y recolección de muestras

La recolección de muestras para las determinaciones de la composición química, contenido de polifenoles totales (CPT) y valor nutritivo (VN) se efectuó durante la estación seca, en los meses de mayo y junio, que se corresponde en esta región con finales de otoño e inicio del invierno. Se eligió este momento del año para efectuar la recolección de muestras dado que durante este período seco es cuando el ramoneo (particularmente en las cabras) tiene mayor importancia por el aporte estratégico de nutrientes a la dieta.

Para el muestreo se eligieron treinta y cinco plantas al azar de cada especie de diferentes edades, recolectándose 35 muestras de hojas frescas abarcando un rango desde el nivel del suelo hasta una altura de hasta 2 m, compatible con las posibilidades de ramoneo por parte de los animales. El peso promedio de cada muestra fue de aproximadamente 300 g de materia verde.

Preparación de las muestras

El material obtenido en el muestreo fue inmediatamente colocado en una estufa de aire forzado a 60°C y deshidratado hasta obtenerse materia seca (MS) a peso constante. Cada muestra fue molida en un molino de cuchillas y pasado por un tamiz de malla de 2 mm. Posteriormente, el material de cada especie fue subdividido en tres submuestras para someterlo a tres tipos de análisis:

Submuestra A: Determinaciones de proteína bruta (PB), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA).

Submuestra B: Determinación del contenido de polifenoles totales (CPT).

Submuestra C: Determinaciones de degradabilidad *in situ* de la MS (DIS MS) y degradabilidad *in situ* de la PB (DIS PB) a las 24 y 48 h.

Metodología de análisis de laboratorio

Determinaciones de proteína bruta

Se emplearon los procedimientos clásicos según la metodología Kjeldahl. Se calculó el porcentaje de la PB como el contenido de Nitrógeno de la muestra multiplicado por 6,25 (AOAC, 1984).

Determinación de fibra detergente neutra y fibra detergente ácida

La técnica aplicada se basó en la metodología propuesta por Van Soest *et al.* (1991) en base al uso de detergentes utilizándose para el trabajo un analizador semiautomático Ankom. La digestibilidad *in vitro* de la MS (DIV MS) se estimó en función de la FDA según la fórmula propuesta por Ustarroz *et al.* (1997): Digestibilidad estimada (%) = 88,9 - (0,779 * FDA)

En el presente trabajo se respetó el criterio de incluir en la muestra las hojas con el pecíolo y las ramitas tiernas, tratando de respetar la integridad del material vegetal tal cual lo consumen los animales.

Determinación del contenido de polifenoles totales

Se siguió el procedimiento denominado como método standard de cuantificación en base al uso del reactivo de Folin-Ciocalteu y la calibración de las muestras patrones en el espectrofotómetro con ácido tánico. La lectura de los preparados se realizó con un espectrofotómetro Shimadzu UV-visible de rango 200-800 nm (Makkar y Becker, 1994).

Determinación de la degradabilidad *in situ* de la materia seca (DIS MS)

Se siguió la metodología propuesta por Ørskov y Mc Donald (1979), empleándose para la incubación dos novillos de raza Holando Argentino con fístula ruminal permanente, de 3 años de edad y con un peso vivo de 530 y 550 kg, cada uno. En los 20 días previos y durante todo el tiempo que llevó el estudio, los novillos accedieron libremente a agua de bebida

limpia y fresca y fueron alimentados con heno de alfalfa de alta calidad (MS 84%; PB 20,5%; FDN 56,8%).

Cada muestra de MS se subdividió en dos submuestras para obtener datos de desaparición de la MS en dos lapsos de incubación: 24 y 48 h. Las submuestras se colocaron duplicadas (una repetición) en bolsas de dacron (nylon) de 7,6 cm por 10,5 cm, con poros de 50 μ m y se introdujeron todas en forma conjunta en el rumen de los novillos fistulados para su incubación. Las bolsas, una vez retiradas de los animales, fueron lavadas en agua fría y luego enjuagadas en agua destilada. Posteriormente fueron secadas en estufa a 60°C durante 48 h y finalmente pesadas. El valor de la DIS MS resultante de la incubación se estimó por la siguiente ecuación: DIS MS (%) = [(PI - PF) / PF] * 100, donde PI es el peso inicial y PF el peso final.

Determinación de la degradabilidad *in situ* de la PB (DIS PB)

Este parámetro se obtuvo por diferencia entre la PB inicial en la MS del forraje y la PB remanente en el residuo post degradabilidad *in situ* a 24 y 48 h.

Análisis estadístico de los resultados

Para los datos obtenidos en los procedimientos analíticos de composición química se aplicaron diferentes análisis estadísticos empleando el software SAS (SAS, 2004) para establecer la existencia de diferencias significativas entre las especies y correlaciones entre los factores analizados.

Para PB, FDN, digestibilidad estimada en base a FDA, DIS MS, DIS PB y CPT se utilizó el test de Dunn. A causa de la falta de homogeneidad de las varianzas en el análisis de PB, el análisis estadístico del test de Duncan se realizó sobre la variable transformada en -1/ PB. Para el análisis de FDA se aplicó el test de Dunn en base a los rangos medios.

Para analizar la correlación entre la DIS MS y CPT y la DIS PB y CPT se aplicó el Coeficiente de Correlación de Pearson.

RESULTADOS Y DISCUSION

Proteína bruta

Los resultados de PB en las leñosas estudiadas resultaron promisorios ya que los valores más bajos superaron el 10%. Se observaron diferencias

estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las especies. *M. carinatus* con 19,4% resultó la especie con el valor más alto de PB y *A. quebracho-blanco* con 10,2% con el menor valor (Cuadro 1).

El contenido de PB en la dieta es, tal vez, uno de los mayores problemas que presenta el forraje en esta región árida durante el periodo de estación seca, que se corresponde con el otoño e invierno. El pastizal del bosque xerofítico en ese periodo del año se encuentra completamente seco ya que las bajas temperaturas y la sequía estacional ponen fin al ciclo de crecimiento de los pastos. La biomasa forrajera en pie se torna senescente y pierde calidad rápidamente, aumentando la proporción de fibra y disminuyendo los contenidos de energía y PB.

De León (1995), analizando gramíneas diferidas consideradas buenas forrajeras para la región, determinó valores de PB que oscilan entre un mínimo de 4,3% para *Cenchrus ciliaris* (Buffel grass), una poacea exótica muy utilizada en la región y un valor máximo de 5,4% para *Pappophorum caespitosum*, una especie nativa. En función de esta comparación los valores obtenidos para las leñosas estudiadas deben considerarse como buenos, ya que todos los resultados superan el 10%.

Para reafirmar esto, podemos comparar los valores de PB de estas especies de ramoneo con los de forrajeras templadas de muy buena calidad utilizadas en pasturas de la región pampeana y en la misma época (invierno). A modo de ejemplo podemos citar resultados mencionados por Guaita y Fernández (2005) para pasturas compuestas de alfalfa (*Medicago sativa*), cebadilla (*Bromus catharticus*) y pasto ovilla (*Dactylis glomerata*) que presentó 18,6% de PB y otra mezcla de alfalfa y festuca (*Festuca arundinacea*) con 15,3% de PB.

Los contenidos de PB de las plantas de ramoneo estudiadas resultan estratégicos en este periodo del año. Mediante el ramoneo de los árboles y arbustos, los animales obtienen mayores niveles de proteína y energía en la dieta y así compensan la baja calidad que les ofrece el pastizal diferido en este periodo seco (Balmaceda y Digiuni, 1983; Miñón *et al.*, 1991; Pisani *et al.*, 2000).

Smetham (1977) y Minson (1982, 1990) hacen referencia a la situación crítica que afecta a los rumiantes cuando las dietas presentan contenidos de

Cuadro 1. Contenidos de proteína cruda (PB), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), digestibilidad estimada en base a la FDA (DE), degradabilidad *in situ* (DIS) de MS y PB y contenido de polifenoles totales (CPT) en diez especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino.

Especie	Follaje†	PB	FDN	FDA	DE	DIS MS		DIS PB		CPT
						24	48	24	48	
		----- % -----				----- h -----				%
<i>C. pallida</i>	C	16,14b‡	29,28cd	21,17bc	72,40	72,10b	74,52b	82,37b	84,15b	1,23f
<i>B. foliosa</i>	C	16,12b	17,97f	13,79c	78,15	86,67a	87,22a	91,68a	91,34a	4,73d
<i>P. flexuosa</i>	C	17,98ab	44,32a	33,85abc	62,53	53,76c	56,99cd	71,20c	71,83c	5,76d
<i>P. torquata</i>	C	17,05ab	36,36b	33,39abc	62,88	44,17d	52,52d	38,32e	55,79d	5,86d
<i>L. turbinata</i>	C	16,68b	36,24b	39,70ab	55,17	59,29c	60,67c	68,84c	66,91c	6,02d
<i>M. carinatus</i>	C	19,42a	31,99bc	27,77abc	67,27	44,47d	53,37d	38,62e	53,67d	10,20c
<i>A. quebracho-blanco</i>	P	10,16c	42,28a	34,37abc	62,12	53,86c	54,38d	79,90b	80,34b	3,44e
<i>A. aroma</i>	C	16,22b	46,69a	41,23a	56,77	27,09e	27,77e	18,38f	16,84e	3,58e
<i>L. divaricata</i>	P	15,63b	24,16de	20,76bc	72,72	67,86b	75,95b	68,85c	81,86b	14,44b
<i>L. cuneifolia</i>	P	17,10ab	22,63ef	18,30bc	74,64	57,98c	71,86b	52,32d	73,32c	24,33a

† C: Caducifolio, P: Perennifolio.

‡ Letras iguales en la misma columna no difieren significativamente ($P < 0,05$).

PB menores a 7%. En tales casos se considera que el N dietario pasa a ser un factor limitante que afecta el consumo voluntario, aumenta el tiempo de la tasa de pasaje y retarda los procesos digestivos en general.

Acorde a los resultados obtenidos, se puede reafirmar la importancia que adquiere mantener la estructura leñosa en esta región utilizando el sistema silvopastoril de producción, por el importante aporte en calidad de forraje con que contribuyen las leñosas a la dieta de los herbívoros.

Fibra detergente neutro

Los valores de FDN obtenidos se distribuyeron de acuerdo con las especies que no presentaron diferencias significativas entre sí. Un primer grupo está integrado por *A. aroma* (46,7%), *P. flexuosa* (44,3%) y *A. quebracho-blanco* (42,3%) que resultaron con los valores de FDN más elevados. El siguiente grupo estuvo formado por *P. torquata* (36,4%) y *L. turbinata* (36,2%). Por su parte, *B. foliosa* resultó la especie cuyo follaje presentó el valor menor de FDN con 17,9%.

El FDN es un indicador que se correlaciona inversamente con el consumo voluntario (Galli, 1997, Ustarroz *et al.*, 1997). De acuerdo con Mertens (1983),

el consumo voluntario de un rumiante está limitado al 1,1% +/- 0,1 de su peso vivo expresado en FDN.

Gonda (1992) reporta que elevados porcentajes de FDN, como los obtenidos en el primer grupo, pueden afectar la ingesta voluntaria induciendo la regulación de la misma por mecanismos de control físico. Los valores de FDN obtenidos para las leñosas estudiadas deben ser considerados como buenos, en comparación con los porcentajes que registran las especies del pastizal de la región en el mismo período. Al respecto, Burghi (2002) analizó FDN en diez pastos nativos (Poaceas C4) del Chaco árido, obteniendo promedios que oscilaron entre 84,5% para *Aristida mendocina* y 69,1% para *Papopphorum philippianum*. Acorde a estos resultados, todas las especies de ramoneo estudiadas mostraron valores de FDN inferiores a los de los pastos, siendo esto un indicador favorable desde el punto de vista de las cualidades forrajeras de estas leñosas.

Fibra detergente ácido

Los valores de FDA presentaron un gradiente que ubica a *B. foliosa* con el menor valor (13,8%) y en el otro extremo, *A. aroma* (41,2%) resultó con el mayor valor. Las restantes ocho especies obtuvieron valores intermedios que oscilaron entre 18,3 y 39,7%.

A modo referencial, Ferrando *et al.* (1997) reportaron datos de FDA en el mismo período del año con 33, 31 y 23,8% para *A. aroma*, *P. flexuosa* y *B. foliosa*, respectivamente. Solamente *P. flexuosa* resultó con un promedio similar (33,9%).

Si comparamos los resultados de FDA del Cuadro 1 con los reportados por Burghi *et al.* (2002) para Poaceas (C4) de la región en la misma época, observamos que los pastos registran valores ampliamente superiores a los de las leñosas estudiadas. Estos autores obtuvieron un rango con un mínimo para *Chloris ciliata* (46,3%) y un máximo para *Gouinia paraguayensis* (51,3%).

Los mayores porcentajes de FDA inciden en forma directa sobre la degradabilidad a nivel ruminal (mayor contenido de componentes estructurales poco digestibles). El ramoneo en el período seco también mejoraría parcialmente la calidad de la dieta bajando la proporción de fibra de la misma si lo comparamos con una dieta solo de pastos y sin ramoneo.

Contenido de polifenoles totales

El interés de analizar el CPT tuvo como finalidad evaluar si se encontraba alguna relación entre estos compuestos y los resultados de degradabilidad *in situ* de la MS y de la PB, teniendo en cuenta que se presume que una importante proporción de los CPT se corresponde con taninos (Carulla y Lascano, 1994). Diversos estudios demostraron que los polifenoles con capacidad de formar complejos con las proteínas se encuentran presentes en el 80% de las dicotiledóneas arbóreas (Muller-Harvey y McAllan, 1992).

Los resultados mostraron diferencias significativas entre las especies estudiadas. *L. cuneifolia* resultó la especie que registró mayor valor de CPT con 24,3%, seguida por *L. divaricata* con 14,4% y *M. carinatus* con 10,2%. Estos altos porcentajes encontrados en las dos *Larrea* spp., son concordantes con resultados similares encontrados en la bibliografía para este género, como reportado por Rhoades (1977) para *Larrea tridentata* con un promedio de 26%.

Otros estudios sobre el género *Larrea* mencionan que esta especie tiene una deposición resinosa sobre la superficie foliar que puede llegar a constituir aproximadamente un 14% del peso total de la hoja. De ese 14% del peso del follaje, un 80% son considerados taninos (Mabry *et al.*, 1977). De acuerdo a la literatura consultada, los valores de las dos *Larrea* spp. y de *M. carinatus* deben ser considerados

como potencialmente negativos para las cualidades forrajeras de estas especies. Al respecto, Minson (1990), Fischer *et al.* (1995) y Simón Guelmes (1998) reportan que los forrajes con contenido de taninos superior al seis por ciento pueden ver reducida la digestibilidad ruminal de la PB y también deprimir el consumo voluntario.

Esta alta proporción de CPT en el follaje de las *Larrea* spp. estudiadas podría explicar en gran parte la baja preferencia animal que presentan, si consideramos que en este género la bibliografía documenta que un alto porcentaje de CPT son taninos (Mabry *et al.*, 1977).

Por otra parte, *L. turbinata*, *P. torquata*, *P. flexuosa* y *B. foliosa* mostraron porcentajes intermedios que oscilaron entre 6,0 y 4,7% que no difirieron significativamente entre sí. Finalmente, *A. quebracho-blanco* con 3,4%, *A. aroma* con 3,6% y *C. pallida* con 1,2% resultaron las de menores porcentaje de CPT y con diferencias estadísticamente significativas entre las dos primeras y la última. Estos bajos porcentajes de (2 a 3%) que presentan *A. quebracho-blanco*, *A. aroma* y *C. pallida* pueden generar algunos efectos beneficiosos sobre la producción de los rumiantes (Ibrahim *et al.*, 2003). Otras referencias sobre el tema reportan que se ha observado un incremento de la proteína by-pass que llega al duodeno cuando los animales consumen dietas bajas en taninos, aunque también se advierte en esos trabajos que puedan verse afectados los procesos de consumo voluntario y la digestión (Waghorn *et al.*, 1990; Carulla y Lascano, 1994; Kugler, 1994; Montossi, 1996).

También en este sentido, Waghorn *et al.* (1990) y Montossi (1996) en ensayos comparativos de dietas con y sin taninos registraron incrementos entre 10 y 15% en la producción de carne, leche y lana, con relación a las dietas testigos sin taninos.

Respecto al consumo de especies con polifenoles, se observa que a pesar de la presencia de altos porcentajes de CPT que presentan, por ejemplo las jarillas (*Larrea* spp.), los animales igual la consumen en una mínima proporción. La explicación a esto es que una dieta variada, integrada por especies diversas con plantas que poseen una gran variedad de concentración de toxinas y nutrientes, les permitiría a los animales cubrir mejor los requerimientos nutricionales y disminuir los efectos adversos de los polifenoles y toxinas. (Distel y Villalba, 2007).

Degradabilidad estimada en base a FDA

Los resultados obtenidos presentan la misma gradualidad que los resultados de FDA. *C. pallida* y *L. turbinata* registraron valores similares a los obtenidos para degradabilidad *in situ* a 24 h, mientras que en el resto de las especies los valores difieren notablemente.

Es probable que la fórmula utilizada no sea muy adecuada para estimar digestibilidad en hojas de leñosas, ya que ha sido desarrollada y aplicada para evaluar granos y leguminosas forrajeras como alfalfa.

Degradabilidad *in situ* de la MS

Los resultados de DIS MS mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las especies para el lapso de 24 h, observándose cinco agrupamientos. *B. foliosa* (86,7%) resultó la de mayor porcentaje de desaparición de MS. El siguiente grupo se conformó con *C. pallida* (72,1%) y *L. divaricata* (67,9%). El tercer grupo quedó conformado por *L. cuneifolia*, *L. turbinata*, *A. quebracho-blanco* y *P. flexuosa* con un rango entre 57,9% para la primera y 53,8% para la última. El cuarto grupo correspondió a *M. carinatus* (44,5%) y *P. torquata* (44,2%) y finalmente *A. aroma* resultó la de menor degradabilidad con 27,1%.

Para el lapso de 48 h también se encontraron diferencias significativas y las especies se agruparon en forma similar a lo obtenido para 24 h. *B. foliosa* resultó con 87,2% de promedio de desaparición de la MS. En el segundo grupo lo integran *L. divaricata* (75,9%), *L. cuneifolia* (71,9%) y *C. pallida* (74,5%). Por su parte, *L. turbinata* (60,7%) y *P. flexuosa* (56,9%) conforman el tercer agrupamiento. El cuarto agrupamiento lo integran *A. quebracho-blanco* (54,4%), *M. carinatus* (53,4%) y *P. torquata* (52,5%). Finalmente, *A. aroma* (27,8%) que casi no varió su valor para 24 h, resultó la especie con el menor porcentaje en términos absolutos.

En la bibliografía consultada sobre referencias de valores de degradabilidad *in situ* de la MS para las especies estudiadas casi no se encontraron referencias. Solo hay una presentación parcial reportada por Ferrando *et al.* (1997), para tres especies, pero en un lapso de 72 h: *A. aroma* (40,9%) *P. flexuosa* (66,2%) y *B. foliosa* (78,8%). Si bien los valores absolutos difieren con los del presente trabajo, mantienen el mismo gradiente de orden entre las tres especies.

Se debe considerar que es solo un dato referencial ya que Ferrando (1997) utilizó un lapso mayor de incubación.

Los resultados obtenidos para *B. foliosa*, *L. divaricata*, *L. cuneifolia*, *C. pallida* y *L. turbinata* son comparables a los valores que presentan algunas de las mejores pasturas templadas de la región pampeana en la misma época. Al respecto, Guaita y Fernández (2005) reportan resultados obtenidos para pasturas mixtas de alfalfa, cebadilla (*B. catharticus*) y pasto ovilla (*D. glomerata*) con un 63,4%; de alfalfa y festuca (*F. arundinacea*) con 57,8% y de rye grass (*Lolium multiflorum*) y trébol blanco (*Trifolium repens*) con 73,8%.

Degradabilidad *in situ* de la PB

Los resultados de DIS PB mostraron amplias diferencias significativas entre las especies analizadas. Para la mayoría de las especies, *B. foliosa*, *C. pallida*, *L. divaricata*, *A. quebracho-blanco*, *L. cuneifolia* y *P. flexuosa*, los valores de degradabilidad superaron el 70%. *B. foliosa* resultó la especie con mayor degradabilidad de PB para ambos lapsos, seguida por *C. pallida* y *A. quebracho-blanco*. En el otro extremo se ubicó *Acacia* que presentó el menor valor para ambos lapsos.

Los valores de degradabilidad de PB obtenidos para *L. divaricata* y *L. cuneifolia* y para *P. flexuosa* fueron elevados y no se observó una interacción manifiesta por parte de los polifenoles totales que afectara la degradabilidad de la proteína como indica la bibliografía (Makkar, 1989; Minson, 1990; Carulla y Lascano, 1994; Ramos *et al.*, 1998).

Relación entre la degradabilidad *in situ* de la MS y el CPT

Con la finalidad de detectar la existencia de relación entre los valores de DIS MS y el CPT de las mismas muestras, se realizó el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson cuyo resultado se observa en la Cuadro 2. El análisis estadístico no mostró correlación significativa. Esta falta de correlación también ha sido reportada por otros autores; Carulla y Lascano (1994) y Kugler (1994), en estudios similares utilizando la técnica *in situ*, han encontrado también falta de correlación entre el nivel de CPT y la DIS MS. Una explicación a esta falta de correlación podría deberse a que existe una gran variación entre

Cuadro 2. Correlación entre la DIS MS y PB con el CPT a las 24 y 48 horas en hojas de leñosas en base al coeficiente de correlación de Pearson, Valor de P entre paréntesis.

Variables	Degradabilidad MS		Degradabilidad PB	
	24	48	24	48
	----- h -----		----- h -----	
CPT, %	0,043 (0,76)	0,268 (0,062)	-0,1758 (0,227)	0,1150 (0,431)

las estructuras químicas y pesos moleculares de los polifenoles en general, no habiéndose cuantificado en este trabajo taninos en forma específica. En este sentido dentro de los compuestos polifenólicos pueden encontrarse otros compuestos, además de los taninos, que pueden favorecer los procesos de degradación de la MS.

Relación entre la degradabilidad de la PB y el CPT

En base a los resultados obtenidos se evaluó estadísticamente la posible correlación entre el CPT y la DIS PB con la finalidad de comprobar la existencia de asociación entre las variables. Se aplicó el test de correlación de Pearson, cuyos resultados se observan en el Cuadro 2.

Los resultados indican que no se detectaron correlaciones estadísticamente significativas entre las variables analizadas. Los mayores CPT en las muestras no afectaron directamente la DIS PB como era de esperarse de acuerdo a la bibliografía (Makkar, 1989; Minson, 1990; Ramos *et al.*, 1998). Esta falta de relación podría ser explicada inicialmente debido a que la técnica de laboratorio utilizada en este trabajo, en base al uso del reactivo de Folin-Ciocalteu, no es una técnica específica para detectar taninos.

Sin embargo, Reed (1995) afirma que algunos métodos de laboratorio para la determinación de CPT como taninos pueden generar resultados muy variables. En este mismo sentido, Makkar y Becker (1994) encontraron que si bien la técnica usando el reactivo de Folin-Ciocalteu y AT es la más ampliamente usada en este tipo de investigaciones, la misma puede tener variaciones de hasta un 20% en los resultados de acuerdo al origen comercial del AT empleado.

Otro aspecto que se debe discutir también es la naturaleza de los polifenoles presentes en las plantas, no solo su contenido. Al respecto, hay ciertos tipos de

polifenoles que reaccionan positivamente al método de análisis, pero sus propiedades químicas no precipitan proteínas. Los compuestos polifenólicos, incluidos los taninos, tienen una gran variación en su peso molecular, oscilando entre 1.850 y 154.000 (Williams *et al.*, 1983). Se considera que los polifenoles de alto peso molecular son deficientes en formar enlaces estables con las proteínas, mientras que en el otro extremo los de bajo peso molecular forman enlaces poco estables con las proteínas. Son los polifenoles de peso molecular intermedio los que poseen la mayor capacidad de ligar y precipitar proteínas (Carulla y Lascano, 1994).

Finalmente, un aspecto que merece también discutirse es la técnica *in situ* utilizadas en este trabajo. Es probable que al analizar pequeñas muestras de forraje (2 g) y no raciones completas similares a la de los animales en ramoneo, no se pueda visualizar la real influencia del CPT sobre la DIS MS y DIS PB, ya que las cantidades de polifenoles, en particular taninos, son realmente insignificantes en términos absolutos y difícilmente puedan ejercer alguna influencia que afecte el ambiente ruminal y los procesos digestivos.

CONCLUSIONES

Las especies *C. pallida* y *B. foliosa* resultaron con las mejores características nutricionales en conjunto, dado sus elevados contenidos de PB, bajos porcentajes de FDN y FDA, altos valores de DIS MS y DIS PB y baja presencia de CPT. *L. turbinata* y *P. flexuosa* se ubicaron en un segundo nivel por sus cualidades forrajeras, a pesar de tener altos contenidos de PB, debido a que registran elevados valores de FDN, FDA y CPT con menores niveles de degradabilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a las siguientes personas que colaboraron en distintas etapas durante el desarrollo del presente trabajo: Lic. Daniel Leguiza,

Ing. Agr. Eduardo Aguirre, Ing. Agr. Carlos Ferrando, Lic. Héctor Lacarra, Ing. Agr. María A. Brunetti, Sr. Roberto Breglia y Sr. Juan C. Amendolara.

LITERATURA CITADA

- Aguirre E., P. Dayenoff y H. Carrizo. 1993. Composición botánica de la dieta caprina en pastoreo. Serie Publicación de Investigación. E.E.A. INTA La Rioja, Argentina.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 14^a. ed. Washington, D.C.
- Balmaceda N.A. y J.N.P. de Digiuni. 1983. Estimación de la dieta de vacunos, ovinos, caprinos y guanacos en zona de monte por el método micro histológico. *Rev. Arg. Prod. Animal*, (10): 265-272.
- Baumer M. 2000. Trees as Browse and to Support Animal Production. FAO Animal Production and Health Paper No. 102. FAO. Roma.
- Broderick G.A y K.A. Albretch. 1997. Ruminant *in vitro* degradation of protein in tannin-free and tannin-containing forage legume species. *Crop Sci.*, 37: 1884-1891.
- Burghi V., L. Blanco, C. Ferrando, E. Oriente y F. Biurrun. 2002. Parámetros nutritivos de gramíneas nativas de la subregión de los médanos y afloramiento de cerrillos en el Chaco Árido riojano: Invierno y Primavera 1997. Resúmenes de Trabajos de Investigación 1997-2002. Áreas de Recursos Naturales, Recursos Forrajeros y Producción Bovina. Publicación de la EEA INTA La Rioja, Centro Regional Cuyo, Argentina.
- Cabrera A.L. 1994. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Tomo II: Regiones Fitogeográficas Argentinas. Editorial ACME S.A.C.I., Buenos Aires, Argentina.
- Carulla J. y C. Lascano. 1994. Presencia de polifenoles totales en las especies forrajeras: Implicancias alimenticias. Memorias I Seminario sobre Agroforestería, Santafé Bogotá, Colombia.
- Dalmasso A. J. Silva Colomer, A.M. Diblasi y O. Borsetto. 1995. Dieta del caprino en el piedemonte de los Andes, Mendoza, Argentina. *Revista Multequina*, 4: 17-28.
- Dayenoff P., E. Aguirre y M. Bolaño. 1996. Dinámica de la vegetación del Chaco árido bajo pastoreo caprino controlado. Trabajos Área Producción Caprina, 1986-1996. INTA EEA La Rioja, U. N. de La Rioja, Chamental, Argentina.
- De León M., N. Boetto, R.A. Peuser, M.C. Bulasechevich y C. Luna. 1995. Efecto de la época de diferimiento sobre la producción total. Disponibilidad invernal y calidad forrajera de gramíneas subtropicales. Memorias XIV Reunión ALPA, Mar del Plata, Argentina.
- Distel R.A. y J.J. Villalba. 2007. Diversidad vegetal, selección de dieta y producción animal. *Rev. Arg. Prod. Animal*, 27: 55-63.
- Ferrando C., F. Biurrun, L. Blanco, E. Oriente, V. Burghi y D. Cabral. 1997. Parámetros nutritivos de latifoliadas nativas del Chaco Árido: Otoño, Invierno y Primavera 1997. EEA INTA-La Rioja, Informe Anual Proyecto Regional 430325. Argentina.
- Fischer D.S., J.C. Burns y J.E. Moore. 1995. The Nutritive Evaluation of Forage. An Introduction to Grassland Agriculture. Iowa State University Press, Ames, IO.
- Galli J.R. 1997. Las pasturas como fuente de alimentación de rumiantes. Producción Animal en pastoreo. Edit. Cangiano – EEA INTA Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
- Gonda H.L., G.H. Rearte, P.T. García, M. Gallardo, F.J. Santini y A.D. Garcarena. 1992. Efecto de la madurez de la pastura sobre el consumo de forraje y la producción y composición de la leche. *Rev. Arg. Prod. Animal*, 13(3): 223-234.
- Guaita M.S. y H.H. Fernández.. 2005. Tabla de Composición Química de Alimentos para Rumiantes. Área de Investigación en Producción Animal, INTA EEA Balcarce, CERBAS, Buenos Aires, Argentina.
- Ibrahim M., L. tMannetje y S. Ospina. 2003. Prospects and Problems in the Utilization of Tropical Herbaceous and Woody Leguminous Forage. Matching Herbivore Nutrition to Ecosystems Biodiversity. VI International Symposium on

- the Nutrition of Herbivores. L. t Mannelje, L. Ramirez Avilés, C. Sandoval-Castro y J.C. Ku-Vera (Eds). Mérida, México.
- Kugler N.M. 1994. Efecto del agregado de taninos de quebracho (*Schinopsis* sp.) sobre la eficiencia digestiva en bovinos alimentados con forraje fresco en base a alfalfa (*Medicago sativa*). Tesis de M. Sc., Escuela para Graduados Univ. Nac. Mar del Plata, EEA INTA Balcarce, Argentina.
- Mabry T.J., D.R. Di Feo Jr., M. Sakakibara, C.F. Bohnstedt Jr. y D. Seigler. 1977. The natural products chemistry of larrea. creosote bush: *En* Mabry T.J., J.H. Hunziker y D.R. Di Feo (Eds). *Biology and Chemistry of Larrea in New World Deserts*. Hutchinson and Ross, Strudberg, PA pp. 115-134.
- Makkar H.P.S. 1989. Protein precipitation methods for quantitation of tannins: A review. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 1197-1202.
- Makkar H.P.S. y K. Becker. 1994. Some problems in the determination of tannins and possible solutions. *Acta Hori.*, 381: 782-788.
- Martín G.O. (h), E.D. Lagomarsino e I. Cano Grill. 1993. Composición botánica de la dieta de bovinos criollos en un pastizal del Chaco semiárido en Tucumán. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 13(1): 38-45.
- Martín G.O. (h). 1994. Hábitos de consumo y manejo de los recursos forrajeros naturales en la zona de Vinara, Santiago del Estero. Curso-Taller "Alimentación del Ganado Caprino" UIC-FAZ, Catamarca, Argentina.
- Mertens D.R. 1983. Using neutral detergent fiber to formulate dairy rations and estimate the net energy content of forages. *Proc. Cornell Nutrition Conference*. Ithaca, NY.
- Minson J.D. 1982. Effects of chemical and physical composition of herbage eaten upon intake. *En* Hacker J.B. (Ed.) *Nutritional Limits to Animal Production in Pastures*. Commonwealth Agricultural Bureau, Farham Royal, Inglaterra
- Minson J.D. 1990. Protein in Ruminant Nutrition, Protein, Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press, San Diego, CA.
- Miñón D.P., A. Fumagalli y A. Auslender. 1991. Hábitos alimentarios de vacunos y caprinos en un bosque de la región Chaqueña semiárida. *Rev. Arg. Prod. Animal*, 11(3): 275-283.
- Montossi F. 1996. El Valor Nutricional de los Taninos Condensados en el Género *Lotus*. Producción y Manejo de Pasturas, INIA, Serie Técnica 80. Tacuarembó, Uruguay
- Morello J., L.A. Sancholuz y C.A. Blanco. 1977. Estudio macroecológico de los llanos de La Rioja. *Revista IDIA, Supl.* 34: 242-248.
- Muller-Harvey I. y A.B. McAllan. 1992. Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotec.*, 1: 151-217.
- Nicosia M., G.O. Martín y F.D. Lagomarsino. 1993. Valor nutritivo de hojas de arbustos y arboles nativos del noroeste Argentino. *Rev. Arg. Prod. Animal*, 13(1): 42-43.
- Nicosia M., H.O. Martín y E.D. Lagomarsino. 1995. Composición química y digestibilidad en hojas de leñosas nativas del Chaco semiárido del NOA. *Memorias XIV Reunión ALPA Mar del Plata, Argentina*.
- Ørskov E.R. e I. Mc Donald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.*, 92: 499-503.
- Pisani J. M., R.A. Distel, F.E. Bontti, O.E. Fernandez, E. Eldridge y D. Freudenberger. 1999. Goat preference for *Prosopis caldenia* and *Prosopis flexuosa* in rangelands of central Argentina. *Proceedings VI International Rangeland Congress, Townsville, Queensland, Australia*.
- Pisani J.M., R.A. Distel y E.E. Bontti. 2000. Diet selection by goats on a semi-arid shrubland in central Argentina. *Rev. Ecología Austral*, 10(1): 103-108.
- Ramos G., P. Frutos, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Arch. Zootecnia*, 47: 597-620.
- Reed J.D. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Animal Sci.*, 73: 1516-1528.

- Rhoades D.F. 1977. The antiherbivore chemistry of *Larrea tridentata*: creosote bush. *En* Mabry T.J., J.H. Hunziker y D.R. Di Feo (Eds.) *Biology and Chemistry of Larrea in New World deserts*. Hutchinson and Ross, Strudenberg, PA: pp. 135-175.
- Rossi C.A. 2003. Componentes antinutricionales en especies leñosas forrajeras de los pastizales del Chaco arido Argentino. Tesis M Sc. Escuela para Graduados de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Univ. Nac. Córdoba, Argentina.
- SAS. 2004. SAS User's Guide. Ver. 8, SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Simón Guelmes L. 1998. Los Árboles en la Ganadería. Tomo 1: Silvopastoreo. Edit. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba.
- Smetham M. L. 1977. Grazing management. Pasture, and herbage quality. *En* Langer R.H.M. y A.W. Reed (Eds.) *Pastures and Pasture Plants*. Soc. Brit. Agron. Londres. Inglaterra. pp. 58-75
- Ustarroz E., N. Latimori y R. Peuser. 1997. Módulo de programación forrajera. Alimentación en bovinos para carne. 4to Curso de Capacitación para Profesionales. EEA INTA Manfredi, Pcia. de Córdoba, Argentina.
- Van Soest P.J., J.B. Robertson y B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.
- Waghorn G.C, W.T. Jones, I.D. Shelton y W.C. Mac Nabb. 1990. Condensed tannins and nutritive value of herbage. *Proc. New Zeland Grasses Assoc.*, 51: 171-176.
- Williams V.M., L.J. Porter y R.W. Hemingway. 1983. Molecular weight profile of proanthocyanidin polymers. *Phytochem.*, 22(2): 569-572.

Producción de materia seca en una asociación *Cenchrus ciliaris* – *Leucaena leucocephala* al aplazar su utilización durante la época seca

Alexander Sánchez^{1*}, Jesús Faria - Mármol² y Cesar Araque³

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Falcón. Av. Roosevelt, zona Institucional, Coro. Falcón, Venezuela. *Correo electrónico: asanchez@inia.gob.ve

² Universidad del Zulia. Postgrado en Producción Animal, Facultades de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Maracaibo, Venezuela.

³ INIA, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Lara. Barquisimeto. Lara, Venezuela.

RESUMEN

En una región semiárida del occidente de Venezuela en el estado Zulia, se estudió el efecto de cuatro períodos de aplazamiento de utilización (PAU: 42, 84, 126 y 168 días) después del primer corte sobre la acumulación de biomasa en una asociación pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*) y leucaena (*Leucaena leucocephala*), estimándose la producción de sus componentes en la gramínea (hojas, tallos y material muerto) y la leguminosa conformada por la fracción fina (hojas, pecíolos y tallos menores de 5 mm de diámetro) y la fracción gruesa (tallos mayores de 5 mm de diámetro), a través del perfil del pastizal donde se consideraron tres estratos en el pasto buffel (0-15, 15-30 y >30 cm) y en leucaena (0-60, 60-120 y >120 cm). En ambas especies, después del corte de cada PAU, las parcelas se cosecharon cada 42 días para evaluar el rebrote. El diseño experimental usado fue de bloques al azar con tres repeticiones. Se observaron rendimientos para ambas especies de 1.146 y 1.925 kg MS/ha para el pasto buffel y la leucaena, respectivamente. Solo en la leguminosa se encontraron diferencias ($P>0,05$) entre tratamientos siendo los PAU sobresalientes los de 42 y 0 días. La mayor proporción de hoja y el menor contenido de material muerto ($P<0,05$) fue en el estrato superior, mientras que en leucaena los mayores valores de fracción fina fue el perfil medio.

Palabras clave: buffel, leucaena, asociación, producción MS, aplazamiento de utilización.

Dry matter production in an association of *Cenchrus ciliaris* - *Leucaena leucocephala* subjected to a deferring use during the dry season

ABSTRACT

In a semi-arid region in western Venezuela at Zulia state, we studied the effect of four periods of deferring of use (PDU: 42, 84, 126, and 168 days) after the first cut on the accumulation of biomass in an association of buffel grass (*Cenchrus ciliaris*) and Leucaena (*Leucaena leucocephala*), estimating production of its components in the grass (leaves, stems, and dead material) and the legume fine fraction (leaves, leaf stalk, and stems with diameter less than 5 mm) and thick fraction (stems with diameter above 5 mm). Plant samples were taken at three strata for buffel (0-15, 15-30, and > 30 cm) and leucaena (0-60, 60-120, and > 120 cm). After every PDU cut, plots were harvested every 42 days to evaluate regrowth. A randomized block experimental design with three replicates was used. Results indicated yields for both species with values of 1,146 and 1,925 kg DM/ha for buffel and leucaena, respectively. There were found differences among treatments ($P>0.05$) only on the legume being the best PDU 42 and 0 days. The highest leaf proportion and the lowest dead material content ($P<0.05$) for the grass was found on the upper layer. Meanwhile, leucaena highest values of fine fraction was found on the medium layer.

Keywords: buffel, leucaena, association, MS production, deferring use.

INTRODUCCIÓN

En el trópico donde la época de sequía suele ser crítica desde el punto de vista climático y alimentario, la ganadería puede emplear diversas estrategias para mantener la oferta forrajera dentro de los parámetros normales. Una de estas estrategias consiste en aplazar el período de utilización del pasto, donde se prorroga la época de uso del mismo durante un período determinado, de manera de ser utilizado en la época seca cuando la oferta forrajera es precaria (Sánchez *et al.*, 2003).

El potencial de producción de biomasa forrajera que se puede aprovechar posterior al uso de un pastizal diferido en la época seca, se hace importante sobre todo en un pastizal asociado, ya que podría compensar el déficit forrajero de la época seca. Existen especies que implementan mecanismos de defensa como repuestas adaptativas a estímulos ambientales (Kramer, 1980), conservando por mas tiempo su producción y calidad forrajera, disminuyendo el efecto negativo de la sequía sobre la producción animal.

La respuesta de la planta a la cosecha está determinada por la cantidad y tipo de tejido removido, área foliar remanente, frecuencia de cosecha y estado fisiológico de las plantas (Bahmani *et al.*, 2000), teniendo como efecto inmediato la reducción del área foliar, y por tanto, de la cantidad de luz interceptada, de las reservas de carbohidratos y del crecimiento de la raíz (Richards, 1993). Este proceso causa cambios sustanciales en la economía del carbono y nitrógeno, en función de la proporción del área foliar removida y de la capacidad fotosintética del tejido foliar remanente (Lemaire, 2001).

En la región zuliana de Venezuela, bajo condiciones climáticas semiáridas se cuenta con dos especies forrajeras que han demostrado muy buena respuesta, en cuanto a cantidad y calidad de la materia seca (MS) producida, como lo son *Cenchrus ciliaris* (Faria - Mármol y Sánchez, 2007a) y *Leucaena leucocephala* (Faria - Mármol y Sánchez, 2007b, Faria - Mármol, 1994a). El presente estudio pretende evaluar el efecto del aplazamiento de utilización en el rendimiento de MS acumulada de la asociación *Cenchrus ciliaris* – *Leucaena leucocephala* después del primer corte en un medio semiárido.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Campo Experimental La Cañada, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, ubicado en el Municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia, localizado geográficamente a los 10° 32' N y 71° 42' O.

El área bajo estudio se encuentra en una zona climática semiárida, correspondiendo a un bosque muy seco tropical, con una temperatura media de 28°C y una evapotranspiración de 2.785 mm anuales (González *et al.*, 2003). El régimen pluviométrico de los últimos 28 años es de 600 mm/año con una distribución mensual similar a lo registrado durante la realización de ensayo, tal como se observa en la Figura 1. Los suelos en el área de estudio son de textura franco arenosa, pH 5,5 con valores de Ca, Mg, Na y K de 0,6 0,3 0,1 y 0,17 mg/100 g, respectivamente. La capacidad de intercambio catiónico (36 meq/100 g de suelo) y el P₂O₅ (6 ppm) son relativamente bajos (Faria - Mármol, 1994a).

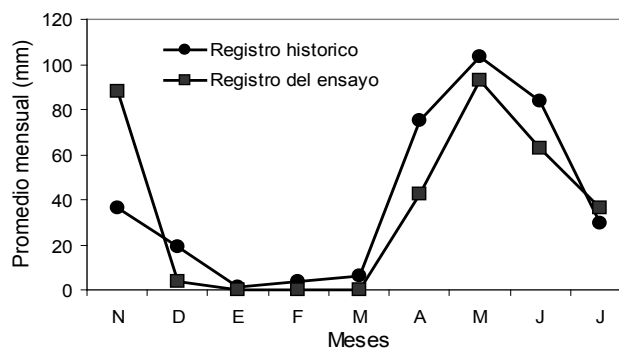


Figura 1. Precipitación promedio mensual de la zona de estudio.

Se usó un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones. El experimento fue de factor único, siendo éste el aplazamiento de la edad de utilización tomando como testigo la frecuencia de corte tradicional de la región de 42 días para ambas especies (Sánchez *et al.*, 2003), quedando conformados los siguientes tratamientos: T0=0, T1=42, T2=84 y T3=126 días de aplazamiento de utilización correspondientes a periodos de 42, 84, 126 y 168 días de crecimiento, respectivamente. Después del primer corte de cada período de aplazamiento de utilización, los tratamientos se cosecharon cada 42 días para evaluar la capacidad de producción de biomasa de las especies para cada edad de utilización estudiada como efecto residual.

Para la realización del ensayo se empleó una superficie total de 388,8 m² con una área efectiva de 259,2 m², que a su vez se subdividieron en cuatro parcelas de 21,6 m² (5,4 x 4,0 m).

La siembra de *L. leucocephala* (junio de 1995) se realizó directamente en el campo en hileras sencillas, cuya distancia de siembra fue de 1,75 m entre hileras y 0,25 m entre planta, obteniéndose una densidad de siembra de 22.857 plantas/ha. Para el caso del pasto *C. ciliaris*, la siembra se realizó con cepas de la variedad Biloela a una densidad de siembra de 25 x 25 cm. La siembra se realizó en Agosto de 1995, 45 días después de germinada la leucaena para evitar que la agresividad de la gramínea afectara el crecimiento de la leguminosa en su primera etapa de vida, caracterizada por un crecimiento lento (Faría -Mármol y Morillo, 1997).

Cinco meses después de la germinación de la leucaena y cuatro meses para *C. ciliaris* se procedió a realizar el corte de uniformidad, manejando una altura de cosecha de 60 cm para la leguminosa y 10 cm para la gramínea, de acuerdo a la experiencia de manejo con estas especies en la región (Faría - Mármol, 1994b). Las parcelas fueron sometidas a cuatro cortes sucesivos cada 42 días para ambas especies, previo al inicio de las evaluaciones pautadas a fin de acondicionar las especies al manejo recomendado en la región. A finales del período lluvioso (24 de Octubre de 1996), se iniciaron los períodos de aplazamiento en los cortes de las parcelas evaluándose la composición y producción de la biomasa aérea en cada fecha de aplazamiento de utilización.

En cada parcela experimental y en cada fecha de corte prevista, se seleccionaron al azar cuatro plantas de leucaena subdividiéndolas a través de su perfil en tres estratos que fueron: 0-60, 60-120 y mayor de 120 cm. Cada uno de los estratos se cosechó y se separó la fracción fina (hojas, pecíolos y tallos con diámetro menor de 5 mm) y la fracción gruesa (ramas y tallos con diámetro superior a 5 mm). Se determinó el peso en base seca expresado en kg MS/ha para cada fracción y para el rendimiento total de biomasa.

En el pasto buffel, se estudió el perfil de la planta en tres estratos: 0 - 15, 15 - 30 y mayor de 30 cm de altura con respecto al suelo. Se estimó el rendimiento de materia seca (kg/ha) usando un marco de 0,75 m² lanzado al azar en dos oportunidades una a cada lado de la hilera central de la parcela (Le Clerg *et al.*, 1962). La biomasa cosechada fue separada manualmente en las fracciones de hoja, tallo y material muerto, a las que se les determinó su peso en base seca y expresado en kg/ha. El rendimiento de la MS fue estimado como base del total por componente y expresado en kg/ha.

Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando el software estadístico SAS (SAS, 1999), usando el procedimiento GLM. La comparación de medias fue realizada mediante la prueba de Duncan (Steel y Torrie, 1960).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de MS acumulada en la asociación *Cenchrus ciliaris* - *Leucaena leucocephala* después del primer corte, se presenta en el Cuadro 1. En la gramínea se encontró una producción de MS acumulada estable ($P < 0,05$), a través de los diferentes PAU evaluados y fue la especie que menor contribución de MS aportó a la asociación con un promedio de 28%. En cuanto a la leguminosa, la mayor producción ($P < 0,05$) de MS acumulada se observó en los dos primeros PAU, la cual está asociada a los mayores números de cortes realizados (4 y 3, respectivamente), en el término del período de sequía. Sin embargo, dicha respuesta puede no ser sostenible en el tiempo debido a lo frecuente de sus cortes, lo que compromete la capacidad de reserva de la planta, tal como lo refieren algunos reportes (Francisco, 2004; Camacaro *et al.*, 2003; Seresinhe *et al.*, 1998; López *et al.*, 1994; Razz *et al.*, 1992). Se sugiere emplear los mejores PAU, sobre todo el de 42 días, de forma estratégica rotando parcelas diferentes en cada

Cuadro 1. Rendimiento de materia seca acumulada después del primer corte en la asociación *Cenchrus ciliaris* – *Leucaena leucocephala* sometida a cuatro periodos de aplazamiento de utilización (PAU).

PAU	<i>C. ciliaris</i>			<i>L. leucocephala</i>			Rendimiento total
	Rendimiento	Aporte‡	NC§	Rendimiento	Aporte	NC	
Días	kg /ha	%		kg /ha	%		kg/ha
0	1.337	35	2	2.531a†	65	4	3.868a
42	881	27	1	2.340a	73	3	3.221a
84	1.066	42	1	1.473b	58	2	2.539b
126	1.299	49	1	1.356b	51	1	2.655b
CV	24,7			70,7			82,2

† Promedios con letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$). CV: Coeficiente de variación.

‡ Aporte de MS al rendimiento total.

§ NC: Número de cortes.

período seco, a los efectos de evitar el desgaste de un mismo lote de plantas.

La capacidad de producción de biomasa en la época seca de ambas especies estudiadas les confiere potencial para ser empleadas con éxito bajo la modalidad de asociación en ambientes secos, ya que la gramínea no compite por el agua necesaria para la leguminosa sobrevivir (Díaz, 2001). Por otra parte, es importante resaltar la capacidad de recuperación de esta leguminosa en un sistema asociado, el cual puede llegar a cubrir el vacío en producción de materia seca, dejado por la gramínea acompañante en el período más intenso de sequía. La respuesta positiva que tiene esta leguminosa para rebrotar con vigor después de la poda en plena sequía es un reflejo de un profundo sistema radicular y de una gran cantidad de reservas de la planta (Rodríguez, 2002; Hernández *et al.*, 1987).

Distribución de la materia seca y sus componentes

En el Cuadro 2 se muestra la distribución de los componentes de la MS del pasto buffel. Esta gramínea acompañante evidenció un deterioro progresivo ($P < 0,05$) de sus valores a medida que se desciende en el perfil del pastizal con una disminución significativa de la fracción hoja y un aumento proporcional de las fracciones tallo y material muerto, característica que es común en la mayoría de los forrajes (Beltrán-López *et al.*, 2000; Alberch *et al.*, 1987). Con

respecto al comportamiento observado con el PAU, los componentes de la MS se observaron estables ($P > 0,05$) con la excepción del estrato inferior donde el contenido de hojas disminuye ($P < 0,05$) con el período de aplazamiento, mientras la tendencia del resto de los componentes es a permanecer estables.

Para el caso de leucaena, en el Cuadro 3 se muestra la distribución de los componentes de la MS en el perfil de la planta evaluados en cuatro PAU. Se puede apreciar diferencias en la producción de MS en los diferentes estratos, siendo el nivel medio el que mostró los mayores valores promedios de ambas fracciones. En el estrato superior los bajos registros encontrados en la producción de biomasa se pueden explicar, entre otros factores, por la época seca, la cual ocasionó una reducción importante en el crecimiento de la leguminosa manteniéndose estable en el tiempo, no permitiendo incrementos en la producción de MS con el aplazamiento de utilización en condiciones de déficit hídrico menos severo (Pizarro y Vera, 1990; Molina *et al.*, 1996).

Por otra parte, se puede apreciar a través del perfil de la planta una tendencia a disminuir ($P < 0,05$) los valores de la fracción fina, con un incremento en la fracción gruesa a medida que se extiende el PAU, sobre todo en los estratos superior y medio. Tal comportamiento, aun cuando tiende a desmejorar la composición de la MS por la senescencia foliar, su detrimento no es abrupto, lo que permite aprovechar

Cuadro 2. Distribución de las fracciones de la materia seca (H: hoja, T: tallo y MM: material muerto) en tres estratos (0-15, 15-30 y > 30 cm) de *C. ciliaris* asociado, sometida a cuatro periodos de aplazamiento de utilización (PAU).

PAU	0 – 15			15 – 30			> 30		
	H	T	MM	H	T	MM	H	T	MM
días	----- kg MS/ha -----								
0	149a†	254	208a	221	99	53	298	16	40
42	81b	164	81b	199	63	35	229	8	22
84	76b	178	126ab	186	97	50	317	21	15
126	80b	244	123ab	151	147	74	381	35	64
CV	67,2	102,1	106,7	66,1	85,3	90,4	56,3	52,2	83,2

† Medias con letras diferentes en la misma columna no presentan similitud estadística (P<0,05).

Cuadro 3. Distribución de las fracciones de la materia seca (FF: Fracción fina, FG: Fracción gruesa) en tres estratos (0-60, 60-120 y > 120 cm) de *L. leucocephala* asociada, sometida a cuatro periodos de aplazamiento de utilización (PAU).

PAU	0 – 60		60 – 120		> 120	
	FF	FG	FF	FG	FF	FG
días	----- kg MS/ha -----					
0	640a	48a	1.435a	408	0,0	0,0
42	417b	18b	1.278a	530	78ab	21
84	216c	16b	786 b	361	66ab	27
126	78d	13b	691 b	445	101a	27
CV	41	133	42	68	170	180

† Medias con literales diferentes en la misma columna no presentan similitud estadística (P<0,05)

la biomasa producida en la época seca por un tiempo prolongado.

En la fracción fina (hojas, pecíolos y tallos < 5 mm de Ø), se encontró interacción en el efecto de la edad de aplazamiento y perfil de la planta. En esta fracción se observa la mayor producción (P<0,05) en el estrato medio, seguido del nivel inferior. En ambas se aprecia una caída sostenida en sus valores de MS, respecto al máximo PAU evaluado (126 días) de 52 y 88 puntos

porcentuales respectivamente. Como resultado final de estos cambios, entre los estratos superior y bajo este contenido se iguala estadísticamente a los 129 días, con un promedio de 89 kg /ha.

CONCLUSIONES

Del análisis de la información generada bajo las condiciones de este ensayo se pueden derivar las siguientes conclusiones:

El rendimiento acumulado de la materia seca de la asociación y por especie fue influenciado por el período de aplazamiento de utilización.

La período de aplazamiento de utilización ocasionó en el perfil del pastizal una disminución del componente hoja, con un incremento en las fracciones de tallos y materia muerta en el pasto buffel, desmejorando la disponibilidad de la biomasa aprovechable. En la leucaena aunque la respuesta fue similar a la encontrada en la gramínea su deterioro fue menos severo, mostrando una disponibilidad de la fracción comestible siempre superior a la fracción gruesa.

De acuerdo al rendimiento de materia seca acumulada de la asociación, el período de aplazamiento más apropiado para ser empleado es el de 42 días. No obstante, se debe profundizar las investigaciones sobre el efecto de la frecuencia de corte bajo condiciones de sequía en la persistencia y producción de MS de esta leguminosa, con el propósito de precisar la pertinencia de este manejo.

LITERATURA CITADA

- Alberch K. A., W. F. Wendin y D. R. Buxton. 1987. Cell-wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves. *Crop Sci.*, 27: 735-741.
- Bahmani I., L. Hazard, C. Varlet-Grancher, M. Betin, G. Lemaire, C. Matthew y E.R. Thom. 2000. Differences in tillering of long and short leaved perennial ryegrass genetic lines under full light and shade treatments. *Crop Sci.*, 40: 1095-1102
- Beltrán-López S., J. Pérez, A. Hernández, E. García, J. Kohashi y J. Herrera. 2000. Respuesta fisiológica del pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*) a diferentes alturas de defoliación. *Agrociencia*, 36: 547-556.
- Camacaro S., N. Baute y W. Machado. 2003. Efecto de la poda y el pastoreo sobre la producción de biomasa de *Gliricidia sepium*. *Zootecnia Trop.*, 21(4): 399-412.
- Díaz M. 2001. Ecología experimental y ecofisiología: bases para el uso sostenible de los recursos naturales de las zonas áridas neo-tropicales. *Interciencia*, 26(10): 472-478.
- Faria-Mármol J. y A. Sánchez. 2007a. Efecto del aplazamiento de utilización sobre el contenido de nutrientes y digestibilidad de la materia orgánica de la asociación buffel – leucaena. *Interciencia*, 32(3): 185-187.
- Faria-Mármol J. y A. Sánchez. 2007b. Efecto del aplazamiento del uso sobre la producción de forraje, contenido de proteína bruta y digestibilidad de la asociación buffel – leucaena. XII Jornadas sobre producción animal. ITEA. Volumen extra. Tomo I. 363-365.
- Faria-Mármol J. y D. Morillo. 1997. Leucaena: Cultivo y utilización en la ganadería bovina tropical. CorpoZulia-FONAIAP-LUZ. Ediciones Astro Data. Maracaibo, Venezuela.
- Faria-Mármol J. 1994a. Evaluación de accesiones de *Leucaena* en el bosque muy seco tropical del estado Zulia, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 11(1): 43-52.
- Faria-Mármol J. 1994b. Consideraciones para la selección y manejo de especies tolerantes a la sequía. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 11: 164-173.
- Francisco A. G. 2004. Efecto de diferentes frecuencias de defoliación en la calidad de la biomasa de *Albizia lebeck*. *Pastos y Forrajes*. 27(1): 45-49.
- González I., J. Faria-Mármol, D. Morillo, O. Mavarez, N. Noguera y E. Fuenmayor. 2003. Efecto de la frecuencias de riego y corte sobre el rendimiento de materia seca en *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. *Rev. Fac. Agron. LUZ.*, 20: 364-375.
- Hernández C.A, A. Alfonso y P. Duquesne. 1987. Producción de carne basada en pastos naturales mejorados con leguminosas arbustivas y herbáceas. II. Ceba final. *Pastos y Forrajes*, 10(3): 246-255.
- Kramer P. J. 1980. Drought stress and the origin of adaptations. In Turner N.C. y P.J. Kramer (Eds). *Adaptation of Plant to Water and High Temperature Stress*. Wiley and Sons, Nueva York. pp. 7-20.
- Le Clerg E. L., M. H. Leonard y G. Clark. 1962. *Field Plot Techniques*. Minneapolis, MN: Burgess, 338-351.
- Lemaire G. 2001. *Ecophysiology of grasslands: dynamic aspects of forage plant population*

- in grazed swards. Proc. XIX International Grassland Congress. Sao Paulo, Brasil. pp. 29-37.
- López G. Z., J.E. Benavides, M. Kass y J. Faustino. 1994. Efecto de la frecuencia de poda y aplicación de estiércol sobre la producción de biomasa de amapola (*Malvaviscus arboreus*). In Benavides J.E. (Ed) Árboles y Arbustos Forrajeros en América Central. CATIE, Costa Rica. Vol. 2. pp. 531-544.
- Molina J., J Faria-Mármol y Z. Chirinos. 1996. Efecto de diferir la época de utilización y calidad de asociación *Panicum maximum* - *Leucaena leucocephala*. Pasturas Trop., 18: 51-54.
- Pizarro E.A. y R.R. Vera. 1990. Efecto de diferir la época de utilización y calidad de *Centrosema pubescens*. Pasturas Trop., 12(1): 39-43.
- Razz R., R. González, J. Faria, D. Esparza y N. Faria. 1992. Efecto de la frecuencia e intensidad de defoliación sobre el rendimiento de materia seca de la *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. Rev. Fac. Agron. LUZ, 9: 17-27.
- Richards J. H. 1993. Physiology of plants recovering from defoliation. Proc. XVII International Grassland Congress. Palmerston North, New Zealand pp. 95-104.
- Rodríguez I. 2002. *Leucaena leucocephala*. Usos y bondades. Editorial Valero. Valera, Venezuela.
- Sánchez A., J. Faria-Mármol y B. González. 2003. Efecto del aplazamiento de utilización en la asociación *Cenchrus ciliaris* - *Leucaena leucocephala*. I. Producción y componentes de la materia seca. Arch. Latin. Prod. Anim., 11(1): 29 – 33.
- SAS. 1999. SAS/STAT Users Guide, Ver. 6, SAS Institute Inc. Cary, NC. USA.
- Seresinhe T, A. Manawadu y K.K Pathirana. 1998. Yield and nutritive value of three fodder legume species as influenced by the frequency of defoliation. Trop. Agric., 75:337-341.
- Steel R. G y J. B. Torrie. 1960. Principles and procedure of statistics with special reference to the biological science. McGraw Hill. New York, USA.

Efeito residual de calcário, nitrogênio e zinco na produção de matéria seca de *Brachiaria decumbens* em condições de campo

Francisco Maximino Fernandes¹, Renato de Mello Prado^{2*}, Massaru Kawatoko³ e Olair J. Isepon²

¹ Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, UNESP. Av. Brasil, 56, CEP 15385-000, Ilha Solteira, São Paulo, Brasil.

² Departamento de Solos e Adubos, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. Via de Acesso Paulo Donato Castellane, s/n. CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. *Correo electrónico: rmprado@fcav.unesp.br

³ Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Av. Barão do Rio Branco, 1990 – CEP 16901-270, Andradina, São Paulo, Brasil.

RESUMO

O equilíbrio da prática da calagem e da adubação com nitrogênio e zinco poderá afetar a produção do pastura. Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito residual da aplicação de calcário, nitrogênio e zinco na produção de matéria seca da *Brachiaria decumbens*, durante três cortes. Para isto, instalou-se um experimento em Selvíria, Brasil, em um Latossolo Vermelho distrófico, no período de outubro 1997 a maio 1998. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 3x3x2, com quatro repetições. Os tratamentos foram compostos por três doses de nitrogênio: 0, 50 e 100 kg/ha, três doses de calcário: 0, 267 e 556 kg/ha, correspondendo aos níveis de saturação por bases 41, 50 e 60%, respectivamente e duas doses de zinco 0 e 5 kg/ha, aplicados no primeiro ano e reaplicados no segundo ano, exceto o calcário. No segundo de experimentação, realizou-se três cortes na forrageira à 10 cm do solo, com intervalos de 49 dias, para obtenção da matéria seca. A aplicação de calcário no primeiro ano, não proporcionou efeito residual no segundo ano sobre a produção da *Brachiaria decumbens*. Enquanto, que a adubação nitrogenada, proporcionou incrementando a produção de matéria seca da forrageira. A aplicação de zinco no primeiro ano e reaplicação no segundo ano, não resultou em resposta da *B. decumbens* na produção de matéria seca.

Palavras chave: pastagem, nitrogênio, calagem, micronutriente, restauração.

Residual effect of lime, nitrogen and zinc on dry matter production of *Brachiaria decumbens* in field conditions

ABSTRACT

The balance of liming and fertilization practice with nitrogen and zinc could affect the production of the pasture. Thus, the present work has as objective to evaluate the residual effect of the application of calcareous rock, nitrogen, and zinc on the dry matter production of *Brachiaria decumbens*, during three cuts. For this, an experiment was installed in Selvíria, Brazil, on a dystrophic red Latosol, from october 1997 to may 1998. The experimental design was randomized blocks, in a factorial project 3x3x2, with four repetitions. The treatments were three doses of nitrogen: 0, 50, and 100 kg/ha, three doses of lime: 0, 267, and 556 kg/ha, corresponding to 41, 50, and 60% of the levels of base saturation, respectively, and two doses of zinc 0 and 5 kg/ha, applied in the first year and reapplied in the second year, except for the limestone. Four cuts were done in the grass at 10 cm of height, with intervals of 49 days, to obtain the dry matter production. The limestone application in the first year did not provide to residual effect on the production of *Brachiaria decumbens*. However, the nitrogen fertilization increased the dry matter production of the grass. The application of zinc in the first year and the reapplication in the second year did not result in a productive response of *B. decumbens*.

Keywords: grass, fertilization nitrogen, limestone, micronutrient, restoration.

INTRODUÇÃO

As forrageiras mais comumente usadas na região dos Cerrados são dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*, entre outras, que se bem manejadas e com estado nutricional adequado potencializará a maximizar o desempenho de animais em pastejo.

No Brasil a área de pastagem é relativamente grande atingindo 172,3 milhões de hectares no ano 2006 (IBGE, 2007). Perón e Evangelista (2004), em uma revisão de literatura, estimaram que 80% dos 50 a 60 milhões de hectares de pastagens cultivadas no Brasil Central encontram-se em algum estado de degradação, ou seja, em processo evolutivo de perda de vigor, sem possibilidade de recuperação natural e incapazes de sustentar os níveis de produção e qualidade exigido pelos animais

Entretanto, é conhecido que a fertilidade adequada do solo é um fator importante na longevidade das pastagens e pode afetar a degradação. Pois normalmente a pastagem degradada apresenta solos com baixa fertilidade. Além disso, a taxa de mineralização da matéria orgânica reduz o estoque de nitrogênio com tempo de uso da pastagem, implicando no agravamento do nível de degradação, especialmente com aumento da taxa de lotação. No Brasil, especificamente em pastagens, praticamente não é utilizado fertilizantes. E ainda, em áreas localizadas que promovem renovação da pastagem com uso de fertilizantes, os mesmos são utilizados apenas no estabelecimento, e em médio prazo têm novamente a sua degradação. Portanto, a aplicação contínua dos fertilizantes, é importante na produção da forrageira, comparado a aplicação descontínua (Martinello e Berardo, 2007).

É amplamente conhecido que parte significativa das pastagens de *Brachiaria* apresenta certo grau de degradação, portanto, com reflexos na produção animal. Assim, é importante, técnicas para diminuir o avanço da degradação das pastagens, a exemplo das práticas de calagem e da adubação.

O potencial de produção de uma planta forrageira é determinado geneticamente, porém, para que esse potencial seja alcançado, condições adequadas do meio (temperatura, umidade, luminosidade, disponibilidade de nutrientes) e manejo devem ser observadas. Dentre essas condições, nas regiões tropicais, a baixa fertilidade dos solos caracterizados

pela acidez e baixa a disponibilidade de nutrientes, constituindo um dos principais fatores limitantes a produtividade da forragem. Neste sentido, a prática da calagem é importante para a produção da *Brachiaria* (Primavesi *et al.*, 2004), além dos nutrientes, com destaque para os macronutrientes, o nitrogênio (Fagundes *et al.*, 2005) e para os micronutrientes, o zinco.

Assim, o equilíbrio da prática da calagem e da aplicação de nutrientes em quantidades e proporções adequadas, particularmente o N e o Zn, são importantes para a produção de forragem, entretanto, existem poucas pesquisas abordando esta relação para a *Brachiaria decumbens*.

O trabalho objetivou-se avaliar o efeito residual da aplicação de calcário, nitrogênio e zinco na produção de matéria seca da *Brachiaria decumbens*, durante três cortes.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho experimental foi realizado na Fazenda de Ensino e Pesquisa da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Unesp, município de Selvíria, MS, Brasil, sob coordenadas 20°22'S e 51°22'W, altitude de 335 m. O clima da região caracteriza-se por uma temperatura média anual de 23,6°C e precipitação pluviométrica média anual de 1.330 mm, predominantemente no período de outubro a março (Centurion, 1982). O experimento foi desenvolvido em um Latossolo Vermelho distrófico, textura média (P em resina = 2 mg/dm³, K = 1, Ca = 9, Mg = 2 mmol/dm³, V = 41%), no período de outubro de 1997 a maio de 1998, cuja a temperatura e precipitação média do período experimental, consta na Quadro 1.

A área experimental é de uma pastagem de *B. decumbens* degradada, implantada em 1978 e a qual permaneceu por 18 anos sem adubação ou correção da acidez do solo.

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3x3x2, com 4 repetições. Os tratamentos foram compostos por três doses de nitrogênio: 0, 50 e 100 kg/ha, três doses de calcário (PRNT = 90,1%; Cão = 31% e MgO = 18%): 0, 267 e 556 kg/ha, correspondendo aos níveis de saturação por bases 41, 50 e 60%, respectivamente e duas doses de zinco (0 e 5 kg/ha), na forma de sulfato de zinco.

A adubação complementar constou da aplicação de fósforo, na dose de 89 kg/ha de P_2O_5 na forma de superfosfato simples (20% de P_2O_5) e de potássio na dose de 80 kg/ha de K_2O na forma de cloreto de potássio (60% de K_2O).

O calcário, o zinco e o fósforo foram aplicados em uma única vez, no início do período das águas (outubro de 1996), após o rebaixamento do capim (cerca de 5 cm de altura), enquanto o nitrogênio e o potássio foram parcelados em duas vezes, em outubro e dezembro de 1996, feito imediatamente após o primeiro corte, em capim rebaixado. No segundo ano, repetiu-se as mesmas adubações (tratamentos e adubação complementar), exceto o calcário. No presente ano, realizou-se a aplicação da metade da dose de N e aplicação do Zn, assim, como o P, e metade da dose de K, ocorreu após o primeiro corte do segundo ano, em 03/12/97. A outra metade da dose de N e metade da dose do K foram aplicados após o segundo corte. Todas as aplicações dos fertilizantes e

do calcário foram realizadas a lanço, manualmente e sem incorporação.

As parcelas experimentais constaram de 12 m² (3 x 4 m), entretanto, apenas a parte central foi considerada a parcela útil, tendo 2 m². Realizou-se três cortes das plantas, o primeiro aos 03/12/97, e os demais foram realizados com intervalos de 49 dias, a altura de 10 cm do solo. Em seguida, as amostras de tecido vegetal foram acondicionadas em sacos e secos em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até peso constante, para a obtenção da matéria seca.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados obtidos, o fator calcário e zinco não apresentaram diferença significativa na produção de matéria do capim *Brachiaria* nos três cortes estudados, entretanto, para o fator nitrogênio, houve diferença significativa, no 2º, 3º e na soma dos três cortes da forrageira (Quadro 2). Observou-se, que houve interação para todos os fatores estudados, apenas para o primeiro corte da forrageira.

Quadro 1. Dados médios da precipitação mensal e da temperatura máxima e mínima ocorridos no período de outubro de 1997 a maio de 1998 na área experimental. Sevíria, MS, Brasil.

Variable	1996				1997				
	Oc	No	De	En	Fe	Ma	Ab	Ma	
Precipitação total, mm	89,1	216,7	197,4	189,4	150,8	175,6	138,8	103,4	
Temperatura, °C	Máxima	32,7	32,4	33,4	33,0	32,1	32,0	30,6	26,7
	Mínima	19,5	22,1	22,6	23,3	23,1	22,8	20,7	16,3

Quadro 2. Resumo da análise de variância com três fatores estudados para a produção de matéria seca da forragem de *Brachiaria decumbens*.

Causas de variação	GL	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Soma dos três cortes
Dose calcário (A)	2	2,00ns	1,38ns	1,03ns	1,05ns
Dose nitrogênio (B)	2	0,96ns	90,38**	120,77**	130,07**
Dose zinco (C)	1	0,25ns	0,12ns	0,02ns	0,00ns
Interação AxB	4	4,27**	1,17ns	0,20ns	0,67ns
Interação AxC	2	7,06**	0,20ns	0,12ns	1,30ns
Interação BxC	2	11,70**	0,18ns	0,07ns	1,10ns
Interação AxBxC	4	3,81**	0,76ns	0,30ns	0,48ns
Blocos	3	1,48ns	11,45**	0,94ns	6,17**
C.V.(%)		15,9	23,2	22,4	13,3

** , * e ns: significativo a $P < 0,01$, $P < 0,05$ e $P > 0,05$, respectivamente.

No primeiro corte, observou-se que os fatores calcário e nitrogênio e zinco não afetaram a produção, exceto, apenas a interação entre os fatores (Quadro 3). Assim, verifica-se que no primeiro corte, a aplicação de nitrogênio, independentemente do calcário e do zinco, não proporcionou efeito positivo na produção de matéria seca, o que não era esperado, tendo em vista aos relatos da literatura (Fonseca *et al.*, 1998) que apontam a forrageira como alta resposta ao dado macronutriente. Este fato, possivelmente deve-se ao baixo efeito residual do N aplicado no primeiro ano, pois o mesmo voltou a ser aplicado no segundo ano de experimentação, entretanto, após o primeiro corte (03/12/97), portanto, não houve benefício com o dado nutriente, resultando na ausência de resposta da forrageira para o primeiro corte.

Para a dose zero de zinco, nota-se que a aplicação de calcário não afetou a produção da forragem do primeiro corte, independentemente da dose N (Quadro 3). Ao passo, que nas parcelas com emprego do zinco, a aplicação de calcário diminuiu a produção com uso da dose baixa ou alta de nitrogênio, e para a dose intermediária de N, houve efeito positivo da aplicação do calcário na produção da forrageira (Quadro 3). Estes resultados discordam parcialmente de Elyas *et al.* (2006) que observaram em capim-Pojuca durante os três primeiros cortes, a ausência da interação calcário e nitrogênio na produção de matéria seca da forrageira.

Nota-se que na ausência de Zn, houve incremento na produção de massa seca da forrageira em função da aplicação de nitrogênio, apenas nos tratamentos com a aplicação do calcário (Quadro 3). Ao passo, que quando houve aplicação de zinco, a aplicação da dose

intermediária de nitrogênio foi suficiente para máxima produção de massa seca, especialmente com emprego dos tratamentos com calcário (Quadro 3). Esse incremento em produção de forragem, proporcional as doses de N em *B. decumbens*, foi semelhante aos obtidos na literatura por Fonseca *et al.* (1998), Paciullo *et al.* (1998) e Fagundes *et al.* (2005). Esse efeito do N pode ser atribuído à sua influência sobre os processos fisiológicos da planta (Herrera e Hernandez, 1985), devido a sua função estrutural, participando de compostos orgânicos (proteínas, enzimas, clorofila entre outros), vitais para o crescimento das plantas (Malavolta *et al.*, 1989).

A produção de matéria seca no segundo corte foi influenciado significativamente apenas pelas doses de nitrogênio (Quadro 2). Observa-se que à medida que se aumentaram as doses de N, houve um aumento significativo na produção de matéria seca, de 88 e 165%, respectivamente para N de 50 e 100 kg/ha (Quadro 4). Não houve efeito das doses de calcário e de zinco sobre a produção de matéria seca. A aplicação de calcário para elevar o V 50 ou 100%, não favoreceu a maior resposta da forrageira a aplicação de N. Assim, estes resultados discordam de Rodrigues (2002), a qual verificou maior crescimento (área foliar) da *Brachiaria decumbens* de segundo corte, em função da aplicação de N, nos tratamentos com uso de calcário, comparado a testemunha (sem calcário).

No terceiro corte, observou-se efeito significativo para as doses de N (Quadro 4). Houve aumento de 120 e 210% em relação à ausência de N, respectivamente para N de 50 e 100 kg/ha. A produção de matéria seca no segundo e terceiro corte não foi afetado pela

Quadro 3. Produção de matéria seca de *Brachiaria decumbens*, referente ao primeiro corte, em função de doses de calcário (kg/ha), de nitrogênio (kg/ha) e de zinco (kg/ha).

	Zn 0			Zn 5		
	Ca 0	Ca 267	Ca 556	Ca 0	Ca 267	Ca 556
N	----- kg/ha -----					
0	2.256Aa†	1.576Ab	1.790Ab	1.950Aa	2.250Aa	1.768Ba
50	1.448Ab	1.746Ab	1.862Ab	1.748Bb	2.280Aa	1.980Aa
00	2.261Aa	2.030Aa	2.270Aa	2.161Aa	1.628Ab	1.286Bb

† Médias seguidas de letras iguais maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey (P>0,05).

Quadro 4. Produção de matéria seca de *Brachiaria decumbens*, referente ao segundo e terceiro, em função de doses de nitrogênio.

N	0	50	100
	----- kg/há -----		
Corte 1	825c†	1.152b	2.193a
Corte 2	1.026c	2.265b	3.183a

† Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ($p>0,05$).

aplicação de calcário (Quadro 2). Rodrigues (2002) trabalhando com *Brachiaria decumbens* em Neossolo Quartzarênico ($V=32\%$), não observaram efeito da calagem na produção de matéria seca. Outros autores também relataram a ausência de resposta de forrageiras à aplicação de calcário, como em capim-tobiatã (Luz, 2002), capim IZ-1, capim-Vencedor e capim-Centenário (Mitidieri, 1995) e capim-pojuca (Elyas *et al.*, 2006). A ausência do efeito da calagem sobre o desenvolvimento do capim braquiária discorda de Primavesi *et al.* (2004), pero concorda com os resultados da Embrapa (1985), que atribui a esta forrageira tolerância ao alumínio e ao manganês, boa adaptação a solos pobres. Carvalho *et al.* (1992) reforçam que na literatura existem indicações sobre efeitos positivos e ausência de efeitos da calagem sobre a *Brachiaria decumbens*. É pertinente salientar que a resposta de forrageiras do grupo das braquiárias, à aplicação de calcário, dependerá do V inicial do solo. No presente trabalho o V inicial era de 41%, o que poderia suprir a planta com os nutrientes Ca e Mg, pois Cruz *et al.* (1994), obteve resposta da *Brachiaria* à calagem em solo com V muito baixo (4%).

As doses de nitrogênio promoveu acréscimo significativo de matéria seca, independentemente das doses de calcário e de zinco (Quadro 4). As doses de zinco não afetaram a produção de matéria seca, considerando o segundo e terceiro cortes (Quadro 2). Essa ausência de resposta a aplicação de Zn também foi relatado em outras forrageiras como capim-Tanzânia (Oliveira *et al.*, 2000) e capim Tifton 85 (Silva, 2003). Assim, a falta de resposta ao zinco pode ter ocorrido pelo fato de o mesmo, apesar de presente no solo, pois houve aplicação do micronutriente no primeiro ano, tendo sido suficiente para o crescimento da forrageira durante o segundo ano. Salienta-se, ainda, que estes resultados discordam de Oliveira *et al.* (2003) que relataram que a aplicação de calcário

e micronutrientes promovem efeitos mais acentuados na produção da *Brachiaria decumbens* no segundo ano de experimentação.

Portanto, o resultado deste trabalho indicando ausência de resposta da forrageira à aplicação de Zn estaria em desacordo com as recomendações de aplicação de Zn para capim braquiária cultivadas no estado de São Paulo (Werner *et al.*, 1997) ou no Cerrado (Oliveira *et al.*, 1996).

CONCLUSÕES

A aplicação de calcário no primeiro ano não proporcionou efeito residual no segundo ano sobre a produção da *Brachiaria decumbens*. Enquanto, que a adubação nitrogenada, proporcionou incrementando a produção de matéria seca da forrageira.

A aplicação de zinco no primeiro ano e reaplicação no segundo ano, não resultou em resposta da *B. decumbens* na produção de matéria seca.

LITERATURA CITADA

- Carvalho M.M., C.E. Martins, C. Siqueira y O.F. Saraiva. 1992. Crescimento de uma espécie de braquiária, na presença da calagem em cobertura, e de doses de nitrogênio. Rev. Bra. Ciên. Solo, 16(1):69-74.
- Centurion J.F. 1982. Balanço hídrico da região de Ilha Solteira. Científica, 10(1): 57-61.
- Cruz M.C.P., M.E. Ferreira y S. Luchetta. 1994. Efeito da calagem sobre a produção de matéria seca de três gramíneas forrageiras. Pesq. Agrop. Bra., 29(8): 1303-1312.
- Elyas A.C.W., J.C. Pinto, A.E. Furtini Neto y A.R. Morais. 2006. Nitrogênio e saturação por bases no desempenho do capim-pojuca (*Paspalum*

- atratum* swalen cv. pojuca) cultivado em vasos. Cien. Agrotecn. Lavras, 30(3): 554-561.
- Embrapa. 1985. *Brachiaria brtizantha* cv. Marandu. Centro Nacional de Gado de Corte. Campo Grande, MS. Brasil.
- Fagundes J.L., D.M. Fonseca, J.A. Gomide, D. Nascimento Jr, C.M.T. Vitor, R.V. Morais, C.Mistura, G.C. Reis y J.A. Martuscello. 2005. Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. Pesq. Agrop. Bra.,40(4): 397-403.
- Fonseca D.M.; L.T. Salgado, D.S. Queiroz, A.C. Cóser, C.E. Martins y S.C.M. Bonjour. 1998. Produção de leite em pastagem de capim-elefante sob diferentes períodos de ocupação dos piquetes. Rev. Soc. Bra. Zootecnia, 27: 848-856.
- Herrera R.S. y Y. Hernández. 1985. Efecto de la fertilización nitrogenada en la calidad de *Cynodon dactylon* cv. Coastcross. 1-Rendimiento de matéria seca, proteína bruta y porcentaje de hojas. Pastos y Forrages, 8: 227-237.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2007. Censo Agropecuário 2006. Disponível on line. <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em maio 2007.
- Luz P.H.C., V.R. Herling y G.J. Braga. 2002. Tipos e doses de calcário nas características agrônômicas de *Panicum maximum* Jacq. cv. Tobiatã em função dos métodos de aplicação. Sci. Agricola, 59(1): 155-159.
- Malavolta E., G.C. Vitti y S.A. Oliveira. 1989. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. IPNI, Piracicaba. Brasil
- Martinello P. y N. Berardo. 2007. Residual fertilizer effects on dry-matter yield and nutritive value of Mediterranean pastures. Grass Forage Sci., 62; 87-99.
- Mitidieri F.J. 1995. Respostas de cinco gramíneas forrageiras a níveis de calcário em Latossolo Vermelho-Escuro. Dissertação Mestrado, Esalq USP. Piracicaba. Brasil
- Oliveira I., P.J. Kluthcouski, L.P. Yokoyama, L.G. Dutra, T.A. Portes, A.E. Silva, B.S. Pinheiro, P. Ferreira y E.M. Castro. 1996. Sistema Barreirão: recuperação/renovação de pastagens degradadas em consórcio com culturas anuais. CNPAF-APA, Embrapa. Documento, 64. Brasil.
- Oliveira I.P., F.G.F. Castro, V.V. Paixão y F. P. Moreira. 2000. Efeitos qualitativo e quantitativo de aplicação do zinco no capim tanzânia-1. Pesq. Agrop. Trop., 30(1): 43-48.
- Oliveira P.P.A., A.E. Boaretto, P.C.O. Trivelin, W.S. Oliveira y M. Corsi. 2003. Calagem e adubação na recuperação de pastagem degradada de *Brachiaria decumbens* em neossolo quartzarênico. Sci. Agricola, 60(1): 125-131.
- Paciullo D.S.C., J.A. Gomide y K.G. Ribeiro. 1998. Adubação nitrogenada do capim-elefante cv. Mott: 1-Rendimento forrageiro e características morfofisiológicas ao atingir 80 e 120 cm de altura. Rev. Bra. Zootecnia, 27: 1069-1075.
- Perón A.J. y A.R. Evangelista. 2004. Degradação de pastagens em regiões de cerrado. Ciên. Agrotec., 28(3): 655-661.
- Primavesi O., A.C. Primavesi, L. de A. Corrêia y A.R. de Freitas. 2004. Calagem em pastagem de *Brachiaria decumbens* recuperada com adubação nitrogenada em cobertura; Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica 37. São Carlos, Brasil.
- Rodrigues R.C. 2002. Calcário, nitrogênio e enxofre para recuperação do capim-Braquiária cultivada em solo proveniente de uma pastagem degradada. Dissertação Mestrado Ciência Animal e Pastagem. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba. Brasil.
- Ruggiero J.A., B. Rosa, K. R. Freitas y J.L. Nascimento. 2006. Avaliação de lâminas de água e de doses de nitrogênio na composição bromatológica do capim-mombaça. Biosci. J., 22(1): 9-19.
- Silva A.R. 2003. Adubação com nitrogênio e zinco para o capim-Tifton 85: efeitos no solo e na planta em sucessivos crescimentos. Dissertação Mestrado Ciência do Solo. Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. Jaboticabal. Brasil.
- Soares Filho C.V., F.A. Monteiro y M. Corsi. 1992. Recuperação de pastagens degradadas: 1. Efeito

de diferentes tratamentos de fertilização e manejo. *Past. Trop.*, 14: 2-6.

Werner J. C., V. T. Paulino, H. Cantarella, N. O. Andrade y J. A. Quaggio. 1997. Forrageiras. *En Raij B.*,

H. Cantarella, J. A. Quaggio y A. M. C. Furlani (Eds.) *Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo*. 2ªed. Instituto Agronômico, Boletim técnico 100. Campinas, Brasil. pp. 263-273

Efecto de la edad de la planta en el contenido de nutrientes y digestibilidad de *Leucaena leucocephala*

Alexander Sánchez Gutiérrez^{1*} y Jesús Faria Mármol²

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Falcón. Av. Roosevelt, zona Institucional, Coro. Falcón, Venezuela. *Correo electrónico: asanchez@inia.gob.ve

² Universidad del Zulia. Postgrado en producción animal, Facultades de Agronomía y Ciencias Veterinarias. Maracaibo, Zulia. Veceuela.

RESUMEN

En una región semiárida del Estado Zulia, Venezuela, se estudió el efecto de cinco edades de la planta (42, 84, 126 y 168 días) en el comportamiento de la proteína cruda (PC), digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y minerales en muestras de la fracción fina (pinna, pecíolos y tallos menores de 5 mm de diámetros) de *Leucaena leucocephala* cosechadas en la época seca. El diseño experimental usado fue bloques al azar con tres repeticiones. La DIVMO y el contenido de PC disminuyeron significativamente a los 84 y 126 días respectivamente, manteniendo sus valores ($P>0,01$) hasta los 168 días. La concentración de minerales Ca, Mg, K, Fe, Mn, Se, Co y Mo resultaron adecuadas mientras los niveles de P, Na, Cu y Zn se observaron por debajo del nivel crítico de deficiencia. Solo Na incrementó ($P<0,05$) con el aumento de la edad, mientras Cu disminuyó sus valores. Este comportamiento de la digestibilidad y el contenido en nutrientes de la MO exhibidas por *L. leucocephala*, con respecto a la edad de la planta, evidencia su gran potencial como recurso forrajero para ser usado en rumiantes como fuente alimenticia en la época seca, ya que permite un manejo en la utilización de la leguminosa de manera estratégica, dada su propiedad de mantener la calidad nutritiva dentro de los niveles óptimos sin que la edad de la planta y las condiciones de sequía la afecten significativamente.

Palabras clave: leucaena, edad de la planta, composición química, digestibilidad, minerales.

Effect of age on plant nutrient content and digestibility of *Leucaena leucocephala*

ABSTRACT

In a semiarid region of Zulia state, Venezuela, we studied the effect of five ages of the plant (42, 84, 126, and 168 days) on the levels of crude protein (CP), *in vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) and mineral samples in the fine fraction (pinna, petioles and stems under 5 mm in diameter) of *Leucaena leucocephala* harvested in the dry season. The experimental design was random blocks with three replications. The IVDOM and content of CP fell significantly at 84 and 126 days, respectively, while maintained their values ($P>0.01$) at 168 days. The concentrations of minerals Ca, Mg, K, Fe, Mn, Se, Co, and Mo were found at appropriate levels, while P, Na, Cu, and Zn were below the critical level of impairment. Only Na increased ($P<0.05$) with increasing maturity, while Cu decreased its value. This pattern of digestibility and nutrient content of the OM displayed by *L. leucocephala*, regarding the maturity of the plant, evidence its massive potential as a resource fodder to be used as a food source in ruminants in the dry season, as it allows management in the use of the legume strategically, given its property to maintain nutritional quality within the optimum levels, without the age of the plant and the drought conditions affect it significantly.

Keywords: leucaena, age of the plant, protein, digestibility, minerals.

INTRODUCCIÓN

La producción de carne y leche a base de pastos tropicales se encuentra limitada entre otras cosas por la calidad y digestibilidad del forraje, siendo este uno de los factores que más limita la producción de los rumiantes (Escobar, 1996). Este problema se acentúa en muchos lugares del trópico donde la oferta de forraje se ve afectada debido a períodos de sequías prolongados e intensos, y raramente puede satisfacer por completo todos los requerimientos nutricionales de los animales, proteínas y minerales.

Los pastos utilizados tradicionalmente en la alimentación de rumiantes presentan concentraciones de proteína que oscilan entre 3 y 10% con una baja digestibilidad en su mayoría (Lascano, 1996; Dzowella *et al.*, 1995; Norton, 1994). En relación al contenido de minerales, en un estudio de 2.615 forrajes latinoamericanos la mayoría mostraron deficiencias, siendo las más frecuentes en Cu, Co, Mg, P, Na y Zn. Los minerales K, Fe y Mn fueron los menos probables de ser deficientes (McDowell *et al.*, 1997). Tal tendencia puede mostrarse más severa debido a los factores climáticos a los cuales se sometan las especies (Morillo, 1994; Norton *et al.*, 1995).

Las leguminosas forrajeras arbóreas juegan un papel muy importante como suplemento alimenticio y entre las más empleadas se tiene a *Leucana leucocephala* (Urbano y Dávila, 2005), debido a que proveen un forraje de buena calidad, rico en nutrientes, específicamente en proteínas, vitaminas y minerales, por lo que se puede utilizar como suplemento en las dietas para rumiantes (Urbano *et al.*, 2006; Rodríguez, 2002). No obstante, tal calidad puede verse comprometida, entre otros factores, por la edad de la planta y la época (Faria-Mármol y Sánchez, 2007b; Razz *et al.*, 2004).

El presente estudio pretende evaluar el efecto de la edad de la planta en la digestibilidad, proteína cruda y minerales de la materia seca en el forraje de *L. leucocephala*, en un ambiente de bosque muy seco tropical en la época de sequía.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Campo Experimental La Cañada, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, ubicado en el estado Zulia, Venezuela; localizado geográficamente

a los 10°32' N y 71°42' O, correspondiendo a un bosque muy seco tropical, con una precipitación de 600 mm anuales, una temperatura media de 28°C y una evapotranspiración de 1.662 mm (González *et al.*, 2003). Los suelos son de textura franco-arenosa, pH 5,5 con valores de Ca, Mg, Na y K de 0,6 0,3 0,1 y 0,17 mg/100g de suelo, respectivamente. La capacidad de intercambio catiónico (36 me/100g) y P₂O₅ (6 ppm) son relativamente bajos (Sánchez *et al.*, 2003).

Se usó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. El experimento fue de factor único siendo éste la edad de la planta (42, 84, 126 y 168 días), considerado a partir del corte de uniformización (poda severa de las plantas a 60 cm de altura con respecto al nivel del suelo) que se realizó finales de octubre con la salida de las lluvias.

En cada tratamiento se procesaron muestras de fracción fina (pinna, pecíolos y tallos menores de 5 mm de diámetro), que fueron secadas a 50°C durante 72 h en una estufa de ventilación forzada, molidas y tamizadas a un 1 mm. La preparación de las muestras para los análisis de minerales se efectuó según los procedimientos descritos por Fick *et al.*, (1979). Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: contenido de proteína cruda a partir del contenido de nitrógeno por el método de Kjeldahl (AOAC, 1994) multiplicado por el factor 6,25, fósforo por el método colorimétrico descrito por Harris y Popat (1954). Cobre, manganeso, zinc, calcio, potasio, magnesio y sodio se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica con llama (Perkin-Elmer Corp, 1982). Cobalto y molibdeno por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer Corp, 1984), selenio por la técnica fluorométrica (Whetter y Ullrey, 1978) y la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) por el método de Tilley y Terry modificado (Alexander, 1966).

La base de datos originada en esta investigación se analizó utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1985) y la comparación de medias a través de la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1960).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la edad de la planta en la concentración de PC, macroelementos y digestibilidad de la materia orgánica de *L. leucocephala* se manifestó de manera

diferente entre las variables estudiadas, tal como se muestra en el Cuadro 1.

El contenido de PC, aun cuando disminuyo ($P < 0,001$) a los 84 días de edad al corte, este mostró estabilidad para el resto de los períodos evaluados a pesar del efecto perjudicial de la sequía y el extenso período de evaluación (168 días), lo que produjo como resultado final de estos cambios una pérdida de 12,4 puntos porcentuales con respecto al inicio. Pese de esta caída de los valores de PC, los niveles más bajos registrados por esta especie forrajera no llegan a ser menores del 18%. Respuestas similares se documentan en otros estudios (Sánchez *et al.*, 2007; Araque *et al.*, 2006; Faria-Mármol *et al.*, 1996; Adjei, 1995; Knox, 1990), llegando incluso a ser superiores a algunas de las indicadas para plazos de madurez menos prolongados (Hernando y Chamorro, 2000, Nyathi *et al.*, 1995). El contenido de PB de las especies leguminosas, sobre todo en leucaena, es superior a los niveles máximos encontrados en las gramíneas y en la mayoría de las leguminosas forrajeras tropicales. Este contenido excede considerablemente, por otra parte, al considerado como deficiente (8%) para los rumiantes (Faria-Mármol y Morillo, 1997), que sería el correspondiente a un bovino en pastoreo, en

consumo voluntario, según los niveles reportados para esta especie en Venezuela (Faria-Mármol *et al.*, 2005, Razz *et al.*, 2004) y otras regiones tropicales (Murethi *et al.*, 1994, Martínez *et al.*, 1990).

La evolución observada en leucaena en este ensayo, común en las leguminosas arbustivas (Araque *et al.*, 2006, Sánchez, 1993), permite un planteamiento estratégico de su uso. Así, bien se puede pretender alcanzar un nivel máximo rendimiento en la producción de biomasa comestible o diferir su uso para la época crítica de sequía (Sánchez *et al.*, 2003), sin que en ambos casos implique comprometer su valor nutritivo.

La DIVMO de la planta disminuyo al avanzar la edad, alcanzando estabilizar sus valores ($P > 0,01$) a los 126 días de edad. El valor mínimo fue de 47,8% alcanzado a los 168 días. No obstante, a pesar la pérdida de 15,7 puntos porcentuales, la digestibilidad logro mantenerse en el rango reportado en leguminosas arbustivas forrajeras, que oscila entre 46 y 78% (Norton *et al.*, 1995, Norton, 1994). Sin embargo, los valores observados resultan bajos si lo comparamos con reportes donde refieren niveles de 70,4 y 72,1% en la época seca bajo condiciones climáticas similares

Cuadro 1. Efecto de la edad de la planta en la concentración de proteína cruda (PC), macroelementos y digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO) de *L. leucocephala*.

Edad días	PC	DIVMO	Macroelementos					Ca:P
			Ca	P	Mg	K	Na	
			----- % -----					
42	30,7a†	63,5a	1,12b	0,22a	0,34	2,52a	0,02c	5,09:1
84	23,6b	57,2b	1,53ab	0,19a	0,35	2,16ab	0,03c	8,05:1
126	18,6b	50,2c	1,36ab	0,19a	0,34	1,78bc	0,13b	7,16:1
168	18,3b	47,8c	1,74a	0,14b	0,37	1,36c	0,19a	12,43:1
Media	22,8	44,1	1,40	0,18	0,35	1,96	0,09	8,18
DRE‡	0,59	0,83	0,05	0,01	0,01	0,14	0,01	0,01
R ²	0,96	0,99	0,99	0,98	0,95	0,96	0,99	0,99
CC§	-	-	0,30	0,25	0,20	0,60	0,08	-

† Medias con literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($P < 0,001$).

‡ DRE: Desviación residual estándar.

§ CC: Concentración crítica para deficiencia (NRC, 1989).

(Faria-Mármol y Sánchez, 2007b; Faria-Mármol *et al.*, 1996; Faria-Mármol, 1994).

Las concentraciones de los minerales Ca, Mg, K y Na son considerados adecuados para rumiantes a pastoreo cuando se comparan con el requerimiento de estos elementos minerales o nivel crítico de deficiencia (NRC, 1989, McDowell, 1992). De acuerdo a los valores de referencia, solo las concentraciones de P resultaron claramente deficientes, lo cual ha sido reportado en esta especie (Faria-Mármol y Sánchez, 2007a; Sánchez *et al.*, 2003; Faria-Mármol *et al.*, 1996) y puede haber sido afectado por el bajo nivel de P en el suelo (Kabaija y Smith, 1988), así como la edad de la planta y la época seca (Faria-Mármol *et al.*, 1996).

El promedio de la relación Ca:P fue de 8,2, alcanzando de manera particular valores de 5,1 y 12, 4 en las edades 42 y 126 días, respectivamente, los cuales son similares a los reportados en otros cultivares de leucaena (Faria-Mármol y Sánchez, 2007a; Faria-Mármol *et al.*, 1996). Ricketts *et al.* (1970) demostraron una disminución significativa en el crecimiento y eficiencia nutritiva de la dieta del rumiante cuando existe una relación Ca:P por encima de 7:1. En consecuencia, forrajes con relación Ca:P

altas deben ser suministrados con cautela ya que puede disminuir la asimilación de fósforo.

Los contenidos de microelementos en las edades al corte se muestran en el Cuadro 2. Los niveles de Fe, Mn, Se, Co y Mo se verificaron aceptables para el rumiante, basado en las concentraciones mínimas para deficiencia (NCR, 1996; McDowell, 1992), mientras los elementos Cu y Zn se mostraron deficientes. Norton (1994) también reporta la presencia de estos dos últimos elementos como marginales en la especie *L. leucocephala*. En cuanto al comportamiento que evidencian estos microelementos con los tratamientos empleados, se observa solamente en Cu, el cual sufre una caída significativa con la madurez de la planta logrando estabilizarse ($P>0,01$) a partir de 126 días de edad, mientras que el resto de los elementos mostrase sin variación estadísticamente significativa su tendencia.

Según Garmendia (2007), la edad del forraje tiene una inmensa influencia sobre su contenido de proteína y minerales. Generalmente, hay un alto contenido de minerales en la planta durante las etapas iniciales de crecimiento y una dilución gradual a medida que la planta madura. Fósforo, zinc, hierro, cobalto y molibdeno son los minerales que más disminuyen a

Cuadro 2. Efecto de la edad de la planta en la concentración de microelementos en *L. leucocephala*.

Edad días	Cu	Mn	Zn	Se	Co	Mo
----- % -----						
42	9,77a†	63,67	26,62	0,24	0,14	0,35
84	8,06b	87,86	23,84	0,24	0,19	0,34
126	6,41c	69,88	33,00	0,21	0,15	0,28
168	6,14c	82,34	27,24	0,34	0,16	0,33
Media	7,60	75,94	27,68	0,26	0,16	0,33
DRE‡	0,26	2,78	0,79	0,04	0,02	0,02
R ²	0,99	0,99	0,99	0,95	0,94	0,96
CC§	8,0	40	30	0,2	0,1	-

† Medias con literales diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($P<0,001$).

‡ DRE: Desviación residual estándar.

§ CC: Concentración crítica para deficiencia (NRC, 1986).

medida que la planta crece y madura. Por ejemplo, el cobre baja de 10 a menos de 4 ppm en plantas maduras. Sin embargo, la disminución más severa se observa en el fósforo. Los forrajes pueden bajar de 0.25 % en las etapas iniciales de crecimiento a valores por debajo de 0.10% (Chicco y Godoy, 1987).

CONCLUSIONES

Del análisis de la información generada bajo las condiciones de este ensayo se pueden derivar las siguientes conclusiones:

1. El contenido de nutrientes y la digestibilidad de la MO de *L. leucocephala* evidencian su gran potencial como recurso forrajero para ser usado en rumiantes como estrategia alimenticia en la época seca.
2. La edad de la planta de leucaena ocasionó una disminución de los contenidos de PC y de la DIVMO. No obstante, el detrimento en la calidad nutricional no fue significativa en comparación con otras especies, especialmente de gramíneas. Esta ventaja es más evidente al cosecharlas a una madurez muy avanzada.
3. La concentración de minerales Ca, Mg, K, Fe, Mn, Se, Co y Mo resultó adecuada mientras que los niveles de P, Na, Cu y Zn estuvieron por debajo del nivel crítico de deficiencia.

LITERATURA CITADA

- Adjei M. B. 1995. Component forage yield and quality of grass – legume cropping systems in the Caribbean. *Trop. Grassl.*, 29: 142-149.
- Albrecht K. A., W. F. Wedin y D. R. Buxton. 1987. Cell-wall composition and digestibility of alfalfa items and leaves. *Crop. Sci.*, 27: 735-741.
- Alexander R. H. 1966. Establecimiento de un sistema de digestibilidad *in vitro* en el laboratorio, Memorias Simposium “Métodos *in vitro* para determinar el valor nutritivo de los forrajes” La Estanzuela. Uruguay. pp. 101-114.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1994. Official Methods of Analysis. 15^{ta} ed. Washington, D.C.
- Araque C., T. Quijada, R. D'Aubeterre, L. Páez, A. Sánchez y F. Espinoza. 2006. Bromatología del mataratón (*Gliricidia sepium*) a diferentes edades de corte en Urachiche, estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 24(4): 393-399.
- Chicco C. F. y S. Godoy. 1987. Suplementación mineral de bovinos de carne a pastoreo. *En* Plasse D., N. Peña y R. Romero (Eds). III Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp 47-103.
- Dzowella B., L. Hove y J. Topps. 1995. Nutritional and anti-nutritional characters and rumen degradability of dry matter and nitrogen for some tree species with potential for agroforestry in Zimbabwe. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 55: 207-214.
- Escobar A. 1996. Estrategia para la suplementación alimenticia de rumiantes en el trópico. *En* Clavero T (Ed). Leguminosas Forrajeras Arbóreas en la Agricultura Tropical. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. pp. 49-65.
- Faría Mármol J. y A. Sánchez. 2007a. Efecto del aplazamiento de utilización sobre el contenido de nutrientes y digestibilidad de la materia orgánica de la asociación buffel-leucaena. *Interciencia*, 32(3): 185-187.
- Faría Mármol J. y A. Sánchez. 2007b. Efecto del aplazamiento del uso sobre la producción de forraje, contenido de proteína bruta y digestibilidad de la asociación Buffel – Leucaena. XII Jornadas sobre producción animal. Información técnica económica agraria. Volumen extra. Tomo I. pp. 363-365.
- Faría Mármol J., D. E. Morillo y L. R. McDowell. 1996. *In vitro* digestibility, crude protein, and mineral concentrations of *Leucaena leucocephala* accessions in a wet / dry tropical region of Venezuela. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.*, 27(13-14): 2663-2674.
- Faría Mármol J. y D. Morillo. 1997. Leucaena: Cultivo y utilización en la ganadería bovina tropical. CorpoZulia-FONAIAP-LUZ. Ediciones Astro Data. Maracaibo, Venezuela.

- Faria Mármol J. 1994. Evaluación de accesiones de leucaena en el bosque muy seco tropical del estado Zulia, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 11(1): 43-52
- Fick K. R., L. R. McDowell, P. Miles, N. Wilkinson, J.D. Funk y J.H. Conrad. 1979. *Methods of Mineral Analysis of Plant and Animal Tissues*. 2^{da} ed. Animal Science Department, University of Florida, Gainesville, FL.
- Garmendia J. 2007. Los minerales en la reproducción bovina. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en línea en: http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/34-minerales_en_reproduccion.pdf
- González I., J. Faria Mármol, D. Morillo, O. Mavarez, N. Noguera y E. Fuenmayor. 2003. Efecto de la frecuencias de riego y corte sobre el rendimiento de materia seca en *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 20: 364-375.
- Harris W. D. y P. Popat. 1954. Determination of the phosphorus content of lipids. *Am. Oil Chem. Soc.*, 31: 124-127.
- Hernando M. y D. Chamorro. 2000. Evaluación de *Leucaena leucocephala* bajo pastoreo en un sistema de bovino de doble propósito en el Magdalena medio colombiano. IV Taller Internacional Silvopastoril: Los Árboles y Arbustos en la Ganadería Tropical. FAO y EEPF Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. Tomo II. pp. 290-295.
- Kabajia E. y O. B. Smith. 1988. The effect of age of regrowth on content and release of manganese, iron, zinc and copper from four tropical forages incubated in sacco in rumen of sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 20: 171-176.
- Knox J. P. 1990. Emerging patterns of organization at the plant cell surface. *J. Cell Sci.*, 96: 557- 561.
- Lascano C. E. 1996. Oportunidades y retos en la utilización de leguminosas arbustivas como forraje suplementario en sistemas de doble propósito. *En Clavero T. (Ed) Leguminosas Forrajeras Arbóreas en la Agricultura Tropical*. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. pp. 29-40.
- McDowell L. R., J. Velásquez Pereira y G. Valle. 1997. *Minerales para Rumiantes en Pastoreo en Regiones Tropicales*. 3^{ra} ed. Centro de Agricultura Trópic. Universidad de Florida. Gainesville, FL.
- McDowell L.R. 1992. *Mineral in Animal and Human Nutrition*. Academic Press. San Diego, CA.
- Morillo D. F. 1994. Efectos de la época seca sobre la producción forrajera y bovina. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 11(2): 152-163.
- Norton B. W., B. Lowry y C. McSweeney. 1995. The nutritive value of leucaena species. *En Shelton H.M., C.M. Piggim y J.L. Brewbaker (Eds) Leucaena. Opportunities and Limitations*. Aciar Proc., No. 57. Canberra, Australia. pp. 103-111.
- Norton B. W. 1994. The nutritive value of tree legumes. *En Gutteridge C. y H Shelton (Eds). Forage Tree Legumes in Tropical Agriculture*. CAB Int., Londres, Inglaterra. pp. 177-192.
- NRC. (Nacional Research Council). 1989. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6^{ta} ed. National Academy of Science. National Research Council, Washington, D. C.
- NRC. (Nacional Research Council). 1996. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7^{ma} ed. National Academy of Science. National Research Council, Washington, D. C.
- Nyathi P., H. H. Dhliwayo y B. H. Dzowela. 1995. The response of *Leucaena leucocephala* cultivars to a tour-cycle cutting frequency under rainfed dryland conditions in Zimbabwe. *Tropical Grasslands*.
- Perkin – Elmer Corp. 1984. *Analytical methods for furnace atomic absorption spectrophotometry*. Perkin – Elmer Corp., Norwalk, CT.
- Perkin – Elmer Corp. 1982. *Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry*. Perkin – Elmer Corp., Norwalk, CT.
- 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.
- Ricketts R. E, J. R. Campbell, D. E. Weinman y M.E. Tumbleson. 1970. Effect of three calcium:phosphorus ratios on performance of growing Holstein steers. J. Dairy Sci., 53: 898-903.
- Rodríguez I. 2002. *Leucaena leucocephala*. Usos y bondades. Editorial Valero. Valera, Venezuela.
- Sánchez A., J. González Cano y J. Faría Mármol. 2007. Evolución comparada de la composición química con la edad al corte en las especies de *L. leucocephala* y *L. trichode*. Zootecnia Trop., 25(3): 233-236.
- Sánchez C. M., G. Gómez, M. Álvarez, H. Daza y J. Garmendia. 2004. Caracterización nutricional de recursos forrajeros caprinos en sistemas extensivos. Arch. Latin. Prod. Anim., 12 (Supl. 1): 63-66.
- Sánchez A., J. Faría Mármol y B. González. 2003. Efecto del aplazamiento de utilización en la asociación *Cenchrus ciliaris* (L) – *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. I. Producción y componentes de la materia seca. Arch. Latin. Prod. Anim., 11(1): 29-33.
- SAS. 1985. SAS user's guide: Statistics. Ver. 6.12, SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Steel R. G. y J. B. Torrie. 1960. Principales and Procedures of Statistics with Special Reference to the Biological Science. Mc Graw Hill, New York. NY.
- Urbano D., C. Dávila y P. Moreno. 2006. Efecto de las leguminosas arbóreas y la suplementación con concentrado sobre la producción de leche y cambio de peso en vacas doble propósito. Zootecnia Trop. 24(1): 69-83.
- Urbano D. y C. Dávila. 2005. Leguminosas arbóreas para optimizar la producción de leche y carne. En González C. y E. Soto. (Eds). Manual de Ganadería Doble Propósito. Fundación GIRARZ. Editorial Astro Data, Maracaibo. pp. 213-218.
- Whetter P. A. y D. E. Ullrey. 1978. Improved fluorometric method for determining selenium. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 61: 927-930.

Evaluación de dos criterios de utilidad en un programa de control de la infección por nematodos gastrointestinales en ovinos mediante tratamiento antihelmíntico selectivo

Gustavo Morales^{1*}, Espartaco Sandoval², Luz A. Pino¹ y Zoraida Rondón³

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Sanidad Animal, Laboratorio de Parasitología, Av. Las Delicias, Maracay 2101, Aragua, Venezuela. *Correo electrónico: gmorales@inia.gob.ve

² INIA, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Yaracuy, vía aeropuerto Las Flores, sector La Ermita, San Felipe 3201, Yaracuy, Venezuela.

³ Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Producción Animal, Sección de Ovinos. Maracay, Aragua. Venezuela.

RESUMEN

Un lote de ovinos jóvenes (borregos y borregas) seleccionados como reproductores de reemplazo e infestados con nematodos gastrointestinales bajo condiciones naturales fueron sometidos durante 9 meses a evaluaciones hematológicas: hematocrito (Ht) y hemoglobina y a exámenes coproscópicos cuantitativos mediante la técnica de McMaster. Los animales fueron clasificados considerando los resultados de la coproscopía cuantitativa en acumuladores o wormy animals (≥ 800 hpg, Tratar) y no acumuladores (< 800 hpg, no tratar). Al utilizar los valores del hematocrito se conformaron nuevamente dos grupos: $Ht \leq 22\%$, tratar y $Ht > 22\%$, no tratar. La combinación del recuento de hpg, el valor hematocrito mas el de la hemoglobina fueron usados para clasificar a los animales como resistentes, resilientes y sensibles o wormy animals, primero manualmente y luego con la ayuda del análisis discriminante se realizó la reubicación de los animales en los grupos a los cuales fueron asignados por dicho método. Los valores del hematocrito y del peso resultaron similares entre los ovinos resistentes y resilientes, pero muy superiores con respecto a los sensibles, mientras que al considerar el recuento de los hpg, los que resultaron similares fueron los animales clasificados como sensibles y los resilientes, pero en ambos casos con recuentos de los hpg muy superiores al de los resistentes. Al evaluar los criterios de selección sobre la cantidad de ovinos que requerían de tratamiento mensualmente y en total al final del ensayo, se observó que la cantidad de ovinos a tratar varia si la selección se hace considerando los resultados de la coproscopía cuantitativa, el valor hematocrito o la condición de resistente, resiliente ó sensible. El tamaño de dicha fracción resulta similar si utilizamos los resultados de la coproscopía (10,8%) o del valor hematocrito (11,5%) independientemente, pero muy inferior cuando se usa dicha información en forma conjunta (2,93%), ya que al discriminar los animales como resilientes, resistentes o sensibles, los tratamientos se concentran en este último grupo que representa la fracción mas pequeña al interior del rebaño. Se discute la utilidad de los diferentes criterios de selección de la fracción de ovinos a ser tratados, como base de una adecuada estrategia de control de la infección por estróngilos digestivos en condiciones naturales.

Palabras clave: nematodos gastrointestinales, estróngilos digestivos, hematología, resistencia, resiliencia, sensible.

Evaluation of two utility criteria in a program of control of the infection for gastrointestinal nematodes in sheep by means of selective antihelmintic treatment

ABSTRACT

A lot of sheep selected for breeding and naturally infected with gastrointestinal nematodes were submitted during nine months to hematological and quantitative coprological exams. The packed cell volume or haematocrit (Ht) determination was done by means of the microhaematocrit centrifugation method and determined the numbers

Recibido: 08/10/2007 Aceptado: 16/05/2008

of strongyle eggs per gram of faeces (epg) by the McMaster counting technique. The animals were classified by using the epg counts as wormy animals or parasite accumulators (≥ 800 epg, drench) or not wormy animals (< 800 epg, no drench). When the haematocrit values were used, two groups were established: $Ht \leq 22\%$, drench and $Ht \geq 23\%$, no drench. The combination of both criteria plus hemoglobin values, first manually and then by mean of discriminant analysis allowed to classify the sheep in the following categories: resistant (no drench), resilient (no drench), and sensible or wormy animals (drench). The haematocrit values and weight were similar between resilient and resistant sheep, but higher than the sensible. However, for the epg counts there were found no statistical differences between wormy animals and resilient, but in both cases higher than resistant. The goal of these criteria is the identification of animals within the flock that require drug treatment to reduce drug usage. No statistical differences for the numbers of sheep to be drenched were found when the criteria for selecting animals were the haematocrit (11.5%) values or the epg count (10.8%), but in both cases this fraction was higher when the sheep condition (2,93%) was incorporated. These results showed a considerable decrease in number of sheep to be drenched when the classification of an animal as resilient, resistant, or wormy animals was used. The different criteria for selecting sheep for drug treatment in a program of control against gastrointestinal nematode infestation to reduce drug usage are discussed.

Keywords: nematodes, gastrointestinal nematodes, digestive strongyle, hematology, resistant, resilient, sensible.

INTRODUCCIÓN

En los pequeños rumiantes, el parasitismo gastrointestinal se considera como una de las mayores patologías por ocasionar disminución de la fertilidad y muerte en animales jóvenes (Mandonnet, 1995), además de afectar negativamente la tasa de crecimiento, la producción de leche y de lana (Gruner y Cabaret, 1985). Esta situación ha contribuido con la frecuente práctica de los tratamientos masivos bajo la falsa premisa de que “si un animal esta parasitado, todos lo están” generalmente asociados a dosificaciones incorrectas e innecesarias en muchos animales (Morales *et al.*, 1998) favoreciendo la aparición de quimioresistencia (Coles y Roush, 1992; Viera y Cavalcante, 1999). Esta práctica de tratamientos masivos es totalmente injustificada, ya que los niveles de infección parasitaria no son similares ni siquiera en una misma raza y sexo, aunque se trate de animales en condiciones fisiológicas y edad semejantes, incluso bajo el mismo sistema de cría (Pino y Morales, 2002), ya que la agregación o sobre dispersión de los parásitos en el seno de la población hospedadora es algo común, que se traduce en que una fracción del rebaño concentra las mayores cargas y el resto esta negativo o con niveles de infección leves o moderados (Morales *et al.*, 1998; Barger, 1985; Cabaret y Morales, 1983), fracción esta que es siempre inferior al 20% del total de animales del rebaño (Roberts y Swan, 1982).

Para diversos autores los niveles de infección parasitaria por estróngilos digestivos hematófagos

se correlacionan negativamente con parámetros hematológicos como el valor del hematocrito (Luffau *et al.*, 1981; Mandonnet, 1995; Morales *et al.*, 2002). En el caso particular de los estróngilos digestivos de los pequeños rumiantes parasitados por las especies *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei* y en menor grado *Teladorsagia circumcincta* se ha observado que el valor del hematocrito y el de la hemoglobina disminuyen, como consecuencia de la pérdida de sangre, insuficiencia de la hematopoyesis, disminución del apetito, carencia de hierro y perturbación de la absorción intestinal de nutrientes. (Mandonnet, 1995). Por consiguiente, la medida del hematocrito puede ser empleada como un indicador indirecto de la resistencia a la infección parasitaria, especialmente en aquellas explotaciones en las cuales estén presentes especies parásitas hematófagas, como el *H. contortus* (Morales *et al.*, 2002). La utilización de antihelmínticos en forma incorrecta favorece la aparición de cepas resistentes que en breve tiempo ocasionan la reducción de las fuentes de control químico de los helmintos (FAO, 2003). El surgimiento de los antihelmínticos de amplio espectro se asoció a la idea de que su uso garantizaba la erradicación de los helmintos gastrointestinales de los rumiantes (Uhlinger *et al.*, 1988), pero lo que ocurrió fue que el problema del control parasitario se incrementó, producto de la aparición de cepas de parásitos quimioresistentes (Waller, 1997). El hecho de que la quimioresistencia constituya una problemática de interés mundial ha constituido un estímulo para el desarrollo de estrategias de control parasitario que

buscan disminuir los riesgos de seleccionar cepas de parásitos quimioresistentes, así como garantizar la sustentabilidad de las explotaciones mediante la disminución del uso de antihelmínticos a través del tratamiento selectivo al interior del rebaño (FAO, 2003; Morales *et al.*, 1998). Esto es factible mediante la valoración de la información clínica y de laboratorio como criterio integrado para la selección de la fracción que al interior del rebaño requiere tratamiento (Bath *et al.*, 2001; Van Wyk y Bath, 2002).

En este trabajo se consideran animales resistentes, resilientes o acumuladores de parásitos, según los siguientes conceptos. Resistencia es la habilidad del animal para resistir el establecimiento de las larvas infectantes de los estróngilos digestivos (L3) o sobre el posterior desarrollo de dichas larvas en adultos (Mandonnet, 1995; FAO, 2003). Los animales resistentes además de limitar la carga parasitaria disminuyen el nivel de postura de las hembras (Morales *et al.*, 2006a; 2006b). Resiliencia es la habilidad del animal de mantener niveles productivos aceptables a pesar de la infección parasitaria, lo cual indica que los animales resilientes son capaces de mantener sus niveles productivos aún albergando altas cargas parasitarias. Clínicamente el animal se manifiesta saludable (FAO, 2003; Morales *et al.*, 2006). El acumulador de parásitos (wormy animal) es la fracción de los animales que al interior del rebaño concentra elevadas cargas parasitarias con manifestación de síntomas clínicos y por ende, con deterioro de sus cualidades productivas (Morales *et al.*, 1998; 2006a; 2006b).

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la utilización del valor hematocrito y de los niveles de infección por estróngilos digestivos por separado y en forma conjunta para discriminar al interior del rebaño a los animales en su condición de resistentes, resilientes o sensibles, como criterio para seleccionar a la fracción de animales a ser sometidos a tratamiento antihelmíntico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo

El presente trabajo se desarrolló en la Sección de ovinos del Instituto de Producción Animal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela ubicada en El Limón, Maracay, Venezuela. La realización de este requirió de la adaptación del

protocolo experimental a las condiciones de manejo del rebaño ovino de dicho instituto.

Población ovina

La población ovina de la Sección es de 410 animales, de los cuales 182 corresponden a vientres y 14 a sementales en servicio, pero el muestreo se efectuó solamente sobre borregos y borregas pertenecientes al lote pre-seleccionado como futuros vientres o sementales, es decir, sobre animales jóvenes (< 1 año). Para la escogencia de los futuros reproductores se consideró el genotipo, peso al nacimiento, peso al destete, así como la apariencia externa (tamaño de los testículos, buenos aplomos, buena conformación y buena condición corporal, entre otros).

Manejo de los ovinos de reemplazo

Machos en crecimiento

Los machos son destetados a los 70 días de nacidos y colocados en corrales semi techados, donde recibieron pasto de corte king grass (*Pennisetum purpureum*) dos veces al día y 250 g de concentrado por animal por día. El pasto de corte era proveniente de potreros utilizados por el resto del rebaño ovino del IPA y por consiguiente, contaminado con las mismas larvas de las especies de estróngilos digestivos presentes en dicha unidad, ya que el pasto de corte suministrado fresco constituye una buena vía para la infestación en animales estabulados (Pino y Morales, 2002). El concentrado suministrado fue elaborado en la sección de ovinos y por lo general contiene nepe de cervecería, afrechillo de trigo, mezcla de minerales y sal, con un contenido aproximado de 18% de proteína cruda.

Se emplearon ovinos de las razas West African, Barbados barriga negra y de los cruces West African-Lacaune y West African-Bergamasca. En vista de que existen evidencias de que las diferencias frente a la susceptibilidad al parasitismo son incluso mayores al interior de una raza que entre razas (Baker, 1999), este efecto no fue considerado en el presente trabajo. Al momento del destete se les aplicó la vacuna cuádruple bovina y un mes después fueron inmunizados contra la rabia.

Hembras de reemplazo

Las hembras de reemplazo, luego del destete (70 días), son llevadas a pastoreo, generalmente van a

potreros de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*), en donde el lote pastorea entre 8:30 a.m. hasta las 4:30 p.m., luego son recogidas y llevadas al aprisco para ser suplementadas con aproximadamente 250 g de concentrado por animal por día. Tanto en el potrero como en el aprisco disponen de agua fresca *ad libitum*. Este lote recibe este manejo hasta alcanzar los 30 (origen tropical) ó 35 kg (mestizas con lana). Las corderas empleadas en el presente ensayo eran mestizas de las razas West African, Barbados Barriga Negra y de West African-Lacaune y West African-Bergamasca

Métodos parasitológicos

La toma de muestras de heces se realizó durante 9 meses. Dichas muestras fueron tomadas directamente del recto de cada animal en bolsas de polietileno adecuadamente identificadas y colocadas en cavas con hielo, para su traslado al laboratorio de parasitología (Instituto Nacional Investigaciones Agrícolas-Centro Nacional Investigaciones Agro Pecuarias), en donde fueron inmediatamente procesadas. Se utilizó la técnica coproscópica cuantitativa de Mc Master, empleando solución salina sobresaturada de NaCl como líquido de flotación. El conteo de los huevos de estrongilos digestivos presentes en las heces y su expresión en cantidad de huevos por gramo de heces (hpg), permitió la discriminación de los niveles de infección en las siguientes categorías (Hansen y Perry, 1994): Negativos = 0, leve = 50 a 200, moderada = 200 a 800 y alta = > 800 hpg.

Estos niveles de infección fueron utilizados para clasificar a los animales en dos grandes grupos: Grupo de no acumuladores de parásitos, que incluye desde los negativos hasta los individuos con infección parasitaria moderada. Estos animales no requieren de tratamiento antihelmíntico y Grupo de los acumuladores de parásitos: incluye solo a los individuos con infección parasitaria alta y que requieren de tratamiento antihelmíntico.

La variación observada en el número de ovinos examinados coproscópica y hematológicamente por mes, fue debida a que los animales tenían que ser movilizados hacia el sitio para la toma de las muestras y muchos de ellos ya habían defecado o lo hacían en el camino, imposibilitando la colecta individual de dicha muestra, por lo que tampoco se le tomaba la muestra de sangre. Además de cambios debido a la pre-selección de nuevos animales para ser incorporados

como futuros reproductores o la incorporación a la actividad reproductiva de aquellos animales que habían alcanzado la edad y el peso requerido.

Las desparasitaciones rutinarias llevadas a cabo en la unidad no afectan los resultados en función de los objetivos planteados, debido a que permite evaluar la calidad de la inmunidad adquirida, puesto que ésta es dependiente del número y de la intensidad de los estímulos antigénicos recibidos por el hospedador, ya que los animales sometidos a infestaciones repetidas reciben una estimulación antigénica más eficaz, que favorece un mejor desarrollo de la resistencia (Mandonnet, 1995). Al permitir la re-infección de animales desparasitados podemos disponer de un criterio de evaluación de gran importancia, como lo es la información aportada por la carga parasitaria de re-infección, lo cual fue garantizado al realizar los muestreos a los 30 días posteriores al último tratamiento antihelmíntico.

Métodos hematológicos

La sangre fue extraída directamente de la vena yugular, empleando tubos vacutainer que contenían anticoagulante EDTA (Hansen y Perry, 1994). La toma de las muestras de sangre se realizó simultáneamente con la toma de las muestras de heces cuyo número es suministrado en las tablas de resultados y corresponden a valores globales de los nueve meses, usando como criterio de discriminación el nivel de infestación.

Los valores del hematocrito fueron determinados por la técnica del micro-hematocrito por centrifugación (Schalm, 1964; IICA-OEA, 1987) y los de hemoglobina por la técnica de cianometahemoglobina (Coles, 1968). Los valores de la hemoglobina fueron expresados en gramos por decilitro (g/dL) y los del hematocrito en porcentaje.

Los animales fueron clasificados de acuerdo al valor hematocrito en las siguientes categorías: Animales que requieren tratamiento antihelmíntico con valores iguales o menores a 22% y animales que no requieren tratamiento antihelmíntico con valores mayores a 22%.

Clasificación de los animales utilizando la información aportada por la coproscopia cuantitativa y el valor hematocrito.

Para la clasificación inicial de los ovinos como resistentes, resilientes o acumuladores de parásitos se

utilizaron los resultados de la coproscopía cuantitativa y el valor hematocrito, de acuerdo al siguiente esquema (Cuadro 1).

Análisis de los datos

En base a las consideraciones anteriores, es decir, nivel de infección parasitaria y valor hematocrito se realizó la clasificación manual de los animales (grupos a priori) en las diferentes categorías. Luego se recurrió al análisis discriminante, pero incluyendo a la variable hemoglobina. Esta clasificación preliminar se utilizó para la obtención de las funciones discriminantes correspondientes a cada categoría, las cuales fueron utilizadas para la reubicación definitiva de cada animal bajo la condición de resistente, resiliente o acumulador de parásitos.

Para establecer la fracción de animales a ser tratados mensualmente, con el fin de evaluar el criterio de selección de la fracción de animales que al interior del rebaño requiere tratamiento, se realizaron las siguientes codificaciones (Cuadro 2).

Para la comparación entre las frecuencias de animales seleccionados para tratamiento por nivel de infección, hematocrito o por la combinación de ambos criterios se utilizó la prueba de ji-cuadrado primero en forma conjunta y luego en tablas de contingencia de 2 x 2.

Para la comparación entre los valores del peso, hematocrito y de la hemoglobina en los ovinos clasificados como resistentes, resilientes o sensibles se empleó el análisis de varianza de Kruskal-Wallis (Morales y Pino, 1987; 1995), prueba no paramétrica de amplio uso en parasitología. Como prueba de rangos múltiples se utilizó la mínima diferencia significativa. En todos los análisis estadísticos se usó el paquete InfoStat (2004) y se estableció como nivel de significación $P < 0,05$ en el caso del análisis de varianza de Kruskal – Wallis y $P < 0,01$ para la prueba de Ji – Cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El control de la infección por nematodos gastrointestinales basados en el empleo de antihelmínticos bajo el esquema de tratamientos

Cuadro 1. Clasificaron del ovino según su carga parasitaria.

Carga Parasitaria	Valor	
	Hematocrito	Clasificación
	%	
Alta	< 22	Acumulador
Alta	> 23	Resiliente
Negativo , leve ó moderada	> 23	Resistente

Cuadro 2. Código y acciones a tomar para tratar los animales.

Condición	Código (Acción)
<u>Niveles de Infestación</u>	
Altos Niveles de Infección Parasitaria	1 (Tratar)
Negativos, leves o moderados	0 (No Tratar)
<u>Valor hematocrito</u>	
Hematocrito < 23	1 (Tratar)
Hematocrito > 23	0 (No Tratar)
<u>Condición</u>	
Sensibles	1 (tratar)
Resistentes y resilientes	0 (No Tratar)

masivos presenta variados inconvenientes, que incluyen desde los riesgos para la salud humana por la presencia de residuos tóxicos en la carne (Sundlof, 1989), contaminación ambiental con repercusiones ecológicas por efectos nocivos de algunos químicos como las ivermectinas sobre la fauna edáfica (Mandonnet, 1995) hasta la aparición de cepas de parásitos quimioresistentes (FAO, 2003).

La selección de un programa de control estratégico de las parasitosis es de índole prioritaria entre las medidas sanitarias en la producción de rumiantes (Iglesias, 2002), de ahí que enfoques integradores de la información cobren mayor importancia en el control de la infección por estróngilos digestivos en rumiantes, ya que independientemente de la raza, sexo y edad, la heterogeneidad de la susceptibilidad frente a los estróngilos digestivos es una realidad que es necesario conocer para poder enfrentar racionalmente el problema parasitario. El uso de antihelmínticos no debe sustituir las buenas prácticas de manejo y deben ser usados solo cuando son necesarios y en buenas prácticas de uso (Fernández, 2002)

Entre los animales que albergan las mayores cargas tan solo unos pocos ven afectadas sus cualidades productivas y expresan sintomatología clínica (acumuladores de parásitos), mientras que otros individuos a pesar de sus niveles de infección elevados no ven afectadas ni su salud ni sus cualidades productivas (resilientes), de ahí que una alternativa interesante para el control parasitario sea la realización de tratamientos antihelmínticos selectivos sobre aquellos animales cuyas cualidades productivas se ven afectadas por efecto de la infección parasitaria (Morales *et al.*, 2006a; 2006b).

En el Cuadro 3 se observa que para las variables peso y valor hematocrito no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ovinos resilientes y resistentes, correspondiéndole los valores más bajos a la fracción de sensibles. Al comparar los valores de la variable hemoglobina se constató la existencia de diferencias significativas entre los tres grupos, correspondiéndole nuevamente el valor más bajo a los animales clasificados como sensibles. Desde el punto de vista productivo vemos la similitud entre los animales resilientes y resistentes como lo evidencia la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los pesos de ambas categorías, ni tampoco del valor hematocrito, sobre todo si

consideramos a este último parámetro como un buen indicador indirecto de resistencia frente a la infección parasitaria (Mandonnet, 1995). Este último criterio es de suma utilidad en explotaciones en las cuales se han reportado la presencia de especies hematófagas como el *Haemonchus contortus*, como en el presente caso (Morales, 1980). Al considerar el recuento de huevos de estróngilos digestivos por gramo de heces, se encontraron valores similares entre sensibles y resilientes, en ambos casos muy superiores a los valores correspondientes a los animales resistentes. Este resultado nos indica que al interior de un rebaño los individuos con mayor poder contaminante para el pastizal se concentran en las fracciones de sensibles y de resilientes (FAO, 2003). Estos últimos en un programa de tratamientos selectivos al no ser incluidos en la fracción a ser tratada nos permitiría mantener a nivel del potrero suficiente cantidad de larvas en refugio, lo cual es de utilidad si queremos evitar la aparición de quimioresistencia (FAO, 2003)

En el Cuadro 4 se observa que al realizar la selección de la fracción a ser sometida a tratamiento antihelmíntico, utilizando la coproscopía la fracción a ser tratada únicamente en un mes alcanzó 39%, pero en los meses restantes no alcanzó 25%, al usar el hematocrito la fracción a ser tratada se mantuvo por debajo del 20%, pero al utilizar el criterio de la condición, es decir la discriminación en animales resistentes, resilientes y sensibles, dicha fracción no alcanzó el 10% en ninguno de los meses.

Al efectuar la comparación entre las frecuencias de ovinos que requieren tratamiento de acuerdo al método de selección de dicha fracción, esta resultó estadísticamente significativa al considerar los tres criterios utilizados en forma simultánea ($P < 0,01$). Al realizar la comparación entre un par de criterios a la vez, se encontraron diferencias entre la selección por valor hematocrito y por condición ($P < 0,01$) y entre la selección por nivel de infección y condición ($P < 0,01$), mientras que la comparación entre la selección en base al nivel de infección y al valor hematocrito arrojó resultados similares (Cuadro 4). Es de hacer notar que la fracción más pequeña se obtuvo al utilizar como criterio de selección a la combinación de la información aportada por el valor hematocrito y el recuento de huevos de estróngilos digestivos por gramo de heces, aquí denominada condición (Cuadros 4 y 5). Los resultados evidencian que el uso de la información aportada por el solo uso del

Cuadro 3. Comparación del peso, hematocrito (Ht), hemoglobina (hb) y recuentos de huevos de estrongilos digestivos (Hpg) en ovinos clasificados como resistentes, resilientes o sensibles.

Condición	N†	Peso kg	Ht %	Hb g/dl	Hpg n/gr
Resistente	437 (91,42%)	26,28b‡	27,16b	12,11c	137,3a
Resiliente	27 (5,65%)	24,71b	26,15b	9,67b	2.401,8b
Sensible	14 (2,93%)	21a	18,0a	7,4a	3.675.0b

† N: número de muestras analizadas durante los 9 meses de duración del ensayo

‡ Valores con letras distintas en la columna son diferentes ($P \leq 0,05$).

Cuadro 4. Fracción de ovinos que requieren tratamiento de acuerdo al criterio de selección empleado en relación a los meses del año.

Variable	E	F	M	J	J	A	S	O	N	Total
<u>Nivel Infestación</u>										
Acumulador	16	10	1	3	16	0	1	4	1	52
No acumulador	25	35	38	56	85	46	49	44	48	426
ORTM†, %	39,0	22,2	2,6	5,1	15,9	0	2	8,3	1,8	10,88
<u>Valor Ht</u>										
Ht<25	6	8	3	7	20	5	1	3	2	55
Ht>25	35	37	36	52	81	41	49	45	47	423
ORTM, %	14,6	17,7	7,7	13,5	19,8	10,9	2	6,3	4,1	11,50
<u>Condición</u>										
Sensibles	2	4	0	0	6	0	1	0	1	14
Resilientes	7	5	1	3	8	0	0	3	0	27
Resistentes	32	36	38	56	87	46	49	45	48	437
ORTM, %	4,9	8,9	0	0	5,9	0	2	0	2	2,93

† ORTM: Ovinos que requieren tratamiento mensual

hematocrito permite que una parcela de animales con altas cargas parasitarias no sean tratados, los cuales serían básicamente los resilientes, así como el tratamiento innecesario de animales con bajas cargas parasitarias, pero con bajo valor del hematocrito. En el caso de la coproscopía, el número de animales a tratar se concentra exclusivamente en aquellos animales que coproscópicamente lo requieren independientemente de que la carga parasitaria le este afectando (sensibles) o no su salud (resilientes). Este sistema garantiza una drástica reducción de la contaminación del pastizal, ya que además del tratamiento de los sensibles se desparasitan también los resilientes, lo que implica que se afectan las poblaciones de parásitos en refugio y por consiguiente, se incrementan los riesgos de aparición de cepas de estrongilos quimioresistentes (FAO, 2003) En cuanto al uso de la combinación de información, vemos como al recurrir al tratamiento

de tan solo aquellos animales que coproscópicamente (altas cargas) y hematológicamente ($Ht < 23$) lo requieren, el número de animales a tratar se reduce, ya que el tratamiento se concentra únicamente en la fracción de sensibles. Este último método permite la presencia de un número de larvas en refugio en el pastizal y en cantidad suficiente para limitar el riesgo de quimioresistencia (FAO, 2003), además de garantizar la remoción de las altas cargas parasitarias presentes en los animales con condición de sensibles. Esta metodología de control de las estrongilosis digestivas permite el disponer de información que puede ser utilizada como un criterio de selección de reproductores por resistencia frente a la infección por estrongilos digestivos, debido a su naturaleza genética y por consiguiente hereditaria (Mandonnet, 1995; Gray, 1997), mediante la remoción del rebaño de aquellos individuos que se comporten como sensibles

Cuadro 5. Comparación entre las frecuencias totales de ovinos que requieren tratamiento antihelmíntico de acuerdo al método de selección.

	Tratar	No Tratar
Nivel de Infección	52 (10,8%)**	426 (89,1%)
Valor Hematocrito, %	55 (11,5%)**	423 (88,5%)
Condición†	14 (2,9%)**	464 (97,1%)

† Condición: Sensibles (Tratar), Resistentes y Resilientes (No Tratar).

** Asteriscos indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,01$)

(Morales *et al.*, 2004,2005), además de garantizar el uso del recurso forrajero durante todo el año con disminución de la frecuencia de tratamientos y de la cantidad de animales a ser tratados al interior del rebaño (Morales *et al.*, 2007)

CONCLUSIONES

1. La realización de tratamientos selectivos contribuye con la disminución de los costos de producción, al reducir la cantidad de dosis de antihelmínticos requeridas y economizar en mano de obra y tiempo.
2. Es un sistema amigable con el ambiente al disminuir la cantidad de heces con residuos químicos cuya presencia afecta negativamente a la fauna edáfica, tal como ha sido reportado con las lactonas macro cíclicas.
3. Se limita el riesgo de la aparición de cepas de parásitos quimioresistentes.
4. Se disminuye la cantidad de carne y leche disponible en el comercio con residuos químicos, lo cual es de gran importancia en Salud Pública.

LITERATURA CITADA

- Baker R. 1999. Genetic resistance to endoparasites in sheep and goats in the tropic and evidence for resistance in some sheep and goats breeds in sub-humid coastal Kenya. *Ani. Gen. Res. Inf.*, 24: 13-30.
- Barger J. 1985. The statistical distribution of trichostrongylid nematodes in grazing lambs. *Inter. J. Parasitol.*, 15: 645-649.
- Bath G., J Hansen, R Krecek, J. Vanwyk y A Vatta. 2001. Sustainable approaches for managing haemonchosis in sheep and goats. Final Report FAO technical cooperation in Africa. Project No. TCP/ SAF/8821 (a), FAO, Roma.
- Cabaret J. y G. Morales. 1983. Stratégie comparée des infestations naturelles par *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata* chez les ovins. *Parasitol.*, 25: 171-177.
- Coles E. 1968. Patología y Diagnostico Veterinarios. Editorial Interamericana, México.
- Coles G. y R Roush. 1992. Slowing the spread of anthelmintic resistance nematodes of sheep and goats in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 130: 505-510.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. Dirección de Producción y Sanidad Animal. N° 157 Dirección de Producción y Sanidad Animal, Roma.
- Fernández A. 2002. Residuos de antihelmínticos en carne y leche. Reunión de especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. 11° Encuentro de Veterinarios endoparasitólogos rioplatenses. Tandil, Argentina.
- Gray G. 1997. Genetic resistance to haemonchosis in sheep. *Parasitol. Today*, 8: 253-255.
- Gruner L. y J. Cabaret. 1985. Current methods for estimating parasite populations: potential and limits to control gastrointestinal and pulmonary strongyles of sheep on pasture. *Livest. Prod. Sci.*, 13: 53-70.
- Hansen J. y B. Perry. 1994. The epidemiology diagnosis and control of helminth parasites of

- ruminants. Inter. Lab. for Research on Animal Disease. Nairobi, Kenya.
- Iglesias L. 2002. Impacto ambiental de antiparasitarios de efecto prolongado. Reunión de especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. 11° Encuentro de Veterinarios endoparasitólogos rioplatenses. Tandil, Argentina.
- InfoStat. 2004. InfoStat. Grupo InfoStat F.C.A. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Luffau G., P. Perry y A. Petit. 1981. Self-cure and immunity following infection and re-infection with ovine haemonchosis. *Vet. Parasitol.*, 9: 57-67.
- IICA-OEA. 1987. Técnicas para el diagnóstico de babesiosis y anaplasmosis bovinas. Primer informe del comité de expertos sobre hematozoarios del área Sur del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Turrialba, Costa Rica.
- Mandonnet N. 1995. Analyse de la variabilité génétique de la résistance aux strongles gastro-intestinaux chez les petits ruminants. Eléments pour la définition d'objectifs et de critères de sélection en milieu tempéré ou tropical. Thèse Docteur en Sciences. Université de Paris XI, Orsay, Francia.
- Morales G 1980. Helmintos gastrointestinales en un rebaño de ovinos. *Veterinaria Trop.*, 5(1): 69-71.
- Morales G. y L. A. Pino. 1987. Parasitología Cuantitativa. Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. Caracas, Venezuela.
- Morales G. y L. A. Pino. 1995. Parasitometría. Editorial Universidad de Carabobo, Valencia, Veenezuela.
- Morales G., L. A. Pino, E Sandoval y L Moreno. 1998. Importancia de los animales acumuladores de parásitos (wormy animals) en rebaños de ovinos y caprinos naturalmente infectados. *Analecta Vet.*, 18(1/2): 1-6.
- Morales G., L.A Pino, E Sandoval, L Moreno, D. Jiménez y C. Balestrini. 2001. Dinámica de los niveles de infección por estróngilos digestivos en bovinos a pastoreo. *Parásitología al día*, 25: 115-120.
- Morales G., L. A. Pino, E. León, Z. Rondón, A Guillen, C. Balestrini y M Silva. 2002. Relación entre los parámetros hematológicos y el nivel de infestación parasitaria en ovinos de reemplazo. *Veterinaria Trop.*, 27(2): 87-98.
- Morales G., E. Sandoval, L. A. Pino y D. Jiménez. 2004-2005. Efecto del padrote ovino sobre el nivel de infección de sus hijas por parásitos intestinales. *Veterinaria Trop.*, 29-30(1-2): 47-59.
- Morales G., L. A. Pino, E. Sandoval, J. Florio y D. Jiménez. 2006a. Niveles de infestación parasitaria, condición corporal y valores de hematocrito en bovinos resistentes, resilientes y acumuladores de parásitos en un rebaño y acumuladores de parásitos en un rebaño Criollo Río Limón. *Zootecnia Trop.*, 24(3): 333-346.
- Morales G. y L. A. Pino, E. Sandoval, J. Florio y D. Jiménez. 2006b. Niveles de infestación parasitaria y condición corporal en bovinos doble propósito infestados en condiciones naturales. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7(4). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040406/040620.pdf>.
- Morales G., E. Sandoval, L. A. Pino, C. Balestrini y F. García. 2007. El control de la infestación por estróngilos digestivos en rumiantes domésticos bajo principios de la agricultura de precisión. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 8(8). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080807/080716.pdf>.
- Pino L. A. y G. Morales. 2002. Distribución y abundancia de los huevos de estróngilos digestivos y de los ooquistes de *Eimeria* spp. en las heces de ovinos estabulados. *Veterinaria Trop.*, 27(1): 5-15.
- Roberts J. y R. Swan. 1982. Quantitative studies of ovine haemonchosis. The interpretation and diagnostic significance of the changes in serial egg counts of *Haemonchus contortus* in a sheep flock. *Vet. Parasitology*, 9: 211-216.
- Schalm O. 1964 *Hepatología Veterinaria*. Unión Tipográfica Editorial Americana, México.

- Sundlof S.F. 1989. Drug and chemical residues in livestock. *Veterinary Clinical North America, Food Animal Practice*, 5: 411-449.
- Uhlinger C., J. Fetrow y C. Johnstone. 1988. A field evaluation of benzimidazole drugs in a herd of diary goats. *J. Vet. Inter. Med.*, 2: 113-116.
- Urquhart G., J. Armour, J. Duncan, A. Dunn y F. Jennings. 1999. *Veterinary Parasitology*. Blackwell Science, Glasgow, Scotland.
- Viera L. y A. Calvacante. 1999. Anthelmintic resistance in goat herds in the state of Ceará. *Pesq. Vet. Bra.*, 19: 99-103.
- Van Wyk J. y G. Bath. 2002. The Famacha system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Vet. Res.*, 33: 509-529.
- Waller P. 1997. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitology*, 72: 391-412.

Extracto de *Melia azedarach* y aceites esenciales de *Cinnamomun zeylanicum*, *Mentha piperita* y *Lavandula officinalis* como control de *Paenibacillus larvae*

Liesel B. Gende^{1,2,3}, Judith Principal^{4*}, Matías D. Maggi², Sara M. Palacios⁵,
Rosalía Fritz¹ y Martín J. Eguaras^{2,3}

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3350. (7600) Mar del Plata. Buenos Aires. Argentina.

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

³ CONICET. Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata. Buenos Aires. Argentina.

⁴ Estación de Apicultura, Decanato de Ciencias Veterinarias. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela. *Correo electrónico: jprincipal@ucla.edu.ve

⁵ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Católica de Córdoba. Córdoba, Argentina.

RESUMEN

Loque americana es una enfermedad que afecta a larvas y pupas de abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) y es causada por la bacteria *Paenibacillus larvae*. La actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de paraíso (*Melia azedarach*) y de los aceites esenciales de canela (*Cinnamomun zeylanicum*), menta (*Mentha piperita*) y lavanda (*Lavandula officinalis*) fue evaluada contra dicha bacteria. Frutos inmaduros de paraíso triturados fueron tratados mediante extractor Soxhlet, usando etanol como solvente, obteniéndose una solución viscosa, la cual fue diluida posteriormente en agua estéril. Los aceites esenciales fueron extraídos mediante el método de destilación por arrastre con vapor y los destilados fueron conservados a 5°C. La actividad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de dilución seriada, determinándose la concentración inhibitoria mínima (CIM). Para ello, se utilizaron concentraciones crecientes desde 200 hasta 10.000 ppm para el extracto de paraíso y desde 12,5 hasta 2.000 ppm para los aceites esenciales. Los resultados obtenidos demostraron que el aceite esencial de canela exhibió mayor actividad antimicrobiana contra el patógeno con un valor de CIM entre 25 y 50 µg/mL, mientras que, el extracto de paraíso tuvo la menor actividad antimicrobiana con una CIM de 5.000 µg/mL. Los aceites de menta y lavanda presentaron valores intermedios de concentraciones inhibitorias mínimas. Este trabajo constituye uno de los primeros reportes en donde se investiga el uso comparativo de sustancias naturales como aceites esenciales y extractos vegetales como el de paraíso para el tratamiento de *P. larvae* para ser utilizados como alternativas naturales e inocuas para el tratamiento de colmenas afectadas por Loque Americana.

Palabras clave: *Melia azedarach*, actividad antimicrobiana, *Paenibacillus larvae*, aceites esenciales

Melia azedarach* extract and essential oils of *Cinnamomun zeylanicum*, *Mentha piperita* and *Lavandula officinalis* as a control of *Paenibacillus larvae

ABSTRACT

In honey bees (*Apis mellifera* L.), American foulbrood is caused by the infection of the larvae and pupae with the bacteria *Paenibacillus larvae*. The antimicrobial activities *in vitro* of Chinaberry extract (*Melia azedarach*) and the essential oils of cinnamon (*Cinnamomun zeylanicum*), mint (*Mentha piperita*), and lavender (*Lavandula officinalis*) were evaluated against this bacteria. Immature fruits of crushed Chinaberry were treated with ethanol as a solvent with a Soxhlet extractor, being obtained a viscous solution which was posteriorly diluted with sterile

water. The essential oils were extracted using a distillation with steam method and the distilled fluids were preserved at 5°C. The antimicrobial activity was evaluated using the serial dilution methods to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). To do this, it was used increasing concentrations from 200 to 10 000 ppm of Chinaberry extract and from 12.5 to 2 000 ppm of essential oils. The obtained results demonstrated that the essential oil of cinnamon exhibited the greatest antimicrobial activity against the pathogen, with a MIC values from 25 to 50 g/mL, while the Chinaberry extract had low antimicrobial activity with a MIC value of 5 000 g/mL. The essential oils of mint and lavender presented intermediate values of MIC. This work constitutes one of the first reports where the comparative use of natural substances is investigated as essential oils and vegetable extracts as Chinaberry for the treatment of *P. larvae* to be used as natural and innocuous alternative for the treatment of American foulbrood in affected beehives.

Keywords: *Melia azedarach*, antimicrobial activity, *Paenibacillus larvae*, essential oils.

INTRODUCCIÓN

La loque americana es una enfermedad bacteriana que afecta a las abejas (*Apis mellifera* L.), cuyo agente causal es *Paenibacillus larvae* (Genersch *et al.*, 2006), una bacteria capaz de formar endosporas muy resistentes. Este patógeno afecta a la cría y a nivel de larva individual la infección es fatal, mientras que las abejas adultas no son susceptibles a la enfermedad. Es una de las patologías más graves que afecta a las colonias de abejas produciendo severos daños y en consecuencia, grandes pérdidas económicas en el sector apícola a escala mundial (Shimanuki, 1997). Estos daños económicos pueden evaluarse tanto por la cantidad de colonias con abejas muertas, como por el trabajo adicional que la presencia de la enfermedad produce al apicultor, así como por los costos de las campañas sanitarias que se establecen para mantener una prevalencia aceptable de la patología. Para cada país y para cada período de tiempo esos montos pueden variar, siendo dificultoso realizar un cálculo económico estimativo.

La mayoría de los tratamientos empleados para la prevención y el control de esta enfermedad radica fundamentalmente en el uso de antibióticos de amplio espectro, los cuales en la mayoría de los casos han sido aplicados por los productores en forma continua y desmedida, incrementando el riesgo de aparición de cepas resistentes (Miyagi *et al.*, 2000), y generando residuos en la miel y otros productos y sub-productos de la colmena, lo cual afecta la calidad y la comercialización de los mismos (Bogdanov, 2006).

Los pesticidas naturales representan un método alternativo para repeler insectos, proteger los cultivos y controlar diferentes plagas, utilizados de un modo u otro para proteger los alimentos. En este sentido,

el control de parásitos y patógenos de las abejas melíferas con sustancias naturales es de fundamental importancia, ya que la miel es el principal producto de la colmena y debería ser natural y libre de cualquier contaminante (Eguaras *et al.*, 2005). Los aceites esenciales y compuestos naturales exhiben comparativamente baja toxicidad, tanto en mamíferos como en las abejas, poseen menos efectos nocivos al medio ambiente y reciben gran aceptación por parte del público (Isman, 2001). Por este motivo, los productos botánicos para el manejo de plagas tienen gran importancia en la actualidad. Así, del árbol de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) se extraen diversos compuestos secundarios, siendo la azadiractina el de mayor importancia, actuando como repelente, antialimentario y retardando el crecimiento de los insectos (Mordue y Blackwell, 1993). Las sustancias contenidas en el nim han sido utilizadas para el control del ácaro *Varroa destructor*, no observándose mortalidad tanto en el ácaro como en abejas en las pruebas de toxicidad aguda, mientras que el extracto crudo presentó repelencia frente a varroa (González-Gómez *et al.*, 2006). Diversas investigaciones se han realizado recientemente (Bailac *et al.*, 2006; Fuselli *et al.*, 2006a; Gende *et al.*, 2008), orientadas a prevenir y controlar patógenos como *P. larvae* y *Ascosphaera apis* en colonias de abejas, abocadas a reducir el uso de compuestos químicos que aparte de ser ineficientes, contaminan los productos generados en la colmena como la miel, la cera, la jalea real, el polen y el propóleos.

Los aceites esenciales provenientes de plantas aromáticas como tomillo (*Thymus vulgaris*), pasto limón (*Cymbopogon citratus*), orégano (*Origanum vulgare* L.), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), albahaca (*Ocimum*

basilicum L.), entre otros (Alippi *et al.*, 1996; Albo *et al.*, 2001, 2003), juegan un rol relevante para el control del agente etiológico de la loque americana, arrojando resultados satisfactorios, tendientes a reducir los niveles de resistencia de la bacteria en la colonia de abejas. Es por ello que la incorporación de productos naturales alternativos, a través de un programa de manejo integrado conjuntamente al uso de sustancias químicas, podría contribuir a disminuir la contaminación de los productos de la colmena. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de paraíso (*Melia azedarach*) y de los aceites esenciales derivados de canela (*C. zeylanicum*), menta (*M. piperita*) y lavanda (*L. officinalis*) contra *Paenibacillus larvae*, patógeno causante de la loque americana en *Apis mellifera* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas bacterianas de *P. larvae* fueron aisladas de cuadros de cría de *Apis mellifera* con síntomas clínicos de loque americana correspondientes a tres localidades de la provincia de Buenos Aires, Argentina: La Plata (34°55'S y 57°57'O), Cobo (37°48'S y 57°38'O) y Sierra de los Padres (37°0'S y 57°0'O). Los aislamientos fueron realizados en agar MYPGP (Mueller Hinton, extracto de levadura-glucosa-piruvato de sodio-fosfato ácido de potasio) y para inhibir el crecimiento de *P. alvei* el medio fue suplementado con 9 µg/mL de ácido nalidíxico. Las placas se incubaron en microerofilia (5-10% de CO₂). Estas cepas fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas según Gordon *et al.* (1973) y Alippi (1991, 1992), a través del uso de API kits (Api System, BioMérieux S.A., Marcy l'Étoile, FR), así como por PCR de un fragmento de 700 pb del gen que codifica para el ARNr 16S del bacilo. Se conservaron en agar MYPGP y se almacenaron con glicerol al 20% v/v hasta su utilización en el ensayo.

Preparación del inóculo del microorganismo

Las células vegetativas de *P. larvae* previamente cultivadas en agar MYPGP durante 48 h a 35°C ± 0,5 fueron suspendidas en agua bidestilada estéril, ajustando la concentración hasta una escala 0,5 de Mac Farland (10⁷-10⁸ cel/mL) (FDA, 1998).

Pruebas de inhibición por dilución en caldo

Diluciones seriadas del extracto de paraíso y de los aceites esenciales fueron realizadas en

caldo MYT (Mueller-Hinton-extracto de levadura-tiamina) desde 200 a 10.000 ppm y 12,5 a 2.000 ppm, respectivamente. Posteriormente, la suspensión bacteriana estandarizada fue agregada e incubada a 35°C ± 0,5, durante 48 h. Todos los tubos fueron examinados a fin de determinar la menor concentración del agente antimicrobiano, que produjo inhibición del crecimiento microbiano, detectada por la falta de turbidez considerada como concentración inhibitoria mínima (CIM) (Lennette *et al.*, 1987).

Pruebas de inhibición en placa

La prueba de inhibición en placa fue realizada para confirmar los datos obtenidos mediante dilución seriada en tubo para el caso del extracto de paraíso debido a que los tubos de mayor concentración mostraban turbidez propia del extracto, aún en ausencia de suspensión bacteriana no permitiendo determinar con nitidez la CIM. Cada cepa bacteriana fue sembrada sobre la superficie del medio de cultivo (sólido y con el extracto de paraíso incorporado en concentraciones desde 1.250 a 10.000 ppm), las placas fueron incubadas en posición invertida a 35°C ± 0,5. Después de 48 h de incubación se observó ausencia o presencia del crecimiento microbiano mediante el desarrollo de colonias en placa.

Pruebas de inhibición para los controles

En el ensayo se realizaron controles positivos y negativos del caldo MYT, del agar MYPGP y del emulsionante. Los ensayos fueron realizados por triplicado para cada cepa y para cada tratamiento.

Los datos colectados de la CIM fueron analizados estadísticamente usando el PROC GENMOD (SAS, 2000), a fin de determinar las diferencias en las proporciones de inhibición entre los aceites.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversos autores (Alonso, 1998; Wagner *et al.*, 1996) han demostrado que los aceites esenciales están constituidos principalmente por compuestos terpenicos y fenólicos, siendo estos últimos los responsables de las propiedades antimicrobianas (Sari *et al.*, 2006) por su capacidad de afectar la permeabilidad de la membrana bacteriana, la cual restringe la difusión de los compuestos hidrofóbicos a través de su cobertura lipopolisacárida. Por tal motivo, la elección de los aceites esenciales utilizados en esta investigación y

su posterior comparación con el extracto de paraíso estuvo basada en la composición química de los mismos, de modo de abarcar aquellos constituidos mayoritariamente por compuestos terpénicos como la menta y la lavanda (Alippi *et al.*, 1996, Alonso, 1998) y compararlo con un aceite con alto porcentaje de compuestos con núcleo bencénico, como es el caso de la canela (Floris *et al.*, 1996).

El análisis fitoquímico del extracto etanólico de paraíso utilizado en este trabajo reveló ausencia de alcaloides, pero si se observaron flavonoides, lignanos y triterpenos. En su composición están presentes vainillin, 4-hidroxi-3-metoxicinanaldehído, (±)-pinosresinol, escopoletina y meliartenina, siendo este último el más efectivo contra los insectos (Carpinella *et al.*, 2002, 2003, 2005). Por su parte, el análisis cromatográfico de los ácidos grasos de la fracción menos polar del extracto mostró que los compuestos mayoritarios fueron los ácidos linoléico y oléico, mientras que en las fracciones volátiles del mismo los componentes principales fueron éter etil butírico, 1,1 dietoxibutano, vainillina y espathulenol (Carpinella *et al.*, 1999).

En el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos con relación a la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de paraíso y de los aceites esenciales de canela, lavanda y menta frente a tres cepas de *P. larvae*, donde se observo que el aceite de canela exhibió la mayor actividad antimicrobiana contra la bacteria *P. larvae*, con valores entre 25 y 50 $\mu\text{g/mL}$, observándose la menor actividad antimicrobiana con el extracto etanólico de paraíso.

Estos resultados son congruentes con los obtenidos por Fuselli *et al.* (2006b) quienes evaluaron la actividad antimicrobiana individual de los aceites esenciales de canela y tomillo y el principal componente de esta última especie, el timol, así como el efecto sinérgico de la mezcla, frente a la bacteria *P. larvae*, reportando valores de CIM para canela, tomillo (*T. vulgaris*) y timol de 75, 216 y 133,3 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, mientras que para la mezcla se obtuvo una CIM promedio de 67,5 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando un efecto sinérgico de la misma. En esta misma vertiente, Alippi *et al.* (1996) y Albo *et al.* (2003) evaluaron la actividad antimicrobiana de diferentes aceites esenciales con relación a este microorganismo, reportando valores entre 50 y 100 ppm para el aceite de pasto limón (*Cymbopogon citratus*), mientras que la actividad inhibitoria observada para el eucalipto (*Eucalyptus globulus*) fue superior a las 700 ppm, demostrando que aceites esenciales con diferente composición química varían en relación a su grado de inhibición (Gende *et al.*, 2006). En este estudio, los aceites constituidos principalmente por compuestos terpénicos exhibieron una menor actividad antimicrobiana en relación a aquellos que tienen alto porcentaje en compuestos fenólicos. De igual manera, los aceites esenciales presentaron valores más bajos de concentración inhibitoria mínima comparados con el extracto de Paraíso.

Los extractos alcohólicos impiden la disolución de sustancias gomosas y pépticas y al mismo tiempo facilitan la disolución de alcaloides y esencias (Alonso, 1998), lo que podría explicar la baja acción antimicrobiana de los extractos con relación a los aceites esenciales, adicionalmente a la volatilidad

Cuadro 1. Concentración inhibitoria mínima de aceites esenciales de canela, lavanda, menta piperita y del extracto etanólico de paraíso contra tres cepas de *Paenibacillus larvae*

Especies vegetales	Cepas		
	Mar del Plata	Cobo	Sierra de los Padres
	----- $\mu\text{g/mL}$ -----		
Canela (<i>C. zeylanicum</i>)	38a†	50b	38a
Lavanda (<i>L. officinalis</i>)	374ab	400b	350ab
Menta piperita (<i>M. piperita</i>)	650b	650b	700b
Extracto de paraíso (<i>M. azederach</i>)	5.000a	5.000a	5.000a

† No se observaron diferencias significativas ($P > 0,5763$) en las proporciones de inhibición entre las tres cepas para un mismo aceite o extracto. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,001$) de promedios entre aceites o extracto para una misma cepa.

de éstos últimos (Inouye *et al.*, 2006). Por su parte, Nanasombat y Lohasupthawee (2005) en estudios realizados con extractos vegetales y aceites esenciales de diferentes plantas aromáticas determinaron que, en general, la actividad inhibitoria de los aceites fue superior a la de los respectivos extractos etanólicos. Este trabajo constituye el primer reporte en este país relacionado con el uso comparativo de aceites esenciales y extracto etanólico de paraíso para controlar la bacteria *P. larvae*.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que el aceite de canela exhibió mayor actividad antimicrobiana frente a la bacteria *P. larvae*, con un valor de CIM entre 25 y 50 µg/mL, mientras que el extracto etanólico de paraíso (*M. azedarach*) demostró tener menor actividad antimicrobiana, con un valor de CIM de 5.000 µg/m. Los aceites de menta (*M. piperita*) y lavanda (*L. officinalis*) presentaron valores intermedios de concentraciones inhibitorias mínimas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su profunda gratitud a las Lic. Claudia Faverin y Adriana Cano por la realización de los análisis estadísticos. Un especial agradecimiento a SECYT-MEC por el financiamiento otorgado y al Instituto Clemente Estable, Montevideo, Uruguay, por la realización de los análisis mediante PCR para la identificación genotípica de los aislamientos usados en esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Albo G.N., E. Cerimele, M.S. Re, M. De Giusti y A. Alippi. 2001. Ensayos de campo para evaluar la efectividad de algunos aceites esenciales. *Vida Apícola*, 108: 41-46.
- Albo G., C. Henning, J. Ringuelet, F. Reynaldi, M. Giust y A. Alippi. 2003. Evaluation of some essential oils for the control and prevention of American foulbrood disease in honey bees. *Apidologie*, 34: 417-437.
- Aldicara J.R. 1976. Essential oils. *En McKetta J.J. y W.A. Cunningham (Eds). Encyclopedia of Chemical Processing and Design.* Marcel Dekker, NY. pp. 262-275.
- Alippi A.M. 1991. A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera* in Argentina. *J. Apic. Res.*, 30: 75-80.
- Alippi A.M. 1992. Detección de *Bacillus larvae* en poblaciones mixtas de esporas bacterianas a partir de restos larvales. *Microbiología SEM*, 8: 115-118.
- Alippi A.M, J.A. Ringuelet, E.L. Cerimele, M.S. Re y C.P. Henning. 1996. Antimicrobial activity of some essential oils against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American foulbrood disease. *J. Herb. Spices Med. Plants*, 4: 9-16.
- Alonso J. 1998. Tratado de Fitomedicina. Bases Clínicas y Farmacológicas. ISIS Ediciones. Buenos Aires, Argentina.
- Bailac P.N., L.B. Gende, A. Gascón, R. Fritz, M.I. Ponzi y M. Eguaras. 2006. Control of *Ascosphaera apis* and *Paenibacillus larvae* by the use of essential oils for obtaining beehive products without toxic residues. *Mol. Med. Chem.*, 11: 1-2.
- Bogdanov S. 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37: 1-18.
- Carpinella M.C., G.W. Herrero, R.A. Alonso y S.M. Palacios. 1999. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extracts. *Fitoterapia*, 70: 296-298.
- Carpinella M.C, C. Ferrayoli, G. Valladares, M. Defago y S.M. Palacios. 2002. Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Bio. Biotech. Biochem.*, 66: 1731-1736.
- Carpinella M.C., L.M. Giorda y S.M. Palacios. 2003. Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 2506-2511.
- Carpinella M.C., C.G. Ferrayoli y S.M. Palacios. 2005. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from *Melia azedarach* L. fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 2922-2927.
- Eguaras M., S. Fuselli, L. Gende, R. Fritz, S. Ruffinengo, G. Clemente, A. Gonzalez, P. Bailac y M. Ponzi. 2005. An in vitro evaluation

- of *Tagetes minuta* essential oil for the control of the honeybee pathogens *Paenibacillus larvae* and *Ascosphaera apis*, and the parasitic mite *Varroa destructor*. *J. Essent. Oil Res.*, 17: 336-340.
- Floris I., C. Carta, y M.D. Moretti. 1996. Activites in vitro de plusieurs huiles essentielles sur *Bacillus larvae* White et essai au rucher. *Apidologie*, 27(2): 111-119.
- Fuselli S.R., S.B. Garcia de la Rosa, L.B. Gende, M.J. Eguaras y R. Fritz. 2006a. Antimicrobial activity of some Argentinean wild plant essential oils against *Paenibacillus larvae larvae*, causal agent of American foulbrood. *J. Apicu. Res. Bee World*, 45(1): 2-7.
- Fuselli S.R. S.B. García de la Rosa, L.B. Gende, M.J. Eguaras y R. Fritz. 2006b. Inhibición de *Paenibacillus larvae* empleando una mezcla de aceites esenciales y timol. *Rev. Arg. Microbiol.*, 38: 89-92.
- FDA (Food and Drug Administration). 1998. *Bacteriological Analytical Manual*. 8^{va} ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Gende L.B., R. Fritz y M.J. Eguaras. 2006. Principales componentes del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) con actividad antimicrobiana frente a *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*. *Proc. X Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. 1er Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías. Ciencia Actual*, Buenos Aires. Argentina. Vol. 1. Tomo V. pp. 1699-1705.
- Gende L.B., I. Floris, R. Fritz y M.J. Eguaras. 2008. Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus larvae* from Argentine. *Bull. Insectology*, 61(1). (En prensa).
- Genersch E., E. Forsgren, J. Pentikainen, A. Ashiralieva, S. Rauch, J. Kilwinski e I. Fries. 2006. Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56: 501-511.
- González-Gómez R., G. Otero-Colina, A. Villanueva-Jiménez, J.A. Pérez-Amaro y R.M. Soto-Hernández. 2006. Toxicidad y repelencia de *Azadirachta indica* contra *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Agrociencia*, 40: 741-751.
- Gordon R.E., W.C. Haynes y H.N. Pang. 1973. The genus *Bacillus*. *Agricultural Handbook No. 427*, USDA, Agricultural Research Service, Washington, DC.
- Inouye S., K. Uchida, N. Maruyama, H. Yamaguchi y A. Abe. 2006. A novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. *Japan J. Med. Mycol.*, 47: 91-98.
- Isman M. 2001. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, 19: 603-608.
- Lennette S., R. Balows, L. Hansler y E. Shadony. 1987. *Manual de Microbiología Clínica*. 4^{ta} ed, Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
- Miyagi T., C.Y. Peng, R.Y. Chuang, E.C. Mussen, M.S. Spivak y R.H. Doi. 2000. Verification of oxytetracycline-resistant American Foulbrood pathogen *Paenibacillus larvae* in the United States. *J. Invert. Pathol.*, 75: 95-96.
- Mordue A. J. y A. Blackwell. 1993. Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.*, 39: 903-924.
- Nanasombat S. y P. Lohasupthawee. 2005. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against salmonellae and other enterobacteria. *KMITL Sci. Tech. J.* 5(3): 462-469.
- Sari M., D.M. Biondi, K. Mohamed, G. Mandalari, M. D'Arrigo, G. Bisignano, A. Saija, C. Daquino y G. Ruberto. 2006. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum*. *Desf. Flavour Fragr. J.*, 21: 890-898.
- SAS. 2000. *SAS User's guide*. Version 8.2, SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Shimanuki H. 1997. *Bacteria*. En Morse R.A. y K. Flottum (Eds). *Honey Bee Pests, Predators, and Diseases*. 3^{ra} ed. A.I. Root Company, Medina, OH. pp 351-362.
- Wagner H., S. Bladt y E. M. Zgainski. 1996. *Plant drug analysis*. A thin layer chromatography. Atlas 2^a ed.

Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela

Antonio J. Manrique^{1*} y Weyder C. Santana ²

¹ Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos. Área de Agronomía. San Juan de los Morros, Guárico. *Venezuela*.

*Correo electrónico: tonyman77@terra.com.

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, SP, Brasil

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron el contenido de flavonoides, las actividades antimicrobianas y antioxidante de los propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp., mediante el uso del extracto etanólico de propóleos (EEP) contra las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*. El propóleos fue colectado en los estados Miranda y Guárico, Venezuela, y São Paulo, Brasil, durante el período de noviembre de 2003 a abril de 2004. Los contenidos de flavonoides fueron muy bajos, variando de 0,19 a 0,32%. La actividad antioxidante en todas las muestras fue menor a 22 seg, con media de 3 a 5 seg. Los EEP de *M. quadrifasciata* mostró la mayor actividad antioxidante. Los EEP de todas las muestras tuvieron una elevada actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*, con halos de inhibición de 11 a 30 mm, tanto en las muestras de Brasil como en las de Venezuela. El EEP de la *Nannotrigona* sp. mostraron mayor actividad antimicrobiana que los de otras abejas. Se concluye que los propóleos de las abejas sin aguijón estudiadas poseen elevadas actividades antioxidante y antimicrobianas, aunque los contenidos de flavonoides sean bajos.

Palabras clave: Propóleos, abejas sin aguijón, actividad antimicrobiana, flavonoides, actividad antioxidante.

Flavonoids, antibacterial and antioxidant activities of propolis of stingless bees, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula*, and *Nannotrigona* sp. from Brazil and Venezuela

ABSTRACT

Flavonoids content, antibacterial and antioxidant activities of Brazilian and Venezuelan propolis from stingless bees, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula*, and *Nannotrigona* sp. were evaluated using ethanolic extracts of propolis (EEP) against Gram positives bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*. The propolis samples were collected in three locations, São Paulo state, Brazil, and Miranda and Guárico states, Venezuela, from November 2003 to April 2004. The results showed that the flavonoid content was very low for all samples, between 0.19 and 0.32%. The antioxidant activity was lower than 22 sec for all samples (3-5 sec of average). The EEP from *Melipona quadrifasciata* bees showed higher antioxidant activity than the other stingless bees. All EEP showed high antibacterial activity, with an inhibition halo between 11 to 30 mm, against *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus luteus*, for all Brazilian and Venezuelan samples. EEP from *Nannotrigona* sp. showed higher antibacterial activity than other bees. The propolis studied showed high antibacterial and antioxidant activity, despite lower flavonoids percentages

Keywords: Propolis, stingless bees, antimicrobial activity, flavonoids, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

Los Meliponinos comprenden especies de abejas eusociales sin aguijón, nativas de las regiones tropicales y subtropicales del mundo, principalmente, de América (Michener, 2000) Se estima que el número de estas especies de abejas sea alrededor de 300 distribuidas desde México hasta el norte de Argentina, con mayor abundancia en la región amazónica (Roubik, 1989; Velthuis, 1997; Silveira *et al.*, 2002).

Oliveira y Cunha (2005) afirman que las abejas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758, no incursionan en bosques continuos y los Meliponinos actúan como los principales polinizadores. Biesmeijer (1997) refiere que polinizan entre 30 y 50% de las plantas de las tierras bajas en el trópico, siendo responsable por hasta 70 a 90% de la polinización de los árboles tropicales (Kerr *et al.*, 1994; Ramalho, 2004). Alrededor de 250 especies botánicas están adaptadas para ser polinizadas por Meliponinos (Heard, 1999).

El propóleo es un término genérico usado para denominar el material resinoso y balsámico colectado y procesado por las abejas melíferas a partir de fuentes vegetales, a las cuales se les agrega algunas enzimas (Bankova, 2005), mientras que los Meliponinos producen propóleos a los cuales le adicionan cera y tierra, razón por la cual se denomina en muchos casos geopropóleos (Nogueira-Neto, 1962; 1997). La actividad biológica de los propóleos de los Meliponinos ha sido medianamente estudiada, existiendo algunos estudios de los propóleos de meliponinos brasileiros, mientras que en Venezuela los estudios limitados.

Bankova *et al.* (1998b) identificaron más de 50 compuestos en geopropóleos de abejas sin aguijón brasileiras, principalmente terpenoides y fenólicos, sugiriendo, que variaciones en la composición química pudieran deberse a la especie de abeja. En un trabajo realizado por Dos Santos Pereira *et al.* (2003), el propóleo de *Tetragonisca angustula* Latreille, 1836, mostró un potencial antimicrobiano similar al de abeja *Apis*, siendo el *Staphylococcus aureus* el microorganismo más sensible de los ensayados.

Las propiedades antimicrobianas del propóleo pueden ser atribuidas, principalmente, a los flavonoides, como la pinocembrina, galangina, pinobanskina y al éter bencil del éster fenetil de ácido caféico (CAPE), el cual es un componente activo del propóleo que ejerce gran variedad de

cambios biológicos en diversos sistemas, como las respuestas inmunomoduladoras, antiinflamatorias, y antimutagénicas (Lefkovičs *et al.*, 1997). El uso de los flavonoides contra infecciones bacterianas o fúngicas tiene como objetivos matar las células de los microorganismos o dificultar los efectos de difusión de las toxinas bacterianas (Lopes, 1998)

Fernandes *et al.* (2001) basados en los resultados obtenidos concluyen que, en general, las bacterias Gram positivas son más susceptibles a los EEP que las Gram negativas. Farnesi (2007) refiere que el propóleo de *Melipona quadrifasciata* Lepeletier presentó mayor actividad antimicrobiana contra el *Micrococcus luteus* que contra *S. aureus*. Sin embargo, la inhibición fue menor que la de *A. mellifera*. Chaillou *et al.* (2004) estudiaron propóleos argentinos y encontraron que el 50% de las muestras inhibieron en más de 12 mm cepas de *S. aureus*, concluyendo que el diámetro del halo de inhibición depende del contenido de flavonoides de los EEP utilizados.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el contenido de flavonoides y evaluar la actividad antimicrobiana y actividad antioxidante del propóleo de abejas sin aguijón *Melipona quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. provenientes de Brasil y Venezuela contra cepas estandarizadas de *M. luteus* y *S. aureus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado desde noviembre de 2003 hasta abril de 2004, durante el cual se colectaron muestras de propóleos en 10 colonias de *T. angustula* y *Nannotrigona* sp., cada una, provenientes de la Estación Experimental "Jaime Henao Jaramillo" de la Universidad Central de Venezuela, Cortada del Guayabo (10°01' N y 62°15' O), municipio Guaicaipuro, estado Miranda, y las muestras de geopropóleos de tres colonias de *M. compressipes* provenientes de Calabozo (8°55' N y 67°26' O), municipio Miranda, estado Guárico, Venezuela. Las muestras de *M. compressipes* provenían de pocas colonias debido a la dificultad de poder conseguir esta especie de abeja. Las muestras de geopropóleos de *M. quadrifasciata* provenían de 10 colonias del apiario (21°11' S y 47°13' I) del Departamento de Genética de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, estado São Paulo, Brasil.

La recolección del propóleos fue realizada una vez al mes mediante el raspado del propóleos acumulado, principalmente en la tapa, dado que la producción de estas abejas es baja, como lo indica Fabichak (2000), quien señala que para estimar la productividad de propóleos se debe realizar un paralelismo con la producción de miel (kg/año), que ha sido reportada hasta en 10 veces mayor que la de *T. angustula*, Sin embargo, algunas líneas mejoradas producen hasta un kg/año. Previo a todos los análisis se realizó un pool de las muestras por especie y por cada mes evaluado.

Las evaluaciones de calidad del propóleos de meliponinos se realizaron bajo los mismos parámetros que se evalúan los propóleos de abejas *Apis*, dado que no existen otros indicadores establecidos para estas abejas.

La preparación de los extractos etanólicos de propóleos (EEP) se realizó según la metodología descrita por Park *et al.* (1998). Se prepararon dos EEP por cada muestra mensual recolectada, los cuales tenían una concentración de 15 mg/mL. Cada muestra tenía su respectiva réplica

El contenido de flavonoides se evaluó al colocar en dos balones volumétricos de 25 mL 0,3 y 0,4 mL del EEP a cada uno, con sus respectivas réplicas, a los cuales se les adiciono 15 mL de metanol PA, 0,5 mL de AlCl_3 5% p/v y se completo el volumen con metanol. Posteriormente, se agitó y se resguardó de la luz durante 30 min. Después se transfirieron 4 mL de las muestras en una cubeta de cuarzo para la lectura de la absorbancia hecha en un espectrofotómetro a 425 nm. Una muestra de metanol PA fue usada como blanco (control). En esta prueba los flavonoides reaccionan con el cloruro de aluminio en etanol produciendo un complejo de color amarillo que posee un pico de absorción de luz a 425 nm. El límite mínimo de tolerancia en propóleos de abejas *Apis* es de 0,75% m/m.

Para la prueba de actividad antioxidante, se colocaron 2 mL del EEP en un beaker de 100 mL, se adicionaron 48 mL de agua destilada y se agitó con un bastón de vidrio. Inmediatamente, se colocaron 0,5 mL do extracto diluido + 1,5 mL de agua destilada + 1 mL. H_2SO_4 20% en un tubo de ensayo de 15 mL y posteriormente se enfrió a una temperatura de 18 a 20°C durante 2 min. Después se agregaron 50 μL de KMnO_4 0,1N. El tiempo que tardaron las muestras en cambiar de color rosado a transparente fue medido

con un cronómetro. El límite de tolerancia máximo permitido es de 22 seg, lo cual indica que el propóleos evaluado es de calidad. Esta prueba se realizó con su respectiva réplica.

Se realizaron antibiogramas con líneas estandarizadas American Type Culture Collection (ATCC) de *M. aureus* ATCC 25.923 y *M. luteus* ATCC 9.341 como bacterias de prueba. Se prepararon dos placas de petri, con sus respectivas réplicas, con agar Mueller-Hinton con suspensión de 10^8 a 10^9 de *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923, sometidas a la acción de los diferentes EEP, a través de discos de papel (uno por cada muestra de propóleos) de 5 mm de diámetro. Como control fue usado un disco impregnado de alcohol etílico al 70%. Después las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 h. Posteriormente, fueron leídos los halos de inhibición de crecimiento en mm, usando una regla milimetrada. La presencia de halo de inhibición indicaba que las bacterias evaluadas eran sensibles y la ausencia de halo indicaba que rea resistente al EEP evaluado.

Para el análisis de los datos se empleó un modelo lineal aditivo con efectos fijos, el cual cumplió con los supuestos de normalidad del ANAVAR. Posteriormente, se aplicó la prueba de media de la mínima diferencia significativa honesta de Tukey a un nivel de $P < 0,05$ por medio del programa Infostat (2002). El modelo usado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Mes}_i + \text{Abejas}_j + \text{Mes} \times \text{Abejas}_{ij} + E_{ijk}$$

donde:

Y_{ijk} = Valor estimado de la característica estudiada

μ = Media de las muestras

Mes_i = Efecto fijo del i-ésimo mes

Abejas_j = Efecto fijo del j-ésimas especies de abejas

$\text{Mes} \times \text{Abejas}_{ij}$ = Efecto del i-ésimo mes en la j-ésima especie de abejas

E_{ijk} = Efecto aleatorio del error.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los contenidos de flavonoides de los propóleos evaluados evidenciaron diferencias significativas ($P=0,0002$) en cuanto a la influencia estacional de los EEP. Por otro lado, se comprobó una variación altamente significativa ($P < 0,0001$) entre los EEP de las diferentes especies de abejas ensayados, lo

que demuestra la influencia del factor especie de abeja en el tenor de flavonoides. Los resultados previos se conjugaron en una interacción mes*abeja que resultó también altamente significativa ($P=0,0143$).

En la Figura 1 se presentan los contenidos de flavonoides de los propóleos evaluados, donde se observa que los valores variaron de 0,20 a 0,32%, con promedios de 0,25 y 0,28% para los meses de marzo y abril, respectivamente, y 0,26% para el resto de los meses. Aunque la diferencia entre los meses fue baja, la diferencia fue notoria y pudiera deberse a la oferta de resina en el momento de ser colectada y transformada en propóleos.

En cuanto a los contenidos de flavonoides por especie, también se observaron diferencias significativas en este parámetro entre especie de abeja evaluada, siendo la abeja española (*T. angustula*) la que mostró el mayor contenido promedio de 0,30% de flavonoides y la abeja guanota (*M. compressipes*) la que presentó el menor promedio con 0,23%, junto con la mandaçaia (*M. quadrifasciata*) con 0,24% de promedio de flavonoides. Parte de la diferencia de los tenores de flavonoides entre ambas especies pudiera

deberse a la vegetación presente en las adyacencias de las colonias que aportaron las muestras, dado que existen evidencias de que la composición química del propóleos varía en función de la flora disponible por la colmena (Ghisalberti, 1979; Marcucci, 1995). Estos valores promedios de flavonoides obtenidos son bajos, cuando se comparan con los producidos por abejas *Apis*, propóleos que ha sido ampliamente estudiado, con valores reportados desde 0,55 hasta 2,89% en condiciones tropicales (Manrique, 2001). En un estudio realizado por Manrique (2006) con propóleos de *Apis*, colectado en la misma zona donde se colectó el propóleos de las abejas española y conguita (*Nannotrigona sp.*), se obtuvieron contenidos de flavonoides que variaron entre 0,55 y 0,97%.

Similarmente, Woisky (1996) y Manrique (2001) reportaron contenidos de flavonoides de 0,83 y 0,73% de muestras de propóleos de *Apis*, provenientes de Ribeirão Preto, Brasil, región de donde se obtuvo el propóleos de la abeja mandaçaia usada en el presente trabajo. Sin embargo, los bajos valores de flavonoides del propóleos obtenidos por los Meliponinos del presente trabajo concuerdan con los datos de Tomás-Barberán *et al.* (1993) quienes verificaron bajos tenores

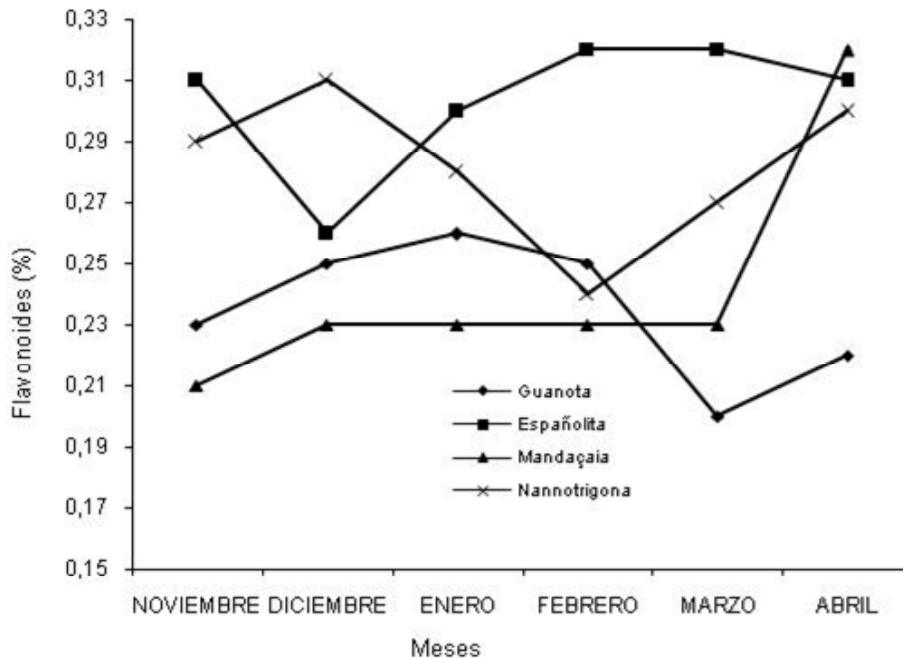


Figura 1. Porcentaje promedio de flavonoides de los EEP, de las muestras de propóleos de mandaçaia (*M. quadrifasciata*), guanota (*M. compressipes*), española (*T. angustula*) y conguita (*Nannotrigona sp.*) de Brasil y Venezuela. De noviembre de 2003 hasta abril de 2004.

de flavonoides y valores trazas en otras muestras de propóleos de Venezuela, colectadas por *A. mellifera* y por *M. favosa*, respectivamente, y con lo sugerido por González y Bernal (1997) y Bracho *et al.* (1996) quienes afirman que los propóleos tropicales son bajos en flavonoides.

En la Figura 2 se muestra la actividad antioxidante de los EEP de los meliponinos en estudio. Los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticas entre los diferentes meses, con lo cual no hubo influencia estacional. Por otro lado, hubo diferencias estadísticas entre especies, resaltando los EEP de *M. quadrifasciata*, con valores sumamente bajos (2,50 seg) para los meses de enero y marzo. Similarmente, se ilustra la elevada capacidad antioxidante de los EEP analizados, dado que todas las muestras analizadas están muy por debajo del límite máximo de 22 seg, con 6,50 seg como el valor más elevado en los EEP de noviembre y marzo de las abejas *M. compressipes*, con buena actividad biológica, a pesar de tener bajo contenido de flavonoides. Esta

tendencia es corroborada con el análisis de correlación de Pearson realizado en todas las muestras de EEP, donde se mostró que no existe correlación entre el contenido de flavonoides y la actividad antioxidante. Resultados contrarios a los obtenidos por Manrique (2001) quien encontró que la actividad antioxidante de los EEP de abejas *Apis* estaban influenciados por los valores de flavonoides, con reacciones de hasta 5 seg cuando el valor de los flavonoides alcanzaba 2,32%. Esta tendencia concuerda con lo apuntado por Park y Alencar (2000), quienes encontraron que la actividad antioxidante era más rápida cuando los valores de flavonoides eran más elevados. Sin embargo, Salamanca *et al.* (2007) refieren que estas variaciones pudieran asociarse con el tipo de compuestos presentes en los extractos analizados, que no necesariamente contienen flavonoides. Por otro lado, Manrique y Santana (2004) destacan que la propiedad antioxidante del propóleos varía según la concentración y la naturaleza del producto a ser conservado. La diferencia significativa observada en

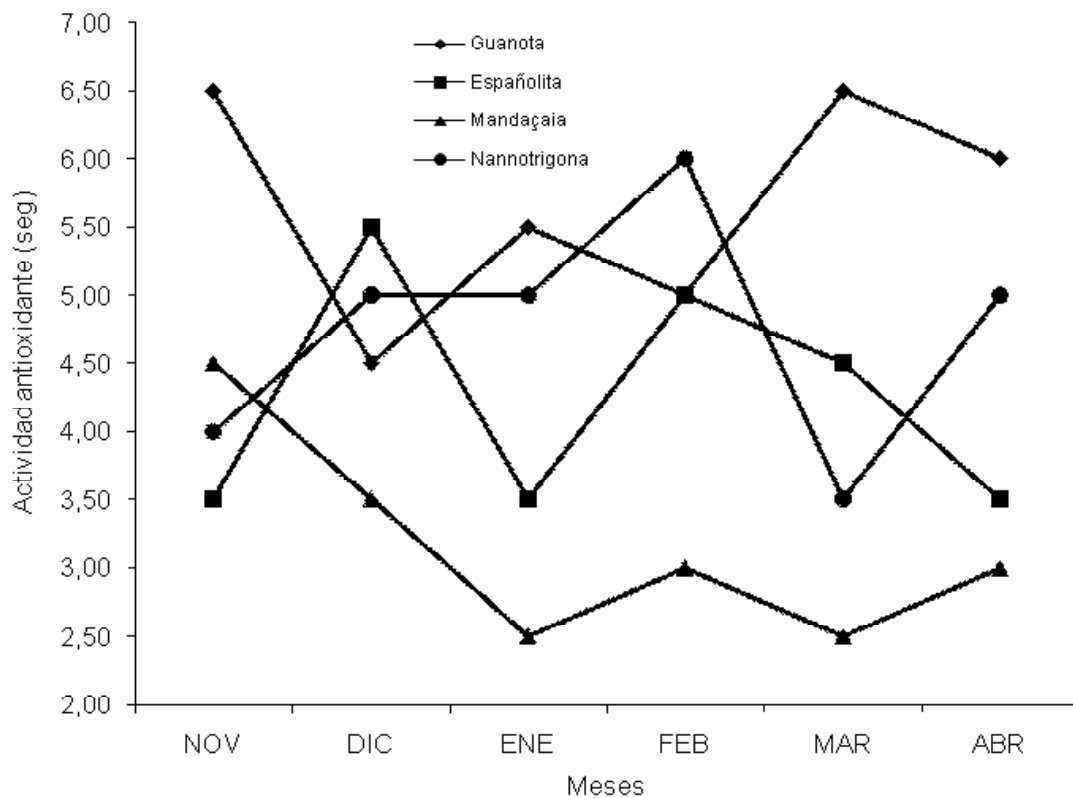


Figura 2. Actividad antioxidante de los EEP de las muestras de propóleos de mandaçaia (*M. quadrifasciata*), guanota (*M. compressipes*), españolita (*T. angustula*) y conguita (*Nannotrigona* sp.) de Brasil y Venezuela. De noviembre de 2003 hasta abril de 2004.

la actividad antioxidante, pudiera deberse al tipo de resina que colecta cada especie, dado que se muestreó en tres zonas geográficas diferentes, diferentes hábitats, encontrándose que la actividad antioxidante de los EEP de las *Nannotrigona* sp. *T. angustula*, que provenían del mismo meliponario, mostraron el mismo comportamiento.

En el Cuadro 1 son presentados los datos sobre la actividad antimicrobiana de los EEP de las muestras de propóleos de las abejas sin aguijón, donde hubo influencia estacional al mostrar diferencias significativas, según la Prueba de Tukey. Casi todos los EEP propóleos inhibieron fuertemente el crecimiento microbiano, tanto del *M. luteus* como del *S. aureus*, a excepción de los EEP de noviembre que aun cuando inhibieron el crecimiento bacteriano, sin embargo, éste no fue tan fuerte. Los EEP obtenidos de muestras colectadas en el mes de enero presentaron mayor actividad contra el *M. luteus*, con halos de inhibición de 26,5 mm. Similarmente, el *S. aureus*, fue más sensible a los EEP de enero. Estos valores son superiores a los reportados por Konishi *et al.* (2004) con *S. aureus* y *Streptococcus mutans* Clarke, 1924, con halos de inhibición entre 7,9 y 12,0 mm. Por otro lado, los mayores diámetros de inhibición fueron obtenidos contra *M. luteus*, contrario con los resultados reportados por Moura *et al.* (1999) y Manrique (2006).

Los resultados de todos los EEP evaluados muestran que a actividad antimicrobiana del propóleos

es variable dependiendo del microorganismo en estudio y de la región de colecta del mismo, tal como lo sugieren Koo *et al.* (1999) y Manrique (2006) quien evaluó propóleos de la misma región colectados por abejas *Apis*, concordando con los resultados de Sforcin *et al.* (1998) quienes no encontraron efecto estacional al evaluar propóleos colectado en cuatro estaciones, los cuales inhibieron el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. La diferencias significativas en la actividad antimicrobiana del propóleos colectado en diferentes meses pudiera deberse a la composición misma de las resinas que lo forman, dado que las abejas extraen resinas, principalmente, de los puntos de crecimiento de las plantas, visto que en regiones tropicales el crecimiento de las plantas se manifiesta durante todo el año, bien como en heridas en las plantas y estructuras resiníferas vegetales (Roubik, 1989).

Concordando con lo antes señalado, Bankova *et al.* (1998a) observaron, que dependiendo de la estación del año, existe variación en los componentes químicos del propóleos, como los diterpenos, que son biológicamente muy activos y son detectados en el propóleos producido en el verano y otoño, pero que no se producen en las otras épocas del año. El origen vegetal de los propóleos en las abejas sin aguijón es distinto al de las *A. mellifera* en un mismo hábitat, siendo que ha variación en la composición química del propóleos entre las diferentes especies de los meliponinos (Bankova y Popova, 2007).

Cuadro 1, Variación estacional de la actividad antimicrobiana de los EEP de propóleos colectados por *M. quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. en Brasil y Venezuela, contra *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923.

Mes	Halo de inhibición	
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	----- mm -----	
Noviembre	17,9e†	16,8e
Diciembre	24,5bc	22,0ab
Enero	26,5a	24,0a
Febrero	25,4b	23,6ab
Marzo	23,5c	20,5cd
Abril	21,9d	19,4d

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

En general, la actividad antimicrobiana de los propóleos es atribuida al contenido de flavonoides (flavonas y flavononas), tal como lo refieren diversos autores, como Lefkovits *et al.* (1997), Chaillou *et al.* (2004) y Principal (2005). Sin embargo, los propóleos estudiados en el presente ensayo mostraron valores muy bajos, variando de 0,20% a 0,32%, lo cual pudiera indicar que existen otras variables que influyan sobre la actividad antibacteriana.

Las actividades antimicrobianas de los EEP de las diferentes especies de meliponinos son mostrados en el Cuadro 2, donde se observó que hubo diferencia significativa. Todos los EEP inhibieron la actividad de las bacterias estudiadas; sin embargo, de acuerdo al análisis estadístico, los EEP de *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. mostraron mayor efectividad inhibitoria contra las bacterias evaluadas que los de *M. quadrifasciata* y *M. compressipes*. Estos resultados concuerdan con los de Velikova *et al.* (2000a) quienes obtuvieron resultados en los cuales los EEP de propóleos de *M. quadrifasciata* mostraron moderada (16 mm) actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y difieren levemente de los obtenidos por Fernandes *et al.* (2001), quienes obtuvieron una actividad antimicrobiana de los EEP en el siguiente orden: *M. quadrifasciata*, *Nannotrigona testaceicornis* Lepeletier, 1836 y *T. angustula* contra el *S. aureus*. Mientras que cuando evaluaron los EEP contra *Escherichia coli*, T. Escherich, 1885 obtuvieron que los de *T. angustula* fueron superiores que los de *N. testaceicornis*. En otro trabajo realizado por Velikova *et al.* (2000b) encontraron que el extracto de propóleos de *T. angustula* mostró elevada actividad contra *S.*

aureus, *E. coli* y *Candida albicans* Berkhout, 1923. Similarmente, Miorin *et al.* (2003) reportan que los propóleos de *T. angustula* poseen gran actividad antibacteriana contra el *S. aureus*. No obstante, estos resultados son contrarios a los reportados por Farnesi (2007) quien indica que los EEP de *T. angustula*, *N. testaceicornis*, *Plebeia droryana* Friese, 1900, *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836 y *Friesiomellita varia* Lepeletier, 1836, no mostraron actividad antifúngica ni antibacteriana, al ser evaluados contra *M. luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Aspergillus nidulans* Winter, 1884, *Pseudomonas aeruginosa* Schröter, 1872 y *Trichophyton rubrum* Malmsten, 1845.

Esta actividad antimicrobiana pudiera deberse a la concentración de ácidos aromáticos (caféico y p-coumarico) presentes en los propóleos, los cuales son conocidos por sus actividades antimicrobianas y anti-inflamantória, tal como lo reseñan Krol *et al.* (1996). Aunque no se analizaron químicamente los EEP, la composición del propóleos puede variar entre muestras y pudiera influir sobre la actividad antibacteriana, tal como es sugerido por Bankova *et al.* (1998a), concordando con Bankova *et al.* (1998b), quienes reportaron diferencias en la composición química de propóleos de tres especies de abejas sin aguijón en Brasil.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que los EEP provenientes de muestras de meliponinos, poseen fuerte actividad antimicrobiana contra las líneas estandarizadas de *Staphylococcus aureus* y

Cuadro 2. Actividad antimicrobiana de los EEP de propóleos colectados por *M. quadrifasciata*, *M. compressipes*, *T. angustula* y *Nannotrigona* sp. en Brasil y Venezuela, contra *M. luteus* ATCC 9.341 y *S. aureus* ATCC 25.923.

Especie de abeja	Halo de inhibición	
	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	----- mm -----	
<i>Melipona quadrifasciata</i>	21,8c†	19,0b
<i>Melipona compressipes</i>	21,1b	19,8b
<i>Tetragonisca compressipes</i>	24,1b	19,8a
<i>Nannotrigona</i> sp.	26,1a	23,5a

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

Micrococcus luteus. Estos resultados refuerzan el potencial del extracto de propóleos como tratamientos de algunas patologías.

No existe correlación entre la actividad antioxidante y la concentración de flavonoides en los EEP de los meliponinos estudiados.

La actividad antimicrobiana de los propóleos evaluados mostró influencia estacional, posiblemente ligado a las diferentes plantas/año o debido a las diferentes condiciones fisiológicas de las mismas.

La actividad biológica (antimicrobiana y antioxidante) de los EEP de las abejas sin aguijón estudiados, indica que esta es parte de la defensa de las abejas contra algunos microorganismos patógenos, que naturalmente infestan las colonias en los climas tropicales.

Los propóleos de los meliponinos evaluados son muy bajos en flavonoides, sin embargo, presentan elevada actividad biológica, tan igual y hasta superior a los propóleos de abejas *Apis* con mayor contenido de flavonoides, no a presentando correlacionados con los estés, indicándose fuertes acciones biológicas de otros componentes de los propóleos de estas abejas.

LITERATURA CITADA

- Bankova V.S. 2005. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat. Med.*, 2: 29-32.
- Bankova V., C. Boudorova, G. Krasteva, S. Popov, J. Sforcin y S. Funari. 1998a. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie*, 29: 361-367.
- Bankova V., R. Christov, M.C. Marcucci y S. Popov. 1998b. Constituents of Brazilian geopropolis. *Z. Naturforsch. Sect. C Biosci.*, 53: 402-406.
- Bankova V. y M. Popova. 2007. Propolis of stingless bees: A promising source of biologically active compounds. *Pharmacog. Rev.*, 1(1): 88-92.
- Biesmeijer J. 1997. Abejas sin Aguijón. Elinkwijk BV Utrecht, The Netherlands.
- Bracho J., A. Rosado y J. Pino. 1996. Estudio de la composición química del propóleos cubano mediante cromatografía de gases. Espectrofotometría de masas. IV Simposio de Propóleos y III de Apiterapia, La Habana, Cuba.
- Chaillou L.L., H.A. Herrera y J.F. Maidana. 2004. Estudios de propóleos de Santiago del Estero, Argentina. *Ciê. Tecn. Alim.*, 24(1): 11-15.
- Dos Santos Pereira A., B. Bicalho y F.R. de Aquino Neto. 2003. Comparison of propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula*. *Apidologiem* 34: 291-298.
- Fabichak I. 2000. *Abelhas Indígenas sem Ferrão: Jataí*. Ed. Nobel, São Paulo, Brasil.
- Farnesi A.P. 2007. Efeitos da própolis das abelhas africanizadas e meliponíneas em microorganismos. Dissertação Mestrado. Fac. Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Fernandes Jr A., L. Leomil, A.H. Fernandes y J.M. Sforcin. 2001. The antibacterial activity of propolis produced by *Apis mellifera* L. and Brazilian stingless bees. *J. Venom. Ani. Toxins*, 7(2): 173-182.
- Ghisalberti E.L. 1979. Propolis: A review. *Bee World*, 60 (1): 59-84.
- Gonzalez A.R y R. Bernal. 1997. Propóleos: Un camino hacia la salud. Ed. Pablo de la Torriente, La Habana, Cuba.
- Heard T. 1999. The role of stingless bees in crop pollination. *Ann. Rev. Entom.*, 44: 183-206.
- Infostat. 2002. Software estadístico Manual del usuario. Versión 1. Universidad de Córdoba, Buenos Aires, Argentina.
- Kerr W. E., V. Nascimento y G. A. Carvalho. 1994. Há salvação para os meliponíneos? *En Zucchi R, P. Drumond, P.G. Fernandes-da-Silva y S.C. Augusto*. (Eds) Anais 1^{er} Encontro sobre Abelhas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, FFCLRP, Ribeirão Preto. p. 60-64.
- Konishi S., A.C. Sawaya, A. Custódio, I.B. Cunha da S. y M.T. Shimizu. 2004. Análise da influência de agentes solubilizantes na atividade antimicrobiana de extratos de propolis e de uma formulação de spray hidroalcoólico. *Rev. Mensagem Doce*, 75: 5-8.

- Koo H., P. Rosalen, J. Cury, Y. Park y M. Ikegaki. 1999. Avaliação do potencial anti-cárie e anti-placa da própolis de *Apis mellifera* da região sudeste e sul do Brasil. I. Atividade antimicrobiana *in vitro* sobre patógenos bucais. Rev. Universidade de Franca, Edição Especial, I Simpósio Brasileiro sobre Própolis e Apiterápicos, 7(7): 48-49.
- Krol W., S. Scheller, Z. Czuba, T. Matsuno, G. Zydowicz, J. Shani y M. Mos. 1996. Inhibition of neutrophils' chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components. J. Ethnopharm., 55: 19-25.
- Kujumgiev A., I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva, V. Bankova, R. Christov y S. Popov. 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J. Ethnopharm., 64: 235-40.
- Lefkovits I., Z.Z. Su y P.B. Fischer. 1997. Caffeic acid phenethyl ester profoundly modifies protein synthesis profile in type 5 adenovirus-transformed cloned rat embryo fibroblasts cells. Int. J. Oncology, 11(1): 59-67.
- Lopes N.P. 1998. Flavonoids and lignans from *Virola surinamensis* twigs and their *in vitro* activity against *Trypanosoma cruzi*. Plant Med., 64: 667-668.
- Manrique A.J. 2001. Seleção de abelhas africanizadas para a melhoria na produção de própolis. Tese Doutorado. Fac. Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.
- Manrique A.J. 2006. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. Zootecnia Trop., 24(1): 43-53.
- Manrique A.J. y W.C. Santana. 2004. Antibacterial and antioxidant activities of propolis of native (Brazil and Venezuela) stingless bees (*Melipona quadrifasciata* Lep., *Tetragonisca angustula* and *Nannotrigona* sp.). Proc. 8^{vo} IBRA Int. Conference on Tropical Bees and VI Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto, Brasil, CD-ROM.
- Marcucci M.C. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie, 26: 83-99.
- Michener C.D. 2000. The Bees of the World. Baltimore, The Johns Hopkins University Press, Boston.
- Miorin P. L., N. C. Levy Jr, A. R. Custodio, W. A. Bretz y M.C. Marcucci. 2003. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. J. App. Microbio., 95: 913-920.
- Moura F., N. Ikegaki, S. Alentar, H. Sato e Y. Park. 1999. Classificação da própolis da região sudeste do Brasil. Rev. Universidade de Franca, Edição Especial, I Simpósio Brasileiro sobre Própolis e Apiterápicos, 7 (7): 43-44.
- Nogueira-Neto P. 1962. Novos estudos sobre Meliponíneos. Chácaras e Quintais, 106(2): 324.
- Nogueira-Neto P. 1997. Vida e Criação de Abelhas Indígenas sem Ferrão. Ed. Nogueirapis, São Paulo, Brasil.
- Oliveira M. y J. Cunha. 2005. Abelhas africanizadas *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera: Apidae: Apinae) exploram recursos na floresta amazônica. Rev. Acta Amazô., 35(3): 389-394.
- Park Y.K. y M. Alencar de S. 2000. Classificação das própolis brasileiras a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. Rev. Mensagem Doce, 58: 2-5.
- Park Y.K., M. Ikegaki y J.A. da Silva Abreu. 1998. Estudo da preparação dos extratos de propolis e suas aplicações. Cien. Tecn. Alim., 18(3): 313-318.
- Principal J. 2005. El propóleo: Perspectivas terapéuticas en la medicina humana y veterinaria. Memorias I Congreso Internacional de Apicultores de los Andes y III Convención de Apicultores, San Cristóbal, Táchira, Venezuela.
- Ramallo M. 2004. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. Acta Bot. Bras., 18(1): 37-47.

- Roubik D.W. 1989. Ecology and Natural History of Tropical Bees. Cambridge University Press, New York.
- Salamanca G., I. Correa-Carvajal y J. Principal. 2007. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Trop.*, 25(2): 95-102.
- Sforcin J.M., A. Fernández, C.A. Lopes y S.R. Funari. 1998. Efeito da sazonalidade sobre a atividade antifúngica da própolis. *Anais XII Congresso Brasileiro de Apicultura*, Salvador, Bahia, Brasil.
- Silveira F.A., G.A.R. Melo y E.A.B. Almeida. 2002. Abelhas brasileiras: Sistemática e identificação. Fundação Araucária, Belo Horizonte, Brasil.
- Tomás-Barberán F.A, C. García-Viguera, P. Vit-Olivier, F. Ferreres y F. Tomás-Llorente. 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochem.*, 34: 191-196.
- Velikova M., V. Bankova, M.C. Marcucci, L. Tsvetkova y A. Kujumgiev. 2000. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian meliponinae. *Zeitschrift für Naturforschung*, 55C: 785–789.
- Velikova M., V. Bankova, L. Tsvetkova, A. Kujumgiev y M.C. Marcucci. 2000. Antibacterial entkaurene from Brazilian propolis of native stingless bees. *Fitoterapia*, 71: 693-696.
- Velthuis H. H. W. 1997. *Biologia das abelhas sem ferrão*. Universidade de Utrecht, Utrecht, Holanda, Departamento de Etologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Williams I., S. Corbet y J. Osborne. 1991. Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community. *Bee World*, 72 (4): 170-180.
- Woisky R 1996. Métodos de controle químico de amostras de própolis. *Dissertação Mestrado*. Fac. Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela

Judith Principal¹, Ramón D'Aubeterre², Carlos J. Barrios¹, Spiridione Puzzar³, Susana B. García de la Rosa⁴ y Sandra R. Fuselli^{4,5}

¹ Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias. Estación de Apicultura. Tarabana, Lara. Venezuela.

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Lara. Carretera Barquisimeto-Duaca. Km 7. Sector El Cují, Lara. Venezuela.

³ UCLA, Dep.. Ciencias Sociales y Económicas. Bioestadística. Decanato de Ciencias Veterinarias. Tarabana, Lara. Venezuela.

⁴ Universidad Nacional de Mar del Plata, Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Mar del Plata, Argentina.

⁵ Comisión de Investigaciones Científicas, La Plata, Argentina.

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) en apiarios de tres localidades diferentes del estado Lara, Venezuela. Se seleccionaron al azar 82 colonias de abejas en similares condiciones de manejo. Se evaluó el comportamiento higiénico en cada colonia de abejas mediante la técnica de muerte de la cría por congelación utilizando una escala arbitraria especialmente establecida para esta subespecie. La mayor tasa de remoción de pupas muertas fue obtenida en la localidad El Corozo con valores superiores a 95%. La manifestación del comportamiento higiénico presentó una asociación baja con respecto a la localidad y no guarda relación con el grado de africanización de las colonias estudiadas. Se concluye que el comportamiento higiénico presentó gran variación en el grado de manifestación en las colonias de abejas africanizadas, observándose 17, 24 y 59% de colonias con patrón de comportamiento higiénico leve, moderado y alto, respectivamente.

Palabras clave: Comportamiento higiénico, abeja melífera, *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, pupas muertas.

Hygienic behavior of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) in apiaries of Lara state, Venezuela

ABSTRACT

The hygienic behavior of Africanized honeybees (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) was evaluated in apiaries of three localities of Lara state, Venezuela. Eighty two honeybee colonies in similar management conditions were selected. Hygienic behavior was evaluated using the freezing dead pupae technique with an arbitrary scale specially established for this subspecies. The highest removing of dead pupae was registered in El Corozo locality, with values higher than 95%. The hygienic behavior had a great variation in the Africanized honeybee colonies considered, as 17, 24, and 59% of the honeybee colonies had a low, moderate, and high hygienic behavior, respectively.

Keywords: Hygienic behavior, honeybees, *Apis mellifera scutellata* Lepeletier, dead pupae.

INTRODUCCIÓN

El comportamiento higiénico de la abeja melífera *Apis mellifera* L. se puede definir como la habilidad que tienen las obreras para detectar, desopercular y remover las crías enfermas desde la cámara de cría hacia el exterior de la colonia. Este comportamiento es considerado como un mecanismo primario de resistencia de estos insectos ante ciertas enfermedades de origen bacteriano de la larva y de la pupa, como Loque Americana causada por *Paenibacillus larvae* (Rothenbuhler, 1964), de origen fungoso, como la ascosferosis producida por *Ascosphaera apis* (Gilliam *et al.*, 1983) o de origen parasitario como es el caso de *Varroa destructor* (Rath y Drescher, 1990; Guerra *et al.*, 2000).

Estudios realizados por Rothenbuhler (1964) demostraron que el comportamiento higiénico de las abejas es controlado por dos genes recesivos independientes: uno responsable de desopercular la cría enferma y el otro responsable de remover la cría enferma fuera del nido de cría. Otros estudios postularon que la determinación genética del comportamiento higiénico podría estar controlada por tres loci (Moritz, 1988) No obstante, estudios recientes han demostrado que el comportamiento higiénico está regulado por siete loci diferentes (Lapidge *et al.*, 2002). Por otra parte, se ha determinado que las abejas higiénicas poseen una mayor sensibilidad olfatoria y son capaces de discriminar entre las crías normales y anormales a una baja intensidad del estímulo, detectando y removiendo las crías enfermas, muertas o parasitadas de una manera rápida y eficiente (Gramacho y Spivak, 2003).

El comportamiento higiénico en las abejas melíferas es influenciado por diversos factores que inciden en la manifestación de esta característica en de la colonia. En ciertas épocas del calendario apícola se observa una mayor manifestación de este comportamiento; especialmente, cuando las abejas están colectando grandes cantidades de néctar en campo. Algunos factores como la fortaleza y desarrollo de la colonia, composición de la población de obreras y estado sanitario, entre otros, pueden también influenciar la manifestación de este comportamiento en mayor o menor grado. En estos casos, se ha postulado que las abejas higiénicas pueden intercambiar la actividad de acopio de néctar con el comportamiento higiénico de

acuerdo a las necesidades de la colonia (Thompson, 1964; Momot y Rothenbuhler, 1971).

La resistencia natural observada en las abejas africanizadas para controlar a *Varroa destructor* y su relación con el comportamiento higiénico ha sido bien documentada en Brasil (Guerra *et al.* 2000; Aumeier *et al.*, 2000; Correa-Marques *et al.*, 2002; Moretto *et al.*, 2006) demostrando que estas abejas remueven de manera significativa mayor proporción de los ácaros de la cría parasitada, exhibiendo mayor tolerancia a la varroosis en las colonias. Por el contrario, en Venezuela donde la población apícola está conformada en su mayoría por híbridos de abejas africanizadas (*Apis mellifera scutellata* Lepeletier) este comportamiento higiénico en las abejas ha sido poco estudiado.

Por lo antes expuesto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento higiénico de las abejas africanizadas (*A. m. scutellata* Lepeletier) en apiarios del estado Lara, Venezuela, y determinar si existe alguna correlación entre la localidad y el grado de africanización con respecto a la manifestación del comportamiento higiénico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en apiarios ubicados en tres localidades de los municipios Palavecino, Simón Planas e Iribarren del estado Lara, Venezuela. Los apiarios pertenecen a apicultores comerciales y a la Estación de Apicultura del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Los apiarios están conformados por colonias de abejas africanizadas a las cuales no se les había cambiado las reinas en los últimos cinco años y fueron seleccionados para formar parte del estudio mediante un muestreo de tipo intencional no probabilístico (Bravo y Paparella, 1992). Se hicieron dos determinaciones consecutivas en cada colmena siguiendo la metodología de Spivak (1996), a un total de 82 colonias de abejas africanizadas que cumplían con los requisitos antes señalados. Dichas colonias fueron mantenidas en colmenas tipo Langstroth, compuesta por una cámara de cría que aloja en su interior diez panales cubiertos de abejas, con un promedio de siete cuadros de cría, similares condiciones de manejo biotécnico y suficiente reservas alimenticias. Todas las colonias utilizadas fueron de la subespecie *A. m. scutellata* Lepeletier,

a las cuales no se les había cambiado la reina en los últimos cinco años, lo cual indicaría alta frecuencia de genes africanizados en la población bajo estudio.

La técnica utilizada para este estudio se conoce como técnica de muerte de la cría por congelación (Taber, 1982) mediante la cual se procedió a recortar de las colonias donadoras una sección de panal de 5 x 6 cm con cría operculada, en cuya superficie se alojaban entre 100 y 200 pupas jóvenes. Las secciones de panal de cría fueron introducidas en bolsas plásticas identificadas y transportadas en cavas refrigeradas hasta el Laboratorio de la Estación de Apicultura de la UCLA, donde se determinó el número de celdas operculadas en cada sección de panal. Posteriormente, con el objeto de producir la muerte de las pupas, cada sección fue sometida a congelación por 24 h en un congelador a -4°C . Estas secciones de panales congeladas fueron insertadas y dejadas por 48 h dentro de la cámara de cría de las colonias cuyo comportamiento higiénico se iba a evaluar. Al finalizar este período, a fin de calcular la tasa de remoción de pupas muertas, se registró el número de pupas desoperculadas y completamente removidas por las abejas obreras en cada sección del panal insertado en la colonia evaluada.

Como un indicador indirecto del grado de africanización en las colonias seleccionadas, le fue asignado un puntaje arbitrario fijado por dos evaluadores expertos de acuerdo a la manifestación de la conducta defensiva de las abejas obreras al ser manipuladas, como se expresa a continuación: 1 poco agresiva, 2 agresiva y 3 muy agresiva.

El criterio para la interpretación del comportamiento higiénico se realizó siguiendo la metodología de Spivak (1996). Las colonias cuyas abejas obreras detectaron, desopercularon y removieron más del 95% de la cría congelada en 48 h en dos ensayos consecutivos fueron consideradas altamente higiénicas (AH), aquellas colonias cuyas abejas removieron entre 75 y 95% de la cría congelada fueron consideradas moderadamente higiénicas (MH) y las colonias cuyas obreras removieron la cría congelada con una tasa menor al 75% fueron consideradas levemente higiénicas (LH).

En virtud de que las variables bajo estudio (localidad, grado de africanización y tasa de remoción) son medidas en escala de tipo nominal y ordinal, se analizaron los datos colectados mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y correlación de

Spearman (asumiendo la significancia al 0,01) (SAS, 1999), para determinar si existe alguna asociación entre la expresión del grado de remoción de pupas y las localidades estudiadas, tomando en cuenta el grado de africanización estimado a través del comportamiento defensivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 (a) y (b) se ilustran las celdas de cría desoperculadas y removidas por las abejas en una de las colonias evaluadas como una manifestación del comportamiento higiénico.

El comportamiento higiénico de las colonias de abejas, agrupadas de acuerdo a su grado de africanización para las tres localidades estudiadas se presenta en la Figura 2. En la localidad El Corozo se observan los mayores valores en la tasa de remoción de pupas congeladas (mayor a 95%, $P < 0,0001$), lo que evidencia una alta expresión del comportamiento higiénico en las colonias estudiadas, la cual es independiente del grado de africanización ($Rho = 0,11$; $P > 0,01$), por lo que al parecer, las variables indicadoras del comportamiento defensivo no están asociadas con el comportamiento higiénico.

Es importante señalar que en la localidad Gamelotal se observaron colonias muy agresivas que presentaron la más baja tasa de remoción de pupas muertas, mientras que en la localidad Tarabana se observaron colonias poco agresivas con una moderada tasa de remoción de pupas muertas, sugiriendo que la expresión del comportamiento higiénico no guarda relación con el grado de africanización de las colonias estudiadas. No obstante, esta característica puede considerarse subestimada, ya que el criterio tomado en cuenta para evaluar el grado de africanización, fue estimado indirectamente a través de la manifestación de la conducta defensiva manifestada por las abejas y no en base a un análisis morfométrico o molecular de las obreras en las colonias de abejas bajo estudio.

El comportamiento higiénico involucra el reconocimiento y la remoción de la cría enferma por parte de las abejas obreras. Estudios recientes han demostrado que las obreras higiénicas remueven la cría enferma de la colonia antes que el patógeno pueda ser infeccioso, de tal manera que sólo las abejas que son altamente higiénicas realizan esta tarea de una forma rápida y eficiente con el fin de limitar el brote de la enfermedad, mientras que las obreras no

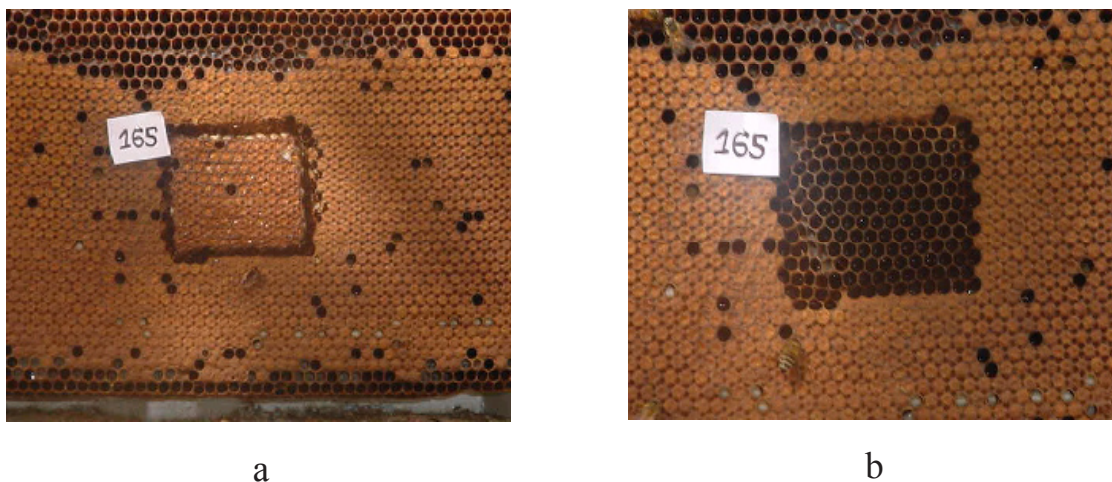


Figura 1. Pupas a) congeladas, b) removidas

higiénicas desoperculan y remueven la cría enferma solamente después que la cría se ha convertido en infecciosa (Arathi *et al.*, 2006).

En este estudio se observaron abejas obreras que rápidamente desoperculaban y removían las crías muertas por congelación consistentemente en los dos ensayos consecutivos de la misma colonia, indicando un alto grado de comportamiento higiénico. De acuerdo a estos resultados, es importante que los apicultores establezcan programas de selección por comportamiento higiénico de sus mejores colmenas tomando en consideración las características de mansedumbre y producción de las obreras en las colonias. Dado que la cópula de reina garantiza gran variabilidad genética al cruzarse con un gran número de zánganos procedentes de diferentes colmenas, este fenómeno podría explicar la gran variabilidad encontrada en este estudio, concerniente a la manifestación del comportamiento higiénico en las colonias de *A. mellifera*.

Es importante señalar que no hubo diferencias significativas en la manifestación del comportamiento higiénico de las abejas africanizadas en los dos ensayos consecutivos para la misma localidad ($P < 0,05$), lo cual significa que las abejas son consistentes en la expresión de este comportamiento en las colonias estudiadas. En la Figura 2 se puede observar que la localidad El Corozo presentó la tasa de remoción más alta para todos los niveles de africanización en las colonias, aunque la variable localidad tuvo una baja asociación con relación a la tasa de remoción de pupas muertas ($Rho = 0,338$; $P = 0,01$). Aunque el

comportamiento higiénico en las colonias se mantuvo estable en los dos ensayos consecutivos, sería necesario realizar mediciones en diferentes épocas del calendario apícola para determinar si existe algún efecto de las variables climáticas, ya que algunos estudios han determinado que el comportamiento higiénico de una colonia puede estar influenciado por ciertas condiciones ambientales y por el estado de vigor que las colonias presentan en una determinada época del año. Colonias menos vigorosas reducen marcadamente su capacidad higiénica y la abundancia de flujo nectarífero guarda una relación directa con la expresión de este comportamiento (Spivak y Gilliam, 1993). Estos autores argumentan que la expresión del comportamiento higiénico es facultativa y depende de ciertos factores ambientales, condición de fortaleza de la colonia, requerimientos de espacio de la colonia, estructura y composición de la edad de las obreras, entre otros. En este estudio se observó que la tasa de remoción de pupas de las colonias se mantuvo en un alto porcentaje considerando que las colonias de abejas estaban en la fase de postcosecha y que la entrada de néctar había disminuido notablemente en todas las localidades.

La expresión del comportamiento higiénico de las obreras en una colonia es controlada por un número que oscila entre dos y siete genes recesivos e independientes, responsables de la desoperculación y remoción de la cría enferma o parasitada (Rothenbuhler, 1964; Moritz, 1988; Lapidge *et al.*, 2002). La selección por este comportamiento permitiría obtener abejas tolerantes a las enfermedades y de esta manera

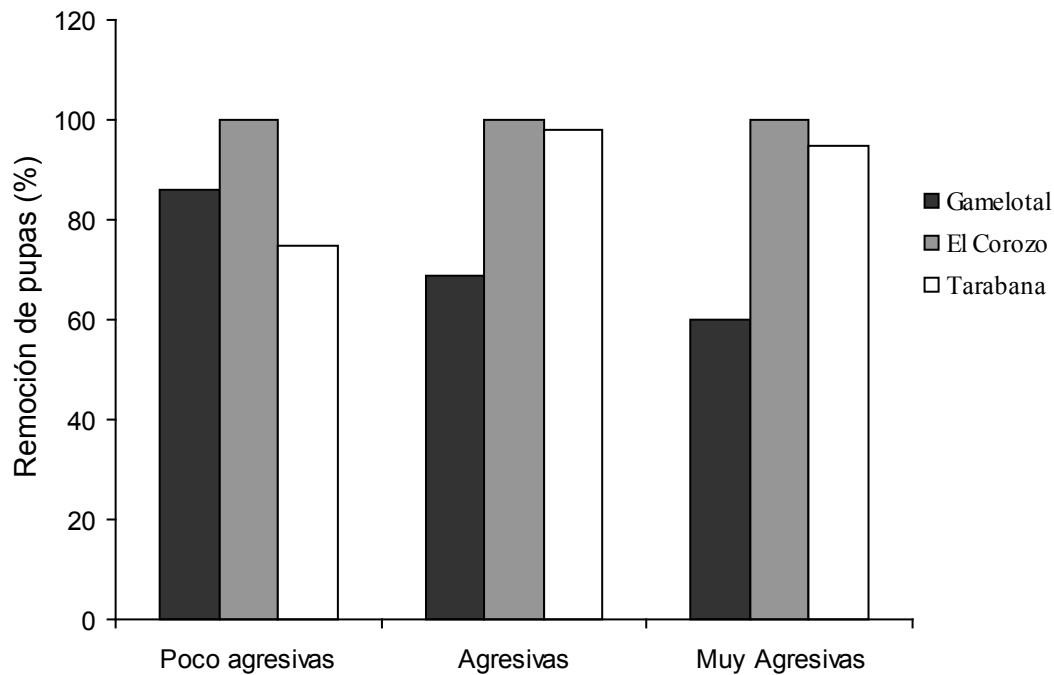


Figura 2. Comportamiento higiénico de las colonias de abejas, agrupadas de acuerdo al grado de africanización en las distintas localidades estudiadas.

disminuir la propagación e incidencia de las mismas en las colonias, evitando el uso de los quimioterápicos y la contaminación de los productos de la colmena.

El comportamiento higiénico en las abejas africanizadas se considera un importante mecanismo de tolerancia contra *V. destructor*, ya que las abejas son capaces de reconocer y remover las celdas de cría naturalmente infestadas con el ácaro, interrumpiendo de esta forma el ciclo de vida del parásito (Moretto *et al.*, 2006; Aumeier *et al.*, 2000).

Los resultados de la expresión del comportamiento higiénico de las abejas obreras en las colonias estudiadas, categorizadas según el grado de su manifestación, indicaron una gran variación en este comportamiento. El 59% de las colonias de abejas evaluadas exhibió una alta expresión del comportamiento higiénico (AH), con valores promedio mayores al 95% en la tasa de remoción de pupas muertas. El 17% de las colonias presentaron una leve manifestación del comportamiento higiénico (LH) con valores promedio menores al 75%, mientras que el 24% de las colonias presentaron un comportamiento higiénico moderado (MH) con una tasa de remoción de pupas muertas entre 75 y 95% (Figura 3).

Estos resultados concuerdan con Spivak y Downey (1998) para estudios de campo realizados en Minnesota (USA) quienes evaluaron el comportamiento higiénico en colonias de abejas *Apis mellifera ligustica* mediante dos métodos distintos. Estos autores reportaron que las colonias presentaron valores variables en la tasa de remoción de pupas muertas congeladas agrupadas como colonias con patrones de comportamiento higiénico, no higiénico e intermedio. Las colonias que removieron más del 95% de la cría muerta congelada en 48 h fueron consideradas altamente higiénicas y las que demoraron más de 6 días en remover la cría muerta congelada fueron consideradas no higiénicas. Recientemente, estudios realizados por Palacio *et al.* (2005) indicaron que puede determinarse el comportamiento higiénico de una colonia luego de pocas horas de perforar las celdas con un alfiler (“pin-killing test”) debido a que las abejas limpiadoras perciben más fácilmente el olor que producen las crías muertas a través de la perforación experimentalmente realizada para matar a la cría.

En el presente trabajo, los valores de 75 y 95% en la tasa de remoción de pupas muertas en 48 h fueron utilizados para categorizar los diferentes patrones de comportamiento higiénico de las colonias de abejas

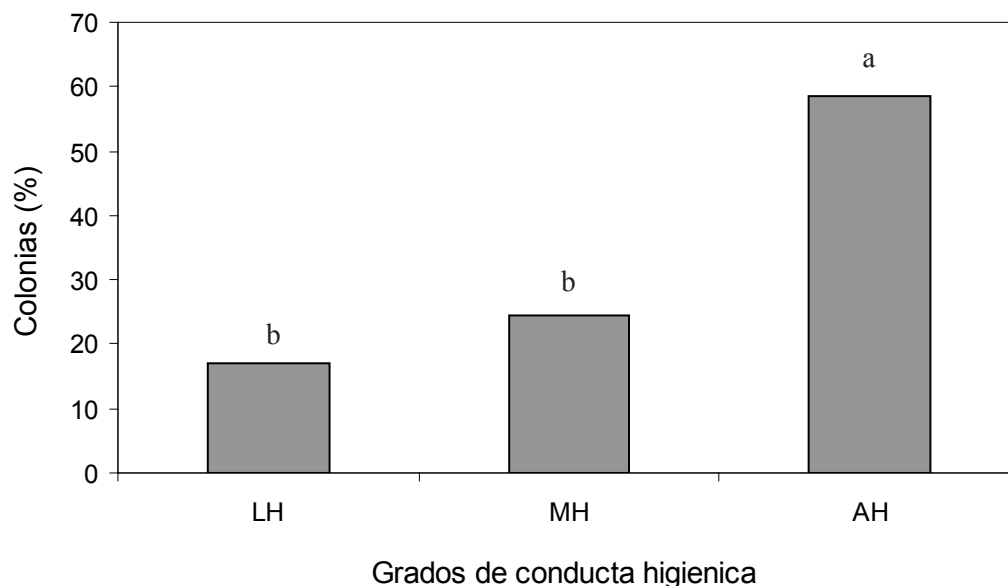


Figura 3. Patrones del comportamiento higiénico observado en las colonias de abejas evaluadas (N = 82). LH: Leve higiene, MH: Moderada higiene y AH: Alta higiene.

para la subespecie *A. m. scutellata* estudiada. Estudios similares conducidos en Argentina por Ponce y Marcangeli (2000) en híbridos de *A. m. mellifera* x *A. m. ligustica* indicaron gran variación en el grado de manifestación del comportamiento higiénico en las abejas, categorizando las colonias en patrones de comportamiento higiénico alto y bajo para aquellas colonias que expresaron una tasa de remoción mayor del 80% y menor del 70%, respectivamente. Las colonias con alto comportamiento higiénico presentaron menor incidencia de enfermedades infectocontagiosas (Spivak y Gilliam, 1993; Spivak, 1996; Palacio *et al.*, 2000), de tal manera que, si los productores apícolas realizan un manejo biológico de las colmenas que favorezca la presencia de este comportamiento, se podría evitar el uso de quimiosintéticos que no siempre son efectivos y que suelen dejar residuos en los productos de comercialización de la colmena (McKee, 2004).

CONCLUSIONES

Esta investigación permitió demostrar la presencia del comportamiento higiénico en las abejas africanizadas en los apiarios de tres localidades del estado Lara, Venezuela, observándose que la tasa de remoción de pupas muertas más alta fue obtenida en la localidad El Corozo. Se concluye que

el comportamiento higiénico presentó gran variación en el grado de manifestación en abejas africanizadas observándose un 17, 24 y 59% de colonias con patrón de comportamiento higiénico leve, moderado y alto, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Aumeier P., P. Rosenkranz y L.S. Gonçalves. 2000. A comparison of the hygienic response of Africanized and European (*Apis mellifera carnica*) honey bees to *Varroa*-infested brood in tropical Brazil. *Gen. Molec. Biol.*, 23(4): 787-791.
- Arathi H. S., G. Ho y M. Spivak. 2006. Inefficient task partitioning among nonhygienic honeybees, *Apis mellifera* L., and implications for disease transmission. *Anim. Beh.*, 72(2): 431-438.
- Bravo H. y L. Paparella. 1992. Estadística Aplicada para el Sector Agrícola. Conceptos, Procedimientos y Aplicaciones. Editorial UCLA, Barquisimeto, Venezuela.
- Correa Marques M.H., D. De Jong, P. Rosenkranz y L.S. Gonçalves. 2002. *Varroa*-tolerant Italian honey bees introduced from Brazil were not more efficient in defending themselves against

- the mite *Varroa destructor* than Carniolan bees in Germany. *Gen. Molec. Res.*, 1(2): 153-158.
- Gilliam M., S. Taber y G.V. Richardson. 1983. Hygienic behavior of honey bees in relation to Chalkbrood disease. *Apidologie*, 14: 29-39.
- Gramacho K. P. y M. Spivak. 2003. Differences in olfactory sensitivity and behavioral responses among Money bees bred for hygienic behavior. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 54: 472-479.
- Guerra Jr. J. C. V., L. S. Gonçalves y D. De Jong. 2000. Africanized honey bees (*Apis mellifera* L.) are more efficient at removing worker brood artificially infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans than are Italian bees or Italian/Africanized hybrids. *Gen. Molec. Biol.*, 23(1): 89-92.
- Lapidge K. L., B. P. Oldroyd y M. Spivak. 2002. Seven suggestive quantitative loci influence hygienic behavior of honey bees. *Naturwissenschaften*, 89: 565-568.
- McKee B. 2004. Contamination issues for honey in Australia. Intern. Workshop of Quality Honey. Capilano Group of Companies, Rafaela, Santa Fé, Argentina.
- Momot J. P. y W. C. Rothenbuhler. 1971. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. VI. Interactions of age and genotype of bees and nectar flow. *J. Apic. Res.*, 10: 11-21.
- Moretto G., J.C.V. Guerra Jr. y C.V. Bittencourt. 2006. Uncapping activity of *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) towards worker brood cells infested with the mite *Varroa destructor* Anderson & Treuman (Mesostigmata: Varroidae). *Neotrop. Entomol.*, 35(3): 299-301.
- Moritz R.F.A. 1988. A re-evaluation of the two locus model for hygienic behavior in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Hered.*, 79: 257-262.
- Palacio M. A., E. Figini, S. Ruffinengo, E. Rodríguez, M. del Hoyo y E. Bedascarrasbure. 2000. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for hygienic behavior and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*, 31: 471-478.
- Palacio M. A., J. M. Flores, E. Figini, S. Ruffinengo, A. Escande, E. Bedascarrasbure, E. Rodríguez y L.S. Gonçalves. 2005. Evaluation of the time of uncapping and removing dead brood cells by hygienic and non-hygienic honey bees. *Gen. Molec. Res.*, 4(1): 106-114.
- Ponce A. y J. Marcangeli. 2000. Comportamiento higiénico de la abeja *Apis mellifera* L. en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Apiacta*, 35(4): 176-182.
- Rath W. y W. Drescher. 1990. Response of *Apis cerana* Fab. towards brood infested with *Varroa jacobsoni* Oud. and infestation rate of colonies in Thailand. *Apidologie*, 21: 311-321.
- Rothenbuhler W. C. 1964. Behavior genetics of the nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F₁ and backcross generations to disease-killed brood. *Am. Zoo.*, 4: 111-123.
- SAS Institute. 1999. SAS user's guide. Statistics. 6^{ta} ed. SAS Inst., Cary, NC.
- Spivak M. y D. Downey, 1998. Field assays for hygienic behavior in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 64-70.
- Spivak M. y M. Gilliam. 1993. Facultative expression of hygienic behaviour of honey bees in relation to disease resistance. *J. Apic. Res.*, 32 (3-4): 147-157.
- Spivak M. 1996. Honey bees hygienic behavior as a defense against *Varroa jacobsoni* *Apidologie*, 27: 245-260.
- Taber S. 1982. Determining resistance to brood diseases. *Am. Bee J.*, 122: 422-425.
- Thompson V.C. 1964. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. III. Effect of age of bees of a resistant line on their response to disease-killed brood. *J. Apic. Res.*, 3(1): 25-30.

