



Gobierno  
Bolivariano  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la Agricultura y Tierras

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Zootecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

tropical

ecnia  
tropical

Zootecnia  
tropical

# Zootecnia tropical

Zootecnia  
tropical  
Depósito Legal: pp. 198302AR214  
ISSN: 0798 - 7269  
AÑO 33 VOL. 33 No. 4 2015

# ZOOTECNIA TROPICAL

Zootecnia Trop.

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

## Agradecimientos

Los miembros del Comité Editorial de la revista Zootecnia Tropical desean expresar públicamente su agradecimiento, a las personas abajo mencionadas, por su valiosa colaboración en la revisión de los artículos científicos que conforman el Volumen 33 del año 2015.

Adriana Fernandez. UCV. Edo.Aragua.  
Alexander Sánchez. INIA. Edo. Falcón.  
Amayri Alvarado. INIA CENIAP. Edo. Aragua.  
Ángel González. UDO. Edo. Bolívar.  
Ángel Valdespino. INIA CENIAP. Edo. Aragua.  
Anniello Barbarino. INIA. Edo. Apure.  
Antonio Manrique. UNERG. Edo. Guarico.  
Arturo Trejo. Universidad Nacional Autónoma de México. México.  
Bernave Melendez. UCV. Edo.Aragua.  
Carlos Becerreil. Colegio de Postgraduados Campus. México.  
Carlos Moreno. INIA. Edo. Delta Amacuro.  
Douglas Altuve. INIA. Edo. Sucre.  
Emir Espinoza. INIA CENIAP. Edo. Aragua.  
Espartaco Sandoval. INIA. Edo. Falcón.  
Gabriela Koza. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.  
Germán Poleo. UCLA. Edo. Lara.  
Gustavo Nouel. UCLA. Edo. Lara.  
Jesús Ponce. Universidad Autónoma de Nayarit.  
José Fariñas. INIA. Edo. Monagas.

José Pérez. UNERG. Edo. Guárico.  
Judith Principal. UCLA. Edo. Lara.  
Mateo Itza. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México.  
Mileky Perdomo. UCLA. Edo. Lara.  
Noris Roa. INIA CENIAP. Edo. Aragua.  
Omar Verde. Facultad de Ciencias Veterinarias - UCV- Maracay.  
Oscar de la Rosa. INIA CENIAP. Edo. Aragua.  
Otto Castillo. Unellez. Edo. Portuguesa.  
Oziel Montañez. Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara. México.  
Pablo Díaz. Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. México.  
Rafael Galíndez. UCV. Edo. Aragua.  
Ramón D'aubeterre. INIA. Edo. Lara.  
Robert Mora. Unet. Edo. Táchira.  
Thaís Diaz. UCV. Edo. Aragua.  
Vanessa Acosta. UDO. Edo. Sucre.

De igual manera, agradecemos a todos aquellos investigadores que nos enviaron sus artículos. Invitamos a la comunidad científica especialista en el área de producción y sanidad animal a continuar remitiendo sus trabajos a la revista Zootecnia Tropical.

**TABLA DE CONTENIDO Vol. 33 N° 4**

**Artículos Científicos**

Pantiu A. J., Capellari A. y Gímenez L. I. Recría de vaquillas de reposición en un sistema foresto ganadero de la provincia de Misiones, Argentina .....	283
Cuartas Cardona C. A., Naranjo Ramírez J. F., Tarazona Morales A. M., Barahona Rosales R., Rivera Herrera J. E., Arenas Sánchez F. A. y Correa Londoño G. A. Valor nutritivo y cinética de fermentación in vitro de mezclas forrajeras utilizadas en sistemas silvopastoriles intensivos .....	295
Castañeda Serrano R. D., Ferriani Branco A. y Peñuela Sierra L. M. Sustitución del maíz por glicerina cruda en dietas para ganado de carne: fermentación, cinética ruminal y metabolitos sanguíneos .....	307
Salamanca Carreño A., Monroy N., Parés-Casanova P. M. y Crosby G. R. A. Aporte a la evaluación para la preservación del caballo Criollo Araucano en Colombia .....	317
Guerrero R. J., Hernandez N. T., Espinoza-Rodríguez N., Barrios-Garrido H., Montiel M. y Morales F. Composición de tallas e índice de condición de la almeja estuarina en Curarire, Estado Zulia, Venezuela .....	327
Vite C., Purroy R., Vilaboa J. y Severino V. Factores genéticos y no genéticos que afectan los índices productivos y reproductivos de vacas doble propósito en la huasteca veracruzana .....	337
Salamanca Grosso G., Hernández López J. A. y Osorio Tangarife M. P. Fracción fenólica y flavonoides totales del polen corbicular colombiano: actividad antioxidante y capacidad antirradicalaria .....	351
<b>Nota Técnica</b>	
Arteaga F., Hurtado E., Mendoza N. y Velásquez J. Utilización del NIM para el control biológico de la garrapata en ganado vacuno .....	377
Instrucciones al autor .....	387

**TABLE OF CONTENTS Vol. 33 N° 4**

**Scientific Articles**

Pantiu A. J., Capellari A. and Gimenez L. I.  
 Rebreeding replacement heifers on a cattle forest system in the province of Misiones, Argentina ..... 283

Cuartas Cardona C. A., Naranjo Ramírez J. F., Tarazona Morales A. M., Barahona Rosales R., Rivera Herrera J. E., Arenas Sánchez F. A. and Correa Londoño G. A.  
 Nutritional value and kinetics of in vitro fermentation of forage mixtures used in intensive silvopastoral systems ..... 295

Castañeda Serrano R. D., Ferriani Branco A. and Peñuela Sierra L. M.  
 Replacement of corn by crude glycerin in beef cattle diets: ruminal fermentation, rumen kinetic and blood metabolites ..... 307

Salamanca Carreño A., Monroy N., Parés-Casanova P. M. and Crosby G. R. A.  
 Contribution to the evaluation and preservation of “Araucano Criollo” horse in Colombia ..... 317

Guerrero R. J., Hernandez N. T., Espinoza-Rodríguez N., Barrios-Garrido H., Montiel M. and Morales F.  
 Condition index and size of the estuarine clam at Curarire, Zulia State, Venezuela ..... 327

Víte C., Purroy R., Vilaboa J. and Severino V.  
 Factors affecting productive and reproductive indices of dual purpose cows in low huasteca veracruzana ..... 337

Salamanca Grosso G., Hernández López J. A. y Osorio Tangarife M. P.  
 Phenolic fraction and total flavonoids in colombian corbicular bee pollen: antioxidant and free radical scavenging activity ..... 351

**Technical Note**

Hernández J., Navarrete R., Alonso M., Benítez J., Gómez A., Bernal H., Moreno L. and Orozco M.  
 Using NIM for the biological control of ticks in cattle ..... 351

Instructions to the author ..... 387

## Recría de vaquillas de reposición en un sistema foresto ganadero de la provincia de Misiones, Argentina

### Rebreeding replacement heifers on a cattle forest system in the province of Misiones, Argentina

Andrea J. Pantiu<sup>1\*</sup>, Adriana Capellari<sup>1</sup> y Laura I. Gímenez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Facultad de Ciencias Veterinarias. Correo electrónico: apantiu@gmail.com. <sup>2</sup>UNNE, Facultad de Ciencias Agrarias. Argentina.

#### RESUMEN

El objetivo fue comparar dos tratamientos de alimentación, permanente vs estratégica invernal, en variables de crecimiento corporal y reproductivo de vaquillas de recría hasta alcanzar el peso de entore en un sistema foresto ganadero. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con 2 tratamientos y 4 repeticiones; para el tratamiento 1 suplementación permanente: los animales recibieron su ración diaria de maíz y expeller de algodón al 0,83% del peso vivo (PV), pastoreando *Axonopus* durante los 9 meses que duró el ensayo. Para el tratamiento 2 suplementación estratégica invernal: la ración fue administrada durante 4 meses (invierno), el resto del periodo consumieron sólo pastura. Cada 30 días se tomó el peso vivo (PV), la ganancia total (GT) y diaria de peso (GDP), la alzada a la cruz (AC) y alzada a grupa (AG), el largo corporal (LC) y el perímetro torácico (PT). Al finalizar la recolección, se procedió a la medición del grado desarrollo reproductivo (GDR). Los datos se analizaron en un contexto de modelos lineales generales y mixtos para medidas repetidas en el tiempo; para la variable GDR se realizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis. Los resultados no arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos, hallando los PV finales: 274,2±5,8 y 262±5,8Kg, GT 112,5±5,4 y 101,2±5,2Kg, GDP 0,46±0,03 y 0,41±0,03Kg/animal, AC 1,16±0,01 y 1,16±0,01m, AG 1,2±0,01 y 1,2±0,01m, LC 0,91±0,01 y 0,91±0,01m, PT 1,47±0,01 y 1,56±0,01m y GDR 2,76±0,2 y 2,54±0,2 para T1 y T2 respectivamente. Siendo suficiente con realizar una suplementación estratégica invernal en la recría de vaquillas en sistemas foresto ganaderos.

**Palabras claves:** Ganancia diaria promedio, manejo sustentable, ganadería.

#### ABSTRACT

The aim was to compare two treatments strategic permanent vs winter strategic supplementation on variables of body and reproductive growth heifer rearing up to the weight of weanign in a forestry livestock system. The experimental design was completely randomized with two treatments and four repetitions. In treatments 1 (T1): permanent supplementation, the animals received daily ration of maize and cotton expeller 0.83% live weight, grazing *Axonopus*, during the 9 months of the trial. While in treatments 1 (T2): Winter strategic supplementation, the ration was administered for 4 months (winter), the remaining period only consumed pasture. Every 30 days daily live weight (PV), total gain (GT) and weight (GDP), height at the withers (AC) and croup (AG), body length (LC), thoracic perimeter (PT) was taken; at the end of the experience, we proceeded to grade reproductive development measurement (GRD). The data were analyzed in a context of general and linear mixed models for repeated measures over time and for variable GRD Kruskal Wallis, nonparametric test was performed. The results yielded no significant differences between treatments being PV 274.2±5.8 and 262±5.8Kg, GT 112.5±5.4 and 101.2±5.2Kg, GDP 0.46±0.03 and 0.41±0.03Kg/animal, AC 1.16±0.01 and 1.16±0.01m, AG 1.2±0.01 and 1.2±0.01 m, LC 0.91±0.01 and 0.91±0.01m, PT 1.47±0.01 and 1.56±0.01m and GRD 2.76± 0.2 and 2.54±0.2 for T1 and T2 respectively. It's enough to make a strategic supplementation in winter heifer rearing in forestry livestock systems.

**Key words:** average daily gain, sustainable management, livestock.

Recibido: 06/07/15 Aprobado: 16/01/16

## INTRODUCCIÓN

En la región nordeste de Argentina (debido a su crecimiento estacional) las pasturas tienen limitaciones para aportar sus nutrientes a los animales, sobre todo durante la época seca. Los sistemas pastoriles están muy expuestos a las variaciones climáticas y esto ocasiona cambios en el aporte de forraje y composición nutricional (Pizzio *et al.*, 1999). El contenido de proteína bruta (PB) oscila entre 4 a 6%, la digestibilidad de materia seca (MS) menos del 50% y la energía metabolizable (EM) de 1,4 a 1,8 Mcal/kg/MS. La escasez de cantidad y calidad de éstas, determinan un inadecuado consumo por parte de los animales, comprometiendo severamente su productividad (Peruchena y Dascanio, 1992).

Además de afectar en el peso y desarrollo de los bovinos en crecimiento, provoca a nivel reproductivo una baja tasa de concepción, disminución de la intensidad del estro, reabsorciones fetales, partos prematuros y crías débiles (Fuquay y Bearden, 1982). Con mayor disponibilidad de MS y PB, se obtendrían mayores ganancias de peso y se disminuiría el período de engorde (Peruchena y Dascanio, 1992). El uso de la suplementación, como alternativa inmediata disminuiría o corregiría éste déficit.

La técnica de la suplementación, ampliamente utilizada en toda la región subtropical, permite adicionar los nutrientes deficitarios en las pasturas para mejorar la eficiencia de utilización del forraje, principal herramienta para la intensificación y diversificación de los modelos productivos tradicionales (Euclides, 2000). En los sistemas subtropicales, la proteína y la energía son las principales limitantes para el crecimiento animal durante la estación invernal (Poppi y McLennan, 1995). Por lo que, la suplementación estratégica favorecería la ganancia de PV de los animales, la eficiencia de conversión del forraje base así como, el acortamiento de los ciclos de recría y engorde (Peruchena y Dascanio, 1992).

En el marco de un sistema de cría extensivo, las vaquillas de reposición constituyen una categoría crítica en la producción del ganado para carne, sobre todo durante las épocas de déficit del campo natural (Pilau *et al.*, 2003) cuyos principales fracasos se deben a la inadecuada

alimentación. El objetivo principal de la recría de vaquillas de reposición es lograr la producción de hembras que alcancen ciclicidad reproductiva antes del inicio del servicio (Sommelmann *et al.*, 2001).

Los resultados de investigaciones en Cuba, sugieren que la recría de las hembras en desarrollo se realice bajo sistemas foresto ganaderos, ya que el nivel de alimentación que se origina en estas condiciones evita pérdidas de peso en los períodos más críticos del año y propicia resultados productivos superiores que los obtenidos en los sistemas tradicionales de producción (Iglesias *et al.*, 2009). Estos sistemas, representan una modalidad de uso de la tierra donde coexisten interacciones ecológicas y/o económicas, positivas y negativas entre los componentes arbóreos, forrajeros y ganaderos bajo un manejo sustentable (Cameron *et al.*, 1994).

Los sistemas foresto ganaderos; se están difundiendo aceleradamente en el noreste de Corrientes y en la provincia de Misiones de Argentina. Es por esto que, el objetivo experimental de este trabajo fue comparar 2 tratamientos de alimentación: T1 permanente (todo el período experimental) vs T2 estratégica invernal, sobre variables de crecimiento corporal y reproductivo en recrias de vaquillonas hasta alcanzar su peso de entore, dentro de un sistema foresto ganadero del norte de la provincia de Misiones, Argentina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo durante el año 2012 dentro del establecimiento El Molino de la empresa Plantar S. A. ubicado en Puerto Esperanza, departamento Iguazú, provincia de Misiones, Argentina. Localizada geográficamente a los 26° 01' 26,41''S y 54° 34' 32,51''O.

El clima de la región es subtropical húmedo, con temperaturas medias anuales del orden de los 21,5°C, presencia de heladas invernales y precipitaciones medias anuales del orden de los 1.800 mm (Gunther *et al.*, 2008). Durante el año del ensayo las lluvias se comportaron de forma similar al promedio de la mínima anual, siendo de 1.497,5 mm; es decir, inferior a la media.

Se trabajó dentro de un sistema foresto ganadero, constituido por *Pinus elliottii var elliottii x Pinus caribaea var. Hondurensis* F2 (pino híbrido F2, componente forestal) *Axonopus catarinensis* (pasto jesuita gigante, componente forrajero) y vaquillonas para recría tipo Braford, con una edad promedio de 10 meses (componente animal).

Durante el ensayo, no se realizaron tareas silvoculturales (poda y raleo), manteniéndose constante el número de 400 árboles/ha. Los datos de las variables forestales, a una edad de 7 años, fueron diámetro a la altura del pecho promedio  $21,6 \pm 0,3$  cm; altura total  $14,6 \pm 0,2$  m; altura de poda  $6,33 \pm 0,12$  m; longitud de copa viva/ha  $3.334,5 \pm 89,6$  m y radiación fotosintéticamente activa  $59,7 \pm 3,62\%$ .

El pasto jesuita gigante en estado vegetativo, presentó similar disponibilidad y calidad en todos los potreros siendo de 3645 Kg MS/ha; 2,88 Mcal EM/Kg MS; 45,48% de digestibilidad *in vitro*; 13,06% PB; 65,31% TND y 67,13% de fibra detergente neutro (FDN).

Para el ensayo, se utilizaron 56 vaquillas de reposición Braford con PV promedio de 160 Kg, identificadas mediante caravanas y asignadas al azar a los T1 y T2. Todos los animales se mantuvieron bajo las mismas condiciones de sanidad, manejo y carga animal.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado en los T1 y T2 con 4 repeticiones que correspondían a lotes de pastoreo de 2,5 ha

cada uno, con sus comederos y bebederos tratados de forma simultánea en potreros continuos. La unidad experimental fue cada lote que alojaba 7 vaquillonas (2,8 vaq/ha), tanto los tratamientos como los animales fueron aleatorizados a los potreros. A partir del mes de septiembre, la carga animal se redujo en cada potrero de 2,8 a 2,4 cabezas/ha hasta finalizar el ensayo, debido a una prolongada sequía que afectó la disponibilidad de la pastura.

En el T1 los animales recibieron suplementación durante los 9 meses que duró el ensayo. La ración fue formulada manteniendo una GDP de 0,6 kg/día, con el fin de alcanzar los 320 kg de PV (peso de entore). En el T2, los animales recibieron el mismo suplemento que en el T1, pero sólo durante 4 meses (invierno); el resto del periodo los animales consumieron sólo pastura.

En ambos casos, la ración administrada fue ajustada en base a una fórmula, teniendo en cuenta los valores de calidad y disponibilidad de la pastura, así como, el peso de los animales; luego para determinar la ganancia total (GT Kg) y diaria de peso (GDP Kg) se tomó el peso de los animales cada 30 días con báscula individual, sin desbaste previo. En simultáneo se midieron la alzada a la cruz (AC), alzada a grupa (AG), largo corporal (LC) y perímetro torácico (PT), utilizando una cinta métrica flexible. Al final del ensayo se llevó a cabo la medición del grado de desarrollo reproductivo (GDR), por ecografía transrectal usando la escala de 1 a 5 según Anderson *et al.* (1991), Cuadro 1.

Cuadro 1. Grado de desarrollo reproductivo según Anderson et al. (1991).

GDR	Cuernos uterinos	Largo del ovario (mm)	Altura del ovario (mm)	Ancho del ovario (mm)	Estructuras ováricas
1	Inmadura, < 20 mm diámetro, sin tono	15	10	8	Folículos no palpables
2	20 a 25 mm diámetro, sin tono	18	12	10	Folículos de 8 mm
3	> 20 a 25 mm diámetro, leve o ligero tono	22	15	10	Folículos de 8 a 10 mm
4	30 mm diámetro, buen tono	30	16	12	Folículos de 10 mm CL posible
5	> 30 mm diámetro, erecto	> 32	20	15	CL presente

El suplemento estuvo compuesto por 56% de maíz y 44% de expeller de algodón; a un promedio de 0,80 y 0,53Kg MS/animal/día respectivamente, el nivel promedio fue de 0,83% del PV, disponiendo el pasto jesuita gigante *ad libitum*. En el Cuadro 2, se consigna el resultado del análisis de los componentes nutricionales de los ingredientes empleados.

El método de pastoreo fue rotativo, para ello se dividió cada potrero en cuatro parcelas de pastoreo; rotando a los animales dentro del remanente no pastado. Caminando cada franja en zigzag y contando los pasos en referencia a las varillas de los alambrados se registraron los sectores no pastoreados. El remanente se calculó como la proporción de puntos no pastados sobre el total de pasos. Cuando una de las repeticiones de un tratamiento alcanzaba el 10% de remanente, se procedía a la rotación de los animales de todas las repeticiones. Estas mediciones se realizaron los días lunes, miércoles y viernes (Pantiu *et al.*, 2015).

Los datos se analizaron en un contexto de modelos lineales generales y mixtos, a través de un modelo marginal de estructura autorregresiva para medidas repetidas en el tiempo a cada variable del componente animal tomadas cada treinta días durante nueve meses. Las variables dependientes fueron: PV, GDP, GT, AC, AG, LC y PT; y las variables clasificatorias: tratamiento, parcela y tiempo. Para analizar estos datos, como

estrategia general se ajustaron los modelos con distintas estructuras de covarianza, combinando apropiadamente estructuras de correlación residual, heteroscedasticidad residual y efectos aleatorios. Mediante criterios de verosimilitud penalizada, criterio de información de Akaike y Bayesiana (AIC y BIC) se eligió el modelo que mejor describió los datos, y usando este modelo se realizaron inferencias acerca de las medias (se compararon los tratamientos y se estudió el efecto del tiempo). Cabe destacar que este modelo tiene en cuenta el orden en que fueron tomadas las observaciones. Para evaluar diferencias de tratamiento en la variable GDR se realizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis; cuyos análisis fueron realizados utilizando el programa InfoStat con matriz R (Balzarini *et al.*, 2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los T1 y T2 para ninguna de las variables analizadas ( $P > 0,05$ ). El efecto tiempo (mayo a enero) reveló una influencia significativa, sin interacción tratamiento x tiempo (Cuadros 3, 4, 5 y 6); los PV finales alcanzados por las vaquillas fueron  $274,2 \pm 5,8$  y  $262 \pm 5,8$  Kg de PV para T1 y T2 respectivamente (Cuadro 3).

Los resultados obtenidos concuerdan con Viñoles *et al.* (2009), quienes reportaron pesos finales de 260 Kg PV en la recría de terneras en un

Cuadro 2. Valores nutricionales del maíz y expeller de algodón y porcentaje de suplementación de los ingredientes. Los análisis fueron llevados a cabo en el laboratorio de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA) Rafaela, Argentina.

VARIABLES	Maíz	Expeller de Algodón
Fibra Detergente Neutra (%)	31,34	38,67
Fibra Detergente Acida (%)	3,79	22,90
Total Nutrientes Digestibles (%)	85,23	74,27
Energía Digestible (Mcal/Kg de MS)	3,76	3,28
Hemicelulosa (%)	27,55	15,77
Proteína Bruta (%)	11,01	45,42
Digestibilidad in vitro materia seca (%)	85,54	68,67

Cuadro 3. Medias ajustadas y error estándar (E.E.) para T1 y T2, de la variable PV de vaquillas Braford en un sistema foresto ganadero, Puerto Esperanza Misiones Argentina.

Meses	PV (Kg)	
	T1	T2
May	163,5±5,7 a	157±5,7 a
Jun	178±5,7 b	169±5,7 b
Jul	192,6±5,7 c	181,1±5,7 c
Ago	207,2±5,7 d	193,2±5,7 cd
Sep	217,7±5,7 d	203±5,7 d
Oct	233±5,7 e	225±5,7 e
Nov	249,8±5,7 f	239,2±5,7 f
Dic	262,6±5,7 g	251,7±5,7 g
Ene	274,2±5,7 g	262±5,7 g

Medias con una letra distinta en los meses dentro de tratamiento significan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ).

sistema silvopastoril (SSP), con suplementación de afrechillo de arroz al 0,7% del PV. Así mismo, Semmelmann *et al.* (2001) observaron 262,5 Kg PV promedio en los tratamientos evaluados con distintas fuentes de proteína sobre diferentes pasturas (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu y *Pennisetum americanum*).

Otros autores han obtenido valores superiores de PV utilizando suplementación, comparados a los registrados en el presente ensayo. Peruchena y Dascanio (1992), obtuvieron pesos finales de 290,8 y 275,5 Kg PV en vaquillas criadas con suplementación, utilizando 2 niveles de oferta forrajera (alta, 2.200Kg MS/animal y baja, 1.100 Kg MS/animal), mientras que Koza *et al.* (2008) reportaron pesos finales de 290,4; 295,8 y 271,2 Kg PV utilizando semillas de algodón, soja y testigo respectivamente. Los resultados para las GT y GDP vivo se presentan en el Cuadro 4.

A pesar de que no se detectaron diferencias significativas para la variable GT, se observó un 10% más de ganancia total de peso en las vaquillas del T1, comparadas con el T2, lo cual indica que al decidir el tipo de herramienta tecnológica a utilizar, es muy importante hacer un análisis económico previo (Cuadro 4).

Bajo las condiciones del presente ensayo, los animales experimentados en el T1 obtuvieron 114 Kg de GT, mientras que los experimentados en el T2 fueron de 102 Kg. Luisoni (2000) señala que se producen de 60 a 90 kg por hectárea y por año durante la recría a campo, según tipo de pastizal y manejo; mientras que con alimentación suplementaria se alcanzan de 100 a 120 Kg.

En cuanto a la GDP, los valores obtenidos fueron de 0,46±0,03 y 0,41±0,03 Kg por animal para los T1 y T2 respectivamente. Sin embargo, Sampedro *et al.* (2004) indicaron que sobre el campo natural era posible mantener la ganancia de peso durante el invierno con una oferta inicial de forraje de 1.000 Kg MS/animal. Mientras, que manejando el pastoreo con una disponibilidad de 2.500 Kg MS/animal, se obtienen 0,228 Kg/animal/día. Esto demuestra, que manejando la cantidad de la pastura es posible pasar de una situación de pérdida de peso a una de mantenimiento o aumento. En este ensayo, trabajando en un sistema foresto ganadero con una pastura cultivada (promedio de 1.580 Kg de MS/animal) más suplementación, se obtuvo una ganancia de peso que duplica los resultados logrados por los autores mencionados.

Cuadro 4. Medias ajustadas y error estándar (E.E.) para T1 y T2, de las variables GT y GDP vivo de vaquillas Braford en un sistema foresto ganadero, Puerto Esperanza Misiones Argentina.

Meses	GT (Kg)		GDP (Kg)	
	T1	T2	T1	T2
Jun	14,6±2,3 ab	12,1±2,3 ab	0,47±0,7 ab	0,39±0,7 ab
Jul	14,6±2,3 ab	12,1±2,3 ab	0,49±0,7 ab	0,40±0,7 ab
Ago	14,6±2,3 ab	12,1±2,3 ab	0,47±0,7 ab	0,39±0,7 ab
Sep	10,5±2,3 b	9,8±2,3 b	0,34±0,7 b	0,32±0,7 b
Oct	16,8±2,3 a	15,4±2,3 a	0,56±0,7 a	0,51±0,7 a
Nov	17,1±2,3 a	13,9±2,3 ab	0,55±0,7 a	0,45±0,7 ab
Dic	12,8±2,3 ab	12,6±2,3 ab	0,41±0,7 a	0,41±0,7 ab
Ene	11,5±2,3 ab	10,3±2,3 ab	0,41±0,7 ab	0,39±0,7 ab

Medias con una letra distinta en los meses dentro de tratamiento significan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ )

Por otra parte, para obtener respuesta a la suplementación energético proteica se requieren de dos factores fundamentales; uno es que la oferta forrajera no debe ser limitada, debe contarse con una alta disponibilidad; si ésta es escasa, no existe respuesta de los animales, disminuyendo así el consumo de alimento. Otro factor importante es que la pastura debe ser de baja calidad, con alto contenido en fibra y bajo en proteína. Así pues, con niveles adecuados de nitrógeno, se produce sustitución del suplemento actuando como fuente de energía (Soto y Reinoso, 2007). Dolberg y Finlayson (1995) al utilizar rastrojo de trigo tratado con amoníaco, en el cual, la proteína degradable en rumen no era limitante para los microorganismos ruminales, pudieron observar que a medida que aumentaba el consumo de torta de semilla de algodón, disminuía marcadamente el del forraje, ocasionando una sustitución de éste por el suplemento.

En pasturas con niveles adecuados de nitrógeno la suplementación proteica no incrementa el consumo de las mismas (Allden, 1981; Sanson, 1993; Matejovsky y Sanson, 1995; Poppi y McLennan, 2010; Moore *et al.*, 1999; Mathis *et al.*, 2000). Es decir, para lograr una respuesta positiva a la suplementación proteica el forraje debe ser de baja calidad, deficiente en proteína y debe encontrarse en alta disponibilidad para que los animales puedan expresar un incremento en

el consumo de pasto; suplementándolo a bajo nivel con un alimento de elevado tenor proteico (Soto y Reinoso, 2007).

Por otro lado, Sampedro *et al.* (1998) no tuvieron diferencias significativas en las GDP obtenidas con suplementación invernal (0,429 Kg/animal/día) e invernal/primaveral (0,454 Kg/animal/día), siendo las mismas muy similares a las halladas en el presente ensayo.

Saravia *et al.* (2013) evaluaron la suplementación energético proteica estratégica con semilla de algodón al 0,6% del PV en la recría de vaquillas cruza Braford bajo un sistema foresto ganadero con bosque nativo, obteniendo ganancias de 0,413 Kg/animal/día en el primer año de recría. Por su parte, Viñoles *et al.* (2009) alcanzaron 0,450 Kg/animal/día en terneras alimentadas con afrechillo de arroz bajo un sistema foresto ganadero y Houriet *et al.* (2009) lograron un valor promedio de 0,46 Kg/animal/día en vaquillas bajo sistema foresto ganadero con pasto jesuita gigante más caña de azúcar y maíz suministradas en invierno.

No obstante, Salado *et al.* (2005) evaluaron el efecto del suministro de semilla de algodón sobre la GDP invernal de terneras Braford pastoreando *Gatton panic (Panicum maximum)*, obteniendo así pocas diferencias entre el lote suplementado (0,560 Kg/animal/día) y el lote control (0,571 Kg/animal/día).

Chaparro y Pueyo (2001), midieron en terneros al destete, el efecto de la alimentación invernal con semilla de algodón sobre pasturas de dicantio rastrero (*Dichanthium caricosum*), sobre las GDP invernales, así como sobre las ganancias posteriores en primavera/verano, logrando diferencias durante el invierno de 0,448 en tratados vs 0,347 Kg/animal/día en los testigos, sin obtener el mismo resultado en el segundo período (0,665 Kg/día testigo vs 0,644 Kg/día tratados).

En contraposición a los resultados del presente trabajo, De la Torre *et al.* (1998) alcanzaron diferencias significativas en GDP entre los tratamientos de suplementación permanente (0,688 Kg) y estratégica invernal (0,561 Kg), demostrando que la alimentación continua le permitió un mejor margen individual y productividad por área. En esta experiencia no se logró mantener 0,6 Kg/animal/día; registrándose variaciones, con una importante disminución de la GDP en el mes de septiembre. Lo cual pudo estar relacionado a las bajas precipitaciones ocurridas durante este periodo; ya que en el mismo se registró una prolongada sequía, que afectó la disponibilidad de la pastura.

En cuanto a las medidas zoométricas (Cuadros 5 y 6) se pudo observar que las vaquillas de

reposición incrementaron en promedio 0,22 m de AC, 0,35 m de AG, 0,12 m de LC y 0,28 m de PT, durante el período evaluado.

Di Marco (1998), hace referencia a que la altura de un animal puede verse afectada, entre otros factores, por la alimentación. Contrariamente, en el presente trabajo, estas variables no fueron influenciadas por el tratamiento. Según Bailey y Lawson (1989), los animales crecen más en altura que en longitud, siendo esto coincidente con lo observado en el ensayo (Cuadros 5 y 6); las vaquillonas tuvieron un crecimiento marcado en altura y perímetro, respecto al largo corporal.

Respecto a las variables morfoestructurales, no se observaron diferencias estadísticas debido al tratamiento. Buckley *et al.* (1990), reportaron medidas corporales más grandes en vaquillas Hereford y Angus sometidas a una dieta de alta energía (60% de cebada laminada, 10% copos de avena, 10% de pulpa de remolacha y 20% de heno de alfalfa) respecto a las que consumieron una dieta de energía media (100% de heno de alfalfa). Pötter *et al.* (2010) mencionan que terneras Nelore, que recibieron concentrados proteicos tuvieron mayor AC respecto de las que comieron únicamente forraje.

Cuadro 5. Medias ajustadas en los distintos tiempos y error estándar de los T1 y T2, sobre las variables: AC, AG, de vaquillonas Braford en un sistema foresto ganadero, Puerto Esperanza Misiones Argentina.

Meses	AC (m)		AG (m)	
	T1	T2	T1	T2
May	0,93±0,01 a	0,94±0,01 a	0,85±0,01 a	0,85±0,01 a
Jun	0,95±0,01 ab	0,96±0,01 a	0,87±0,01 a	0,88±0,01 b
Jul	0,97±0,01 b	0,98±0,01 b	0,90±0,01 b	0,90±0,01 c
Ago	1,00±0,01 c	1,02±0,01 c	0,94±0,01 c	0,94±0,01 d
Sep	1,08±0,01 d	1,08±0,01 d	1,08±0,01 d	1,12±0,01 e
Oct	1,11±0,01 e	1,12±0,01 e	1,14±0,01 e	1,15±0,01 f
Nov	1,11±0,01 e	1,13±0,01 e	1,16±0,01 ef	1,17±0,01 fg
Dic	1,14±0,01 f	1,14±0,01 ef	1,17±0,01 fg	1,19±0,01 gh
Ene	1,16±0,01 f	1,16±0,01 f	1,20±0,01 g	1,20±0,01 h

Medias con una letra distinta en los meses dentro de tratamiento significan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Cuadro 6. Medias ajustadas en los distintos tiempos y error estándar por fecha en los T1 y T2, sobre las variables LC y PT de vaquillonas Braford en un sistema foresto ganadero, Puerto Esperanza Misiones Argentina.

Meses	LC (m)		PT (m)	
	T1	T2	T1	T2
May	0,80±0,01 a	0,79±0,01 a	1,29±0,01 a	1,28±0,01 a
Jun	0,81±0,01 ab	0,81±0,01 a	1,32±0,01 b	1,31±0,01 b
Jul	0,82±0,01 bc	0,82±0,01 b	1,33±0,01 bc	1,32±0,01 bc
Ago	0,83±0,01 cd	0,83±0,01 b	1,35±0,01 cd	1,34±0,01 c
Sep	0,84±0,01 de	0,84±0,01 b	1,40±0,01 d	1,38±0,01 d
Oct	0,86±0,01 ef	0,86±0,01 bc	1,44±0,01 e	1,46±0,01 e
Nov	0,87±0,01 fg	0,87±0,01 cd	1,46±0,01 e	1,46±0,01 e
Dic	0,89±0,01 g	0,89±0,01 de	1,51±0,01 f	1,52±0,01 f
Ene	0,91±0,01 h	0,91±0,01 f	1,57±0,01 g	1,56±0,01 g

Medias con una letra distinta en los meses dentro de tratamiento significan diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Frizzo *et al.* (2003) evaluaron niveles (control; 0,7 y 1,4% del PV) de suplementación energética (50% de salvado de arroz y 50% de pulpa de cítricos) en vaquillas cruza Nelore, pastando avena y raigrás, obteniendo valores de 1,10; 1,15 y 1,13 m de AG para los tratamientos de control, 0,7 y 1,4% respectivamente; siendo estos valores inferiores a los obtenidos en este ensayo. Por el contrario, los resultados del presente experimento coinciden con Whitney *et al.* (2000) que obtuvieron una AG de 1,23 y 1,25 m en vaquillonas Angus, con 2 niveles de alimentación basada en aceite de soja, 3 y 6% respectivamente.

Se ha observado que vaquillas Brahman, suplementadas con maíz, cascarilla de algodón y heno, alcanzaron una AG de 1,2; 1,24 y 1,27 m individualmente (Riley *et al.*, 2007), coincidente con los presentes resultados.

Varios estudios señalan la relación existente entre el PV y el PT (Ledesma *et al.*, 2002; Garro y Rosales, 1996). Así mismo, Garro y Rosales (1996) refieren que los PV de 262 y 273 kg se relacionan con PT de 1,46 m y 1,48 m, para la raza Brahman; mientras que PV de 262 y 276 kg se vinculan con PT de 1,46 m y 1,49 m, para la raza Nelore. No obstante, las vaquillas Braford del presente ensayo, consiguieron pesos finales

de 262 y 274 kg que se correspondieron con valores de PT de 1,56 m y 1,57 m en T1 y T2.

Así pues, se considero que los animales que reciben alimentación adicional, presentan mayores PV por unidad de PT; una razón que explica esto, es que los animales bajo este tipo de manejo nutricional tienden a depositar mayor contenido de sólidos grasos, proteína y nutrientes en los tejidos (Garro y Rosales, 1996) aumentando su compactidad y diferente composición corporal, desarrollando así una curva de crecimiento más cercana a la ideal (Di Marco, 1998).

Por lo tanto, es posible describir el crecimiento mediante mediciones de la superficie lineal además del variable peso. Siendo más precisa una combinación de estas variables (medida de aumento de tamaño o longitud y GDP) para demostrar las modificaciones que ocurren durante el crecimiento corporal y poder valorar la respuesta del animal ante una amplia gama de dietas, ambientes y prácticas de manejo.

En cuanto a la variable GDR, se ha demostrado que el aumento de la densidad energética de la dieta es importante para acelerar el desarrollo genital, reportado así por Slanac *et al.* (2007) al comparar vaquillas cruza cebú pastoreando estrella con y sin suplementación; estos autores reportaron para esta variable valores de 3

en el grupo testigo y 4,4 en el grupo tratado, impactando positivamente sobre el porcentaje de vaquillas entorables. Así mismo, Stahringer *et al.* (2000), concluyeron que el agregado de monensina en la suplementación de vaquillas cruza cebú durante invierno y verano, mantenidas en pasturas subtropicales, tienen un impacto positivo sobre la aptitud reproductiva de los animales, siendo el GDR de 3,2 para el grupo control y 3,9 para el grupo tratado.

En el presente experimento, las vaquillas alcanzaron valores promedios de  $2,76 \pm 0,2$  y  $2,54 \pm 0,2$  para los T1 y T2 respectivamente, expresada de acuerdo a la escala empleada de Anderson *et al.* (1991). Estos resultados, son inferiores a los obtenidos por los autores mencionados en el párrafo anterior; lo que puede ser causado por el hecho de que en el presente ensayo, el GDR fue evaluado con un PV inferior para un servicio de otoño; mientras que los autores mencionados realizaron esta medición con pesos superiores para un servicio de primavera.

## CONCLUSIONES

El crecimiento de vaquillas con suplementación permanente o estratégica invernal es similar durante el período de recría, en un sistema foresto ganadero con pasto jesuita gigante.

En las condiciones de este ensayo, los animales mantenidos sobre pasto jesuita gigante en pastoreo rotativo dentro de un sistema foresto ganadero y suplementado con una ración compuesta por maíz y expeller de algodón, no alcanzan ganancias de 0,6 Kg/día. El desarrollo morfométrico de las vaquillas de 10 meses en este sistema se plasma en un incremento de la AC, AG, LC y PT en 276 días. Los aumentos son más evidentes en las variables AC, AG y PT en relación con el LC.

La respuesta animal obtenida en un sistema foresto ganadero situado en la provincia de Misiones, en las condiciones en que se realizó el ensayo, indican que no es recomendable la suplementación permanente en la recría de vaquillonas, siendo suficiente la implementación de programas que incluyan un suministro estratégico invernal, constituyendo una importante opción económica para el productor.

## AGRADECIMIENTOS

A la empresa PLANTAR S.A., Establecimiento "El Molino", al señor Walter Köhnke y al personal de campo.

## LITERATURA CITADA

- Allden, W. G. 1981. Energy and protein supplements for grazing livestock. In: Morley, F.H. Edition Grazing Ruminants. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam. pp. 289-307.
- Anderson, K. J., D. G. LeFever, J. S. Brinks, and K. G. Odde. 1991. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. *Agri Practice.*, 12(4):19.
- Balzarini M. G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, L. A. Di Rienzo, C. W. Robledo. 2008. Manual del Usuario, Editorial Brujas, Córdoba, Argentina, 336 p.
- Bailey, C. B. and J. E. Lawson. 1989. Carcass and empty body composition of hereford and angus bulls from lines selected for rapid growth on high-energy or low-energy diets. *Canadian J. of Anim. Sci.*, 69(3): 583-594.
- Buckley, B. A., J. F. Baker, G. E. Dickerson and T. G. Jenkins. 1990. Body composition and tissue distribution from birth to 14 months for three biological types of beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 68(10): 3109-3123.
- Cameron, D., S. Rance, D. C. Edwards y D. Jones. 1994. Árboles y pasturas: Un estudio sobre los efectos del espaciamento. *Agroforestería en las Américas.* pp. 8-9.
- Chaparro, C. J. y J. D. Pueyo. 2001. Efectos de la suplementación invernal con semilla de algodón sobre las ganancias de peso de destetes y novillos cruzas. XXIV Congreso Anual de la Asociación Argentina de Producción Animal. 19 a 21 de septiembre de 2001. Rafaela, Santa Fe, Argentina. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 21(suppl. 1): 1-2.
- De la Torre, M., C. Reyes y M. Ara. 1998. Suplementación permanente o estacional para vaquillas de reemplazo en pasturas tropicales. *Rev. Inv. Pec. IVITA. Perú.*, 9(1): 59-66.

- Di Marco, O. N. 1998. Crecimiento de vacunos para carne. Ed. Talleres Gráficos Centro del Copiado, Mar del Plata, Buenos Aires (Argentina). 1ra Ed.
- Dolberg, F. and P. Finlayson. 1995. Treated straw for beef production in China. *Wld. Anim.*, 82 (1):14.
- Euclides, V. P. 2000. Alternativas para intensificação da produção de carne bovina em pastagem. Edición Embrapa, Campo Grande Brasil. 66 p.
- Frizzo, A., M. G. Rocha, J. Restle, D. B. Montagner, F. D. Freitas e D. D. Santos. 2003. Suplementação energética na recría de bezerras de corte mantidas em pastagem de inverno. *Rev. Bras. Zootec.*, 32(3): 643-652.
- Fuquay, J. W. y H. J. Bearden. 1982. Reproducción animal aplicada. Ed. Manual Moderno. México, 108-116.
- Garro, J. M. y L. R. Rosales. 1996. Relación entre el peso corporal y el perímetro torácico en ganado cebuino en crecimiento en Costa Rica. *Agron. Costarricense.*, 20(2): 113-123.
- Gunther, D. F., M. Correa y E. Lysiak. 2008. Zonas Agroeconómicas Homogéneas y Sistemas de Producción predominantes de la provincia de Misiones. Pub. INTA EEA Cerro Azul (Boletín Técnico 9), Misiones, Argentina. 87 p.
- Houriet, J. L., M. B. Rossner, y L. Colcombet. 2009. Implementación de sistemas silvopastoriles en establecimientos de pequeños productores de Misiones, Argentina. In: 1° Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles. Posadas, Misiones. AR. 416-421 (Resúmenes).
- Iglesias, J. M., L. Simón y R. García. 2009. Crianza de hembras de reemplazo del genotipo 5/8 Holstein por 3/8 Cebú en un sistema de asociación de pastos con árboles. *Pastos y Forrajes.*, 32(1): 1-1.
- Koza, G. A., H. A. Mottet, N. N. Barboza, N. B. Mussart, S. A. Fioranelli, M. C. Gauna Pereira, G. M. Alvarez Chamale y J. A. Coppo. 2008. Variación de parámetros corporales y reproductivos en vaquillas suplementadas con semillas de algodón y soja en el chaco argentino. *Vet.*, 19(1): 8-13.
- Ledesma, L. M., J. Angulo y L. P. Manrique. 2002. Predicción del peso vivo a través del perímetro torácico en la raza bovina Lucerna. *Rev. Colombiana de Ciencias Pecuarias.*, 15(1): 88-91.
- Luisoni, L. 2000. Recría y engorde sobre pastizal. *Forrajes y Granos.*, 5(54): 78-79.
- Matejovsky, K. M. and D. W. Sanson. 1995. Intake and digestion of low-, medium-, and high-quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. *J. of Anim. Sci.*, 73(7), 2156-2163.
- Mathis, C. P., R. C. Cochran, J. S. Heldt, B. C. Woods, I. E. Abdelgadir, K. C. Olson, E. C. Titgemeyer and E. S. Vanzant. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium- to low-quality forages. *J. Anim. Sci.*, 78(1): 224-232.
- Moore, J. E, M. H. Brant, W. E. Kunkle and D. I. Hopkins. 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *J. Anim. Sci.*, 77(Suppl. 2): 122-135.
- Pantiu, A. J., A. Capellari y L. I. Giménez. 2015. Relación entre pastura (*Axonopus catarinensi*), lapso de suplementación y crecimiento de vaquillonas en sistema silvopastoril. *Vet.*, 26(1): 22-26.
- Peruchena, C. y G. Dascanio. 1992. Suplementación energético-proteica de bovinos para carne en el centro-norte santafesino. *Arg. Prod. Animal.*, 12 (suppl. 1): 22.
- Pilau, A., M. D. Rocha, e D. D. Santos. 2003. Análise econômica de sistemas de produção para recría de bezerras de corte. *R. Bras. Zootec.*, 32(4): 966-976.
- Pizzio, R. M., C. O. Peruchena y C. Chaparro. 1999. Estrategias de uso e integración de los recursos forrajeros en la alimentación de los rodeos. Jornada Ganadera del NEA. Corrientes. Publicación Técnica - INTA - SAGPyA. pp. 5 -21

- Poppi, D. P. and S. R. McLennan. 1995. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *J. Anim. Sci.*, 73(1): 278-290.
- Poppi, D. P. and S. R. McLennan. 2010. Nutritional research to meet future challenges. *Anim. Prod. Sci.*, 50(6): 329-338.
- Pötter, L., M. G. Rocha, D. Roso, V. G. Costa, C. L. Glienke e A. N. Rosa. 2010. Suplementación com concentrado para novilhas de corte mantidas em pastagens cultivadas de estação fria. *Rev. Bras. Zootec.*, 39(5): 992-1001.
- Riley, D. G., S. W. Coleman, C. C. Chase, T. A. Olson and A. C. Hammond. 2007. Genetic parameters for body weight, hip height, and the ratio of weight to hip height from random regression analyses of Brahman feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 85(1): 42-52.
- Salado, E. E., Fumagalli, A. E. y C. Fernández Pasos. 2005. Efecto de la suplementación invernal con semilla de algodón sobre la ganancia de peso de terneras pastoreando gaton panic. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 25 (Suppl. 1): 76-77.
- Sampedro, D. H., O. Vogel y R. Celser. 1998. Efecto de la suplementación inviernal y/o primaveral sobre la ganancia de peso de vaquillonas en pasturas naturales. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 18(Suppl. 1): 43.
- Sampedro, D. H., O. Vogel y R. Celser. 2004. Suplementación de vacunos en pastizales naturales. INTA Mercedes (Corrientes). Serie técnica N° 34, 25 p. Disponible en línea: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/suplementacion\\_proteica\\_y\\_con\\_nitrogeno\\_no\\_proteico/20-suplementacion\\_pastizales\\_corrientes.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion_proteica_y_con_nitrogeno_no_proteico/20-suplementacion_pastizales_corrientes.pdf). [Jul. 06, 2016].
- Sanson, D. 1993. Effects of increasing levels of corn or beet pulp on utilization of low-quality crested wheatgrass hay by lambs and in vitro dry matter disappearance of forages. *J. Anim. Sci.*, 71(6): 1615-1622.
- Saravia, J. J., R. Renolfi, O. Ledesma, J. Silva y F. Acuña. 2013. Recría de vaquillonas en un sistema silvopastoril en el chaco semiárido. *Rev. Arg. Prod. Anim.*, 33 (Suppl. 1): 49-95.
- Semmelmann, C. E. N., J. F. P. Lobato e M. D. Rocha. 2001. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. *Rev. Bras. Zootec.*, 30: 835-843.
- Slanac, A. L., O. Balbuena, C. D. Kucseva, y R. C. Stahringer. 2007. Efectos de la suplementación proteica invernal sobre parámetros productivos de vaquillas de reposición. *Rev. Vet.*, 18: 24-28.
- Soto, C. y V. Reinoso. 2007. Suplementación proteica en ganado de carne. *Rev. Soc. Vet. del Uruguay (Montevideo)*, 42(167): 27-34. Disponible en línea: [http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/suplementacion\\_proteica\\_y\\_con\\_nitrogeno\\_no\\_proteico/37-art\\_SUPL\\_PROT\\_Rev\\_VET.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion_proteica_y_con_nitrogeno_no_proteico/37-art_SUPL_PROT_Rev_VET.pdf). [Jul. 10, 2016].
- Stahringer, R. C., O. Balbuena, C. D. Kucseva, L. C. Arakaki y G. Cabarcos. 2000. Efecto de la utilización de monensina sobre la aptitud reproductiva de vaquillas. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Colonia Benítez, Argentina. 5 p. Disponible en línea: [http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/cria/170-monensina.pdf](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/cria/170-monensina.pdf). [Jul. 06, 2016].
- Viñoles, C., R. Cuadrado, J. M. Egaña, P. Cuadro, R. Cuadro y F. Montossi. 2009. Efecto de la alimentación pre-destete y el tipo de destete sobre el desarrollo corporal y el inicio de la pubertad en terneras Hereford. **En:** Efectos de la sequía: acciones realizadas y propuestas otoño-invernales, guía de actividad. INIA Tacuarembó, Uruguay. Boletín de Divulgación. 39 p. Disponible en línea: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/4404/1/GLENCOE-2009Marzo.pdf>. [Jul. 06, 2016].
- Whitney, M. B., B. W. Hess, L. A. Burgwald-Balstad, J. L. Sayer, C. M. Tsopito, C. T. Talbott and D. M. Hallford. 2000. Effects of supplemental soybean oil level on in vitro digestion and performance of prepubertal beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 78(3): 504-514.

## Valor nutritivo y cinética de fermentación *in vitro* de mezclas forrajeras utilizadas en sistemas silvopastoriles intensivos

### Nutritional value and kinetics of *in vitro* fermentation of forage mixtures used in intensive silvopastoral systems

César A. Cuartas Cardona<sup>1\*</sup>, Juan F. Naranjo Ramírez<sup>2</sup>, Ariel M. Tarazona Morales<sup>3</sup>, Rolando Barahona Rosales<sup>3</sup>, Julián E. Rivera Herrera<sup>4</sup>, Fredy A. Arenas Sánchez<sup>5</sup>, Guillermo A. Correa Londoño<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Grupo Biogénesis, Grupo GIPDTA. \*Correo electrónico: cecuartas@gmail.com. <sup>2</sup>Grupo INCA-CES. <sup>3</sup>Universidad Nacional de Colombia (UNAL), FCA, Dpto de Producción Animal. <sup>4</sup>Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV). <sup>5</sup>Corporación Universitaria Lasallista (CUL). <sup>6</sup>UNAL, FCA, Dpto de Ciencias Agronómicas.

#### RESUMEN

Se determinó la cinética fermentativa *in vitro* de mezclas de forrajes empleados en sistemas silvopastoriles intensivos (SSPI), utilizando siete tratamientos con proporciones distintas de los pastos *Cynodon plectostachyus* (TTO1) y *Megathyrsus maximus* (TTO2), así como de las forrajeras *Leucaena leucocephala* (TTO3) y *Guazuma ulmifolia* (TTO4). Mediante la técnica de producción de gas *in vitro*, se evaluó la degradabilidad, cinética de degradación y fermentación de la materia orgánica, el volumen final de producción de gas, entre otros indicadores. Se observó una menor producción acumulada de gas (144,7ml) en TTO3, mientras que TTO6, presentó la mayor producción (340,23ml). El tiempo de colonización fue mayor en TTO4 (10,31 horas). Tanto TTO5 (*L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%) como TTO6 (*G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%), presentaron los mayores porcentajes de degradación (73,90 y 65,51) sin diferencia entre ellos. A las 96 horas de incubación el mayor valor de degradación lo presentó TTO1 (61,5%) y el menor valor fue para TTO3 (45,6%). El modelo estimó que la fracción soluble fue mayor en los tratamientos TTO3 y TTO7 (*G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%; *M. maximus* 40%), respectivamente 23,8% y 26,3%; TTO6 presentó el valor más alto de la fracción degradable (56,4%) mientras que TTO3 fue el de menor valor (24,0%). La fracción indigestible más baja fue para TTO5 (19,4%). Estos resultados sugieren que al ser mezclados dentro de la dieta, los forrajes usados típicamente en SSPI tienen efectos asociativos que modifican el perfil fermentativo.

**Palabras Clave:** Degradabilidad *in vitro*, cinética de fermentación, *Guazuma ulmifolia*, *Leucaena leucocephala*, mezclas de forrajes, producción de gas.

#### ABSTRACT

The *in vitro* fermentation kinetics of forage mixtures used in intensive silvopastoral systems (SSPI) was determined, using seven treatments with different proportions of the grasses *Cynodon plectostachyus* (TTO1) and *Megathyrsus maximus* (TTO2), as well as the forage legumes *Leucaena leucocephala* (TTO3) and *Guazuma ulmifolia* (TTO4). The organic matter degradation, the total cumulative gases production, the fermentation and degradation kinetics of organic matter and some other indicators was determined through the *in vitro* gas production technique. The TTO3 cumulative gas production was smallest (144,7mL) while TTO6 had the greatest (340,23 mL). Colonization time was higher in TTO4 (10,31 hours). TTO5 (*L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%) and TTO6 (*G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%; *M. maximus* 50%), had the highest percentages of degradation (73,90 y 65,51) without difference between them. After 96 hours, the greatest organic matter degradation was observed in TTO1 (61,5%) and the lowest in TTO3 (45,6%). It was estimated that the soluble fraction was higher in TTO3 and TTO7 (*G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%; *M. maximus* 40%), 23,8% and 26,3% respectively; the degradable fraction was the greatest in TTO6 (56,4%) than TTO3 with the lowest (24,0%). The indigestible degradable fraction was lower for TTO5 (19,4%). These results suggest that forages typically used in SSPI when mixed into the diet, have associative effects that modify their fermentation profile.

**Key Words:** *In vitro* degradability, fermentation kinetic, forage mixtures, gas production, *Guazuma ulmifolia*, *Leucaena leucocephala*.

Recibido: 01/10/14 Aprobado: 13/09/16

## INTRODUCCIÓN

Uno de los retos comunes en alimentación de rumiantes dentro de la producción animal tropical es la formulación adecuada de dietas, donde paradójicamente, se cuenta con una gran diversidad de plantas forrajeras. Para mejorar la eficiencia de la fermentación es necesario equilibrar la oferta de energía y nitrógeno (N) en el rumen (Leng, 1990). La aplicación de este concepto en la formulación de raciones requiere disponer de datos de dinámica fermentativa (Fox *et al.*, 1992; Russell *et al.*, 1992; Sniffen *et al.*, 1992). Estos se pueden obtener usando la técnica de producción de gases, técnica que permite estudiar la interacción entre diferentes alimentos y puede ser empleada para evaluar el efecto de la inclusión de suplementos energéticos y proteicos (alimentos concentrados, forrajes de árboles y arbustos) en las características de degradación de la dieta básica (Mauricio *et al.*, 1999; France *et al.*, 1999; Williams, 2000).

El estudio de la degradación ruminal, permite conocer la magnitud y velocidad en la que se fermentan los alimentos o sus componentes; indispensable en la evaluación nutritiva de forrajes (Buchanan and Fox, 2000; López *et al.*, 2000). En el rumen, la fermentación de los forrajes sufre una fase inicial de digestión lenta, seguida de una fase de aceleración y otra de desaceleración hasta alcanzar un valor asintótico, llamado digestibilidad potencial (Weimer, 1998). Esta digestibilidad varía de acuerdo a las características propias de los forrajes incluidos en la dieta, al tipo y nivel de suplementación. Es importante determinar las tasas de degradación para permitir la elaboración de modelos que expliquen los procesos dinámicos de la digestión y aclaren los mecanismos de consumo de forrajes (Barahona y Sánchez, 2005; France *et al.*, 2008).

Aunque la interpretación de la cinética de degradación de los alimentos para rumiantes ha cobrado importancia, hasta hoy son incipientes los trabajos que abordan esta temática bajo las condiciones de nuestros sistemas de producción en países tropicales (Naranjo *et al.*, 2005; Posada y Rosero, 2006). En el caso de los sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi) esto es particularmente importante de este modo, la eficiencia productiva y ambiental de la ganadería tropical (Cuartas *et al.*, 2014; Tarazona *et al.*,

2013). Las investigaciones en este tema son de gran importancia, ya que los resultados obtenidos pueden ser aplicados al mejoramiento de los diseños de SSPi, cuyos beneficios han sido ampliamente reportados (Cuartas *et al.*, 2014).

Por lo planteado anteriormente, el objetivo de este estudio fue determinar el valor nutritivo de algunas forrajeras y mezclas usadas en los SSPi así como, sus dinámicas de degradación *in Vitro*, a fin de obtener valores de referencia para el desarrollo de dietas y nuevos arreglos en SSPi.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización y descripción de los sistemas

Las muestras evaluadas se obtuvieron de tres SSPi ubicados en el departamento de Sucre, Colombia, con coordenadas 09°51'24.86"; N 75°26'02.44"O, en la zona de vida bosque seco tropical bs-T (Holdridge, 1987); a una altitud de 134 m.s.n.m, con precipitación promedio de 1.000 mm/año, humedad relativa de 83,5% y temperatura de 27,1°C. El componente gramínea en los tres SSPi estuvo representado por los pastos *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrsus maximus*; los arreglos de arbustos fueron SSPi 1 con *Leucaena leucocephala*; SSPi 2 con *Guazuma ulmifolia* y SSPi 3 con una mezcla de *L. leucocephala* y *G. ulmifolia*. Los tres SSPi contaban con dos especies de árboles maderables nativos; guayacán rosado (*Tabebuia rosea*) y solera (*Cordia gerascanthus*), en arreglos lineales dentro de los SSPi a una distancia de 30 metros entre filas, aunque estos últimos no hacen parte de la dieta de los animales, son importantes dentro de la dinámica del sistema. El uso de árboles maderables obedece a una política nacional en Colombia que incentiva la producción de madera asociada a la ganadería.

En estos SSPi, las arbustivas fueron manejadas a 1 metro de altura con densidades mayores a 8.000 arbustos/ha, donde grupos de machos cebuínos de 250 kg de peso promedio, pastoreaban en horarios y frecuencias diferentes, en franjas de 600 m<sup>2</sup> y rotación con cinta eléctrica cada 12 o 24 horas.

## Recolección y procesamiento de los forrajes

La recolección se realizó en época de lluvia en los tres SSPi, los forrajes verdes tenían 45 días de descanso en el momento de la colecta, fueron secados en estufa de aire forzado y molidos con criba de 1 mm para determinar: Materia Seca (MS), Cenizas (CEN), Proteína Cruda (PC), Lignina (LIG) y Extracto Etéreo (EE) de acuerdo con lo establecido en la Asociación Oficial de Análisis Químico, por sus siglas en inglés AOAC (1990); Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra Detergente Acido (FDA), según Van Soest *et al.* (1991). El fraccionamiento de la proteína se realizó de acuerdo a Licitra *et al.* (1996).

## Tratamientos

Se diseñaron siete tratamientos cuyos porcentajes de inclusión de las mezclas se escogieron teniendo en cuenta las publicaciones previas del grupo de investigación relacionadas con estudios de consumo (Molina *et al.*, 2015; Cuartas *et al.*, 2015).

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: TTO1: *C. plectostachyus*; TTO2: *M. maximus*; TTO3: *L. leucocephala*; TTO4: *G. ulmifolia*; TTO5: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO6: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO7: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%

## Producción de gas *in Vitro*

La producción de gas *in Vitro* se evaluó según Theodorou *et al.* (1994), incubando 0,5 g de muestra en botellas de vidrio de 110 ml. durante 6 horarios de retiro (6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas), 3 repeticiones y 2 replicas de los tratamientos evaluados. El medio de incubación se preparó a partir de una mezcla de solución amortiguadora conforme McDougall (1948), macrominerales, microminerales, resazurina y una solución reductora.

El líquido ruminal fue obtenido de 3 vacas saludables en pastoreo de *C. plectostachyus* con 40 días de descanso, canuladas al rumen. Seguidamente se recolectó líquido de varias partes del rumen, filtrado en paños de algodón

y transportado al laboratorio en contenedores térmicos. Luego de adicionar 45 ml de solución amortiguadora e inocular con 5 ml de líquido ruminal (Posada y Rosero, 2006), cada botella fue sellada con un tapón de goma (14 mm) y dispuesta en cajas de polietileno expandido con espesor de 1,5 cm. e incubadas en estufa a  $39^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

La presión de gas dentro de la botella se registró mediante la punción a través del tapón de goma con una aguja hipodérmica acoplada a un manómetro *Ashcroft® D1005PS Digital Pressure Gauge®*. Después de cada medición, se liberó el gas hasta igualar la presión externa e interna de las botellas.

## Estimación del sustrato degradado

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) se determinó en residuos recuperados por filtración transcurrida las 6, 24, 48 y 96 h de fermentación, retirando en cada horario 3 botellas por tratamiento. Estos residuos fueron secados a  $105^{\circ}\text{C}$  en estufa, pesados e incinerados en una mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 12 horas. La pérdida de peso después de la incineración fue usada para determinar la materia orgánica (MO) no degradable. La DIVMO se calculó expresando la diferencia entre el contenido de MO y el sustrato no degradable de la misma como porcentaje de la MO inicial. El factor de partición (*FP*; ml/g MO), que mide la eficiencia de la fermentación, fue calculado a las 24, 48 y 96 horas como la relación de la DIVMO (mg) y la producción acumulada de gas.

## Análisis estadístico

Para este análisis se aplicó el diseño de bloques al azar (DBA) con los siete tratamientos arriba indicados, cuatro tiempos de fermentación y tres inóculos, uno de cada vaca canulada (que conformaban los bloques), para describir la dinámica de producción acumulativa de gas en el tiempo se utilizó el modelo no lineal propuesto por France *et al.* 1993; tal como lo demuestra la Ecuación 1. El ajuste de las curvas fue realizado mediante el procedimiento NLIN de SAS (2008).

$$V_t = V_f * \left[ 1 - e^{[-b*(t-L) - c(\sqrt{t} - \sqrt{L})]} \right]$$

(Ecuación 1).

Donde:  $V_t$ : volumen de gas en el tiempo  $t$ .

$V_f$ : volumen de gas proveniente de la fermentación completa del sustrato (asíntota).

$b$ : parámetro de ajuste del modelo.

$t$ : tiempo de incubación en horas.

$c$ : tasa constante de producción de gases del material potencialmente degradable.

$L$ : tiempo de colonización (Fase *lag*), en horas.

Para estimar los parámetros de la cinética de degradación de la MO, se usó el procedimiento NLIN de SAS (2008), ajustando las curvas de degradación al modelo matemático propuesto por Ørskov and McDonald, (1979); visto en la Ecuación 2.

$$P(t) = A + B * (1 - e^{(-c*t)}) \text{ (Ecuación 2).}$$

Donde:

$A$ : fracción soluble (%),

$B$ : fracción potencialmente degradable en rumen

$c$ : tasa de degradación (% h<sup>-1</sup>)

$t$ : el tiempo en horas.

Para determinar el efecto de los tratamientos en la degradación de la MO se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo con ayuda del procedimiento MIXED de SAS (2008) y para la separación de éstas, se utilizó la prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición química de los tratamientos

En el Cuadro 1 se presenta la composición química de los tratamientos empleados.

La composición química de las mezclas de forrajes estudiadas presenta diferencias respecto del contenido de proteína y fibra entre las gramíneas y las leguminosas. En condiciones de trópico caluroso, es común observar bajos tenores de PC y altos contenidos de FDN (Barahona y Sánchez, 2005).

Los contenidos de FDN de los tratamientos que incluyeron leguminosas son menores a las gramíneas solas; por lo tanto, sería posible esperar consumos mayores de estos tratamientos, ya que dietas con contenidos menores de FDN favorecen la ingestión de más cantidad de nutrientes. Entendiendo que, animales que consumen mezclas de forrajes terminan ingiriendo más nutrientes totales (Cuartas *et al.*, 2015; Gaviria *et al.*, 2015).

### Cinética de producción de gas *in Vitro*

El Cuadro 2 presenta los resultados de la producción de gas *in vitro* para los 7 tratamientos; el TTO3 presentó la menor producción acumulada de gas ( $V_f=144,7$  ml) ( $P < 0,0001$ ) a diferencia de los demás tratamientos, salvo la mezcla del TTO7. La mayor producción

Cuadro1. Composición química de los tratamientos

	<b>TTO1</b>	<b>TTO2</b>	<b>TTO3</b>	<b>TTO4</b>	<b>TTO5</b>	<b>TTO6</b>	<b>TTO7</b>
<b>PC</b>	10,43	11,47	28,75	10,95	14,07	10	16,02
<b>FDN</b>	80,27	75,93	48,55	79,9	69,88	79,76	72,84
<b>FDA</b>	31,43	30,13	15	22,2	25,93	29,37	26,62
<b>LIG</b>	4,97	4,37	14,55	11,75	6,5	4,97	8,98
<b>EE</b>	0,27	0,50	1,75	0,85	0,8	0,55	0,62
<b>CEN</b>	9,17	12,17	5,7	7,8	9,3	9,51	10,56

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: C. plectostachyus; **TTO2**: M. maximus; **TTO3**: L. leucocephala; **TTO4**: G. ulmifolia; **TTO5**: L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO6**: G. ulmifolia 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO7**: G. ulmifolia 20%, L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 20%, M. maximus 40%. Proteína cruda (PC); Fibra detergente neutro y ácido (FDN, FDA); Lignina (LIG); Extracto Etéreo (EE); Cenizas (CEN).

Cuadro 2. Parámetros de producción de gas *in vitro* para los diferentes tratamientos.

<b>TTO</b>	<b>V<sub>f</sub></b>	<b>L</b>	<b>C</b>	<b>50% pdn gas</b>	<b>T para 50% pdn gas</b>
<b>TTO1</b>	298,3 ± 9,89 <sup>ab</sup>	7,88 ± 0,027 <sup>b</sup>	0,0840 ± 0,0021 <sup>ab</sup>	129,8	37,01
<b>TTO2</b>	313,2 ± 9,03 <sup>ab</sup>	7,82 ± 0,220 <sup>b</sup>	0,0919 ± 0,01 <sup>ab</sup>	133,5	37,59
<b>TTO3</b>	144,7 ± 4,26 <sup>c</sup>	8,56 ± 0,372 <sup>b</sup>	0,0839 ± 0,003 <sup>b</sup>	63,0	36,39
<b>TTO4</b>	277,8 ± 9,57 <sup>ab</sup>	10,31 ± 0,139 <sup>a</sup>	0,1111 ± 0,002 <sup>a</sup>	92,1	42,90
<b>TTO5</b>	271,4 ± 6,59 <sup>ab</sup>	7,16 ± 0,281 <sup>b</sup>	0,0921 ± 0,003 <sup>ab</sup>	129,6	33,48
<b>TTO6</b>	340,2 ± 12,23 <sup>a</sup>	7,26 ± 0,197 <sup>b</sup>	0,1042 ± 0,003 <sup>a</sup>	130,7	45,23
<b>TTO7</b>	237,4 ± 10,62 <sup>bc</sup>	8,30 ± 0,297 <sup>b</sup>	0,1062 ± 0,002 <sup>a</sup>	105,4	37,84

V<sub>f</sub>: volumen acumulado de gas (ml) a la digestión completa del sustrato, L: tiempo de colonización (h), c: tasa constante de producción de gas del material potencialmente degradable (%/h), pdn: producción, 50% pdn gas en ml, T: tiempo en horas. Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: C. plectostachyus; **TTO2**: M. maximus; **TTO3**: L. leucocephala; **TTO4**: G. ulmifolia; **TTO5**: L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO6**: G. ulmifolia 20%, C. plectostachyus 30%, M. maximus 50%; **TTO7**: G. ulmifolia 20%, L. leucocephala 20%, C. plectostachyus 20%, M. maximus 40%; a,b,c Letras diferentes en la misma columna indican valores con diferencia estadística significativa (P<0,01); EEM: error estándar de la media.

acumulada de gas se observó en el TTO6 (V<sub>t</sub>=340,23 ml), sin diferencia estadística con los TTO2, TTO1, TTO4 y TTO5. El tiempo de colonización (*lag*) fue mayor para el TTO4 (10,31 h; P<0,0001), mientras que el resto de los tratamientos no presentaron diferencia entre ellos. La tasa constante de producción de gas del material potencialmente degradable (c) varió entre 8,4 para el TTO1 y 11,1% h<sup>-1</sup> para el TTO4.

La producción de gases *in vitro*, está relacionada con la eficiencia de utilización del alimento por parte de los microorganismos ruminales (Makkar, 2000). Sustratos nutricionalmente más deficientes tienden a presentar una fermentación con mayores proporciones de acetato y butirato (Blümmel *et al.*, 1999); La síntesis de estos compuestos está asociada con la producción de CO<sub>2</sub>, por lo que estos sustratos presentan mayores volúmenes de gas por miligramo de sustrato degradado (Ngamsaeng *et al.*, 2006). La composición química de los forrajes afecta el volumen de gas producido y la tasa máxima de producción de gas *in vitro* (Makkar *et al.*, 1998).

Se ha reportado, que la producción de gas está relacionada con la degradación de la FDN (Nsahlai *et al.*, 1995) y que esa relación parece ser lineal; produciendo más gas aquellos forrajes con mayor contenido de FDN (Krizsan *et al.*,

2012; Pell y Schofield, 1993). Los resultados de este estudio son consistentes con estos reportes, al observarse las mayores producciones de gas con las gramíneas solas y las mezclas; comparativamente con el tratamiento que sólo contenía Leucaena y que produjo el menor volumen de gas.

La determinación del tiempo requerido para alcanzar el 50% de la producción de gas, es un indicador de la sincronía fermentativa y puede mostrar si el sustrato cuenta con características químicas adecuadas para el buen funcionamiento de la fermentación (France *et al.*, 1993). En este caso, la Leucaena pareciera favorecer dicho proceso porque acelera la fermentación del sustrato. Al respecto, Machado *et al.* (2012), encontraron que forrajes con menor contenido de FDN tienen tasas de producción de gas más altas al inicio de la fermentación, ello se debe a que los pastos con mayor valor nutritivo permiten mayor colonización y degradación eficiente por los microorganismos, haciendo que la fermentación sea mayor y más rápida (Nogueira *et al.*, 2000).

No se encontraron evidencias de que la suplementación de los pastos con las arbóreas incrementara el V<sub>f</sub> de gas. Por el contrario, Sandoval *et al.* (2002) reportaron que la inclusión

de *Leucaena* en dietas de gramíneas reduce la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la DIVMO e incrementa la producción de gas. Por su parte, Rodríguez *et al.* (2009) reportaron que la suplementación de *Pennisetum purpureum* con cantidades crecientes de *Leucaena*, tuvieron una relación lineal positiva con la producción de gas durante las primeras 5h de fermentación y con la DIVMO estimada a las 24h, probablemente por la contribución en MO fermentable de la leguminosa; pero sin afectar los volúmenes totales de gas producidos al final de la fermentación.

### Degradación *in vitro* de la MO

En el Cuadro 3 se presenta la DIVMO a diferentes tiempos de incubación para los tratamientos evaluados. A las 6 horas de incubación, los tratamientos TTO4 (27,6) y TTO5 (30,6) presentaron los mayores porcentajes de degradación ( $P<0,01$ ), con valores intermedios para los TTO1, TTO2, TTO4 y TTO7 ( $P<0,01$ ). El menor valor de degradación en este horario fue para la mezcla del TTO6 con un 16,2% ( $P<0,01$ ). A las 96 horas de incubación, no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos TTO1, TTO5, TTO6 y TTO7, siendo el menor valor a este tiempo de degradación el TTO4 con 45,6% ( $P<0,01$ ),

Al evaluar los datos de degradabilidad *in vitro* a las 96 horas del TTO4 (45,64) se pudo

observar que no coincide con lo reportado por Barros *et al.* (2012) quien encontró que la DIVMS de la *Leucaena* es de 64% mientras que en las gramíneas acompañantes no llegan al 60%. No obstante, coincide con los reportes de Paengkoum and Traiyakun (2011), Flores *et al.* (1998) así como, Maasdorp and Dzewela (1998), quienes obtuvieron valores de 53%, 51%, 45,5% respectivamente para la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de la *Leucaena*. Sin embargo, Monforte *et al.* (2005); evaluando *M. maximus*., *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* con composición química similar a la de los forrajes del presente experimento, reportaron valores de DIVMS de 74,4%, 42,4% y 44,7% respectivamente. A su vez, Delgado *et al.* (2001) obtuvieron que la degradabilidad potencial de una mezcla de *L. leucocephala* y pasto eran de 63,4% y que las tasas de degradación no eran diferentes entre la mezcla y los forrajes incubados individualmente.

Finalmente, Razz *et al.* (2004) reportaron una mayor degradabilidad inicial (20,83%) y efectiva (49,53%) en la *L. leucocephala* cuando se comparó con *M. maximus*, aunque éste presentó una degradabilidad final (58,68%) superior. Por su parte, Vergara *et al.* (2006), encontraron que la inclusión de *L. leucocephala* mejora los parámetros de la cinética de degradación potencial del pasto alemán, la que aumentó cuando se incubó con *L. leucocephala*.

Cuadro 3. Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO)

TTO	6 horas	24 horas	48 horas	96 horas
<b>TTO1</b>	19,59 ± 0,537 <sup>b</sup>	39,57 ± 0,434	49,27 ± 1,37	61,50 ± 0,419 <sup>a</sup>
<b>TTO2</b>	13,69 ± 0,752 <sup>b</sup>	35,37 ± 0,462	45,57 ± 0,922	57,07 ± 0,568 <sup>b</sup>
<b>TTO3</b>	16,86 ± 0,581 <sup>b</sup>	32,66 ± 0,576	54,50 ± 0,448	57,29 ± 0,639 <sup>b</sup>
<b>TTO4</b>	27,62 ± 0,579 <sup>a</sup>	37,82 ± 0,717	44,43 ± 0,986	45,64 ± 0,292 <sup>c</sup>
<b>TTO5</b>	30,60 ± 0,548 <sup>a</sup>	38,25 ± 0,591	50,62 ± 0,678	61,47 ± 0,266 <sup>a</sup>
<b>TTO6</b>	16,17 ± 0,367 <sup>c</sup>	35,71 ± 1,69	45,47 ± 1,38	59,81 ± 0,358 <sup>ab</sup>
<b>TTO7</b>	17,56 ± 0,373 <sup>b</sup>	35,52 ± 2,01	49,12 ± 2,16	57,76 ± 0,412 <sup>ab</sup>

Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: **TTO1**: *C. plectostachyus*; **TTO2**: *M. maximus*; **TTO3**: *L. leucocephala*; **TTO4**: *G. ulmifolia*; **TTO5**: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; **TTO6**: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; **TTO7**: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%; **EEM**: error estándar de la media.

El estudio ha demostrado que la inclusión de *L. leucocephala* incrementa la solubilidad inicial y la fracción potencialmente degradable de la dieta; las mezclas de forrajes presentaron mayor degradabilidad que las forrajeras incubadas solas tanto en las primeras como en las últimas horas de incubación. Aunque no se encontró efecto sobre la suplementación de las gramíneas solas con respecto a los parámetros de degradabilidad. Es importante mencionar, que los tratamientos TTO5 y TTO7 por presentar niveles de proteína superiores (14,07% y 16,02%; como los señalados en el Cuadro 1) tienen potencial de realizar un aporte superior de N y podría asociarse a que en condiciones de producción contribuiría a mejorar el aporte de este nutriente; favoreciendo la síntesis de proteína microbiana para las necesidades del animal (Aumont *et al.*, 1994; Fondevila *et al.*, 2002; Mota *et al.*, 2005).

#### Cinética de degradación de la MO

En el Cuadro 4, se presentan los parámetros de la cinética de degradación de la MO para los siete 7 tratamientos. La fracción soluble A fue mayor ( $P < 0,01$ ) en los tratamientos TTO3 con un 23,8% y TTO5 con un 26,3% ( $P < 0,01$ ). La fracción degradable B fue menor en TTO3 (25,35) que en los demás tratamientos ( $P < 0,01$ ).

No hubo diferencia para la tasa de degradación estimada (c) de la fracción potencialmente degradable en ninguno de los tratamientos. La degradabilidad potencial del sustrato después de 96 horas de incubación ruminal (A + B) fue mayor en TTO5 (73,9%), sin diferencia estadísticamente significativa con las medias de los tratamientos TTO1 y TTO6 ( $P > 0,01$ ), pero difiriendo significativamente ( $P \leq 0,01$ ) de los demás tratamientos.

El FP se evaluó a las 24, 48 y 96 horas, para determinar diferencias en la tasa de degradación del sustrato asociadas con la producción de gas. Los mayores factores de partición se observaron con las leguminosas *G. ulmifolia* y *L. leucocephala*. A las 24 horas, *L. leucocephala* no difirió significativamente de *G. ulmifolia* ( $P > 0,01$ ) pero sí del resto de los tratamientos ( $P \leq 0,01$ ); mientras que éstas a las 48 horas difirieron significativamente del resto de los tratamientos (ver Cuadro 4).

En estudios de este tipo es común evaluar la relación entre el sustrato degradado (mg) y gas producido ml, (Blümmel *et al.*, 1997). Este FP es utilizado para indicar la variación en la producción de la biomasa microbiana y es de especial interés porque no siempre un mayor volumen de gas se asocia a una mayor degradación (Blümmel y Bullerdieck, 1997). En

Cuadro 4. Indicadores de degradación y factores de partición.

Param.	Parámetros de degradación de MO <i>in vitro</i> , valores expresados como porcentaje de la MO				Factor de Partición		
	A	B	A + B	C	24 horas	48 horas	96 horas
TTO1	11,9 ± 2,38 <sup>b</sup>	52,93 ± 2,03 <sup>a</sup>	64,83 ± 0,463 <sup>ab</sup>	0,115 ± 0,003	5,26 ± 0,283 <sup>c</sup>	2,92 ± 0,126 <sup>b</sup>	2,37 ± 0,05 <sup>bc</sup>
TTO2	4,7 ± 1,98 <sup>b</sup>	54,49 ± 1,822 <sup>a</sup>	59,19 ± 0,719 <sup>b</sup>	0,032 ± 0,106	4,71 ± 0,487 <sup>c</sup>	2,68 ± 0,089 <sup>b</sup>	2,15 ± 0,221 <sup>c</sup>
TTO3	23,81 ± 1,46 <sup>a</sup>	25,35 ± 0,855 <sup>b</sup>	49,16 ± 0,738 <sup>b</sup>	0,050 ± 0,007	10,97 ± 0,692 <sup>a</sup>	5,50 ± 0,335 <sup>a</sup>	3,64 ± 0,172 <sup>a</sup>
TTO4	5,53 ± 1,08 <sup>b</sup>	55,66 ± 0,759 <sup>a</sup>	61,18 ± 1,46 <sup>b</sup>	0,034 ± 0,002	9,71 ± 0,344 <sup>ab</sup>	5,75 ± 0,235 <sup>a</sup>	3,18 ± 0,289 <sup>ab</sup>
TTO5	26,26 ± 0,699 <sup>a</sup>	47,64 ± 0,937 <sup>a</sup>	73,90 ± 1,07 <sup>a</sup>	0,016 ± 0,003	4,83 ± 0,872 <sup>c</sup>	2,90 ± 0,039 <sup>b</sup>	2,37 ± 0,052 <sup>bc</sup>
TTO6	9,06 ± 0,651 <sup>b</sup>	56,44 ± 2,31 <sup>a</sup>	65,51 ± 2,91 <sup>ab</sup>	0,025 ± 0,004	5,32 ± 0,664 <sup>c</sup>	2,93 ± 0,079 <sup>b</sup>	2,29 ± 0,179 <sup>c</sup>
TTO7	8,67 ± 2,87 <sup>b</sup>	52,95 ± 2,21 <sup>a</sup>	61,61 ± 1,57 <sup>b</sup>	0,031 ± 0,005	5,79 ± 0,183 <sup>bc</sup>	3,54 ± 0,273 <sup>b</sup>	2,76 ± 0,083 <sup>abc</sup>

A: fracción soluble; B: fracción degradable; c: tasa de degradación; A+B: degradabilidad potencial. Los siguientes tratamientos corresponden a mezclas de forrajes provenientes de la valoración de SSPi: TTO1: *C. plectostachyus*; TTO2: *M. maximus*; TTO3: *L. leucocephala*; TTO4: *G. ulmifolia*; TTO5: *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO6: *G. ulmifolia* 20%, *C. plectostachyus* 30%, *M. maximus* 50%; TTO7: *G. ulmifolia* 20%, *L. leucocephala* 20%, *C. plectostachyus* 20%, *M. maximus* 40%. Los valores están expresados junto con sus EEM: error estándar de la media. Letras diferentes en la misma columna indican valores con diferencia estadística significativa ( $P < 0,01$ ).

el presente estudio, el FP disminuyó a medida que aumentó el tiempo de incubación, lo que es típico cuando se estudian mezclas de forrajes (López *et al.*, 1998). El uso del FP permitió resaltar el papel de las arbustivas en el proceso fermentativo, al mostrar que *G. ulmifolia* y *L. leucocephala* presentaron los valores de FP más altos y en algunos casos diferentes a las gramíneas solas, lo que puede representar cambios en los patrones fermentativos de mezclas que contengan leguminosas. Altos valores de FP sugieren que una mayor proporción de la MS degradada se utiliza para la síntesis de biomasa microbiana, lo que parece suceder en las forrajeras *L. leucocephala* y *G. ulmifolia* y no así entre los pastos incubados solos o mezclados.

El análisis de los FP sugiere que el proceso fermentativo fue menos eficiente con el TTO6. Cuando la producción de células microbianas por unidad de sustrato digerido aumenta, una mayor fracción de la MO degradada se utiliza para proveer material de construcción para la síntesis de polímeros celulares, proporcionalmente se reduce la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y calor (Leng, 1997). En el TTO6 se observó una mayor producción de gas para una misma cantidad de sustrato degradado, lo que podría indicar diferencias en los modelos de fermentación del sustrato y diferencias en las poblaciones microbianas.

Los resultados encontrados con respecto al FP son consistentes con lo reportado por Estrada *et al.* (2009), quienes encontraron que la mezcla pasto-*L. leucocephala* redujo la producción de proteína microbiana por cantidad de sustrato fermentado. Un elevado valor de FP indica mayor cantidad de sustrato degradado que se deriva hacia la síntesis de proteína microbiana (Blümmel *et al.*, 1997), lo que podría estar asociado a un mayor consumo de MS, más alta biomasa microbiana, elevada eficiencia en la síntesis de proteína microbiana, baja producción de metano y baja producción de ácidos grasos volátiles AGV (Blümme *et al.*, 1997).

## CONCLUSIONES

La cinética de producción de gas no se alteró al incubar las gramíneas *C. plectostachyus* y *M. maximus* con los arbustos *G. ulmifolia* y *L. leucocephala*; la menor producción de gas

se presentó cuando se incubó sola *Leucaena* (144,7ml). La digestibilidad de las gramíneas solas y mezcladas no fue diferente después de 48 horas de incubación. Sin embargo, por la diferencia en la composición química de los tratamientos (mayor contenido de proteína y menor contenido de FDN) la inclusión con forrajeras es una estrategia importante desde el punto de vista de oferta de nutrientes para los animales.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los propietarios y empleados de los predios Altagracia y Las Brujas en el Departamento de Sucre, Colombia, especialmente a Carlos Blanco por su particular apoyo en las jornadas de trabajo. A la fundación CIPAV, líder en la investigación con SSPi y responsable del establecimiento y manejo de los SSPi evaluados.

## LITERATURA CITADA

- AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Official methods of analysis of the 1990. Arlington, VA, USA. 15th edition. Disponible en línea: <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>. [Oct. 22, 2016].
- Aumont, G., G. Saminadin, P. Cerneau and A. Xandé. 1994. Effects of sample preparation on nitrogen degradability of pangola grass (*Digitariadecumbens*) and tropical tree legumes. *J. Agr. Sci.*, 123:47-54. Disponible en línea: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=4785552&fileId=S0021859600067769> [Oct. 19, 2016].
- Barahona, R. y S. Sánchez. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *CorpoicaCienc. Tec. Agro.*, 6:69-82.
- Barros, M., J. Solorio, J. Ku-Vera, A. Ayala, C. Sandoval and G. Solís. 2012. Productive performance and urinary excretion of mimosine metabolites by hair sheep grazing in a silvopastoral system with high densities of *Leucaena leucocephala*. *Trop. Anim. Health Prod.*, 44:1873-1878.

- Disponible en línea: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11250-012-0150-0#page-1> [Oct. 12, 2016].
- Blümmel, M., P. Bullerdieck. 1997. The need to complement *in vitro* gas production: measurements with residue determinations from in sacco degradabilities to improve the predictions of voluntary intake of hays. *Anim. Sci. Prod.*, XX: pp. 71-75.
- Blümmel, M., H. P. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 77: 24-34. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0396.1997.tb00734.x/full> [Oct. 21, 2016].
- Blümmel, M., K. P. Aiple, H. Steingass and K. Becker, 1999. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas evolution *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 81:157–167. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0396.1999.813205.x/abstract> [Oct. 23, 2016].
- Buchanan, J. G. and D. G. Fox. 2000. Feeding Systems for Beef Cattle. In: Theodorou, M. K and J. France (Eds.), *Feeding Systems and Feed Evaluation Models*. CABI Publishing, Oxfordshire, UK, pp. 129-154. Disponible en línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0396.2000.00273-2.x/abstract> [Oct. 16, 2016].
- Cuartas, C. A., J. F. Naranjo, A. M. Tarazona, G. A. Correa, R. Barahona-Rosales. 2015. Dry matter and nutrient intake and diet composition in *Leucaena leucocephala* – based intensive silvopastoral systems. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, 18: 303-311. Disponible en línea: <http://www.revista.coba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/2125> [Oct. 29, 2016].
- Cuartas, C. A., J. F. Naranjo, A. M. Tarazona, E. Murgueitio, J. D. Chará, J. Ku, F. J. Solorio, M. X. Xotchil Flores, B. Solorio y R. Barahona. 2014. Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.*, 27:76-94. Disponible en línea: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/324881/20782385> [Oct. 28, 2016].
- Delgado, D. C., O. La O, B. Chongo, J. Galindo, Y. Obregón y A. I. Aldama. 2001. Cinética de la degradación ruminal *in situ* de cuatro árboles forrajeros tropicales: *Leucaena leucocephala*, *Enterolobium cyclocarpum*, *Sapindus saponaria* y *Gliricidia sepium*. *Rev. Cub. Cienc. Agric.*, pp. 141-145.
- Estrada, J. M., A. Sandoval, L. Ramírez and C. M. Capetillo. 2009. *In vitro* fermentation efficiency of mixtures of *Cynodon lemnuensis*, *Leucaena leucocephala* and two energy sources (maize or sugar cane molasses). *Trop. Subtrop. Agroecosyst.*, 10:497-503. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93912996018> [Oct. 15, 2016].
- Flores, O., D. Bolívar, J. Botero y M. Ibrahim. 1998. Parámetros nutricionales de algunas arbóreas leguminosas y no leguminosas con potencial forrajera para la suplementación de rumiantes en el trópico. *Liv. Res. Rur. Dev.*, 10(1). Disponible en línea: <http://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd10/1/cati101.htm> [Oct. 14, 2016].
- Fondevila, M., J. C. Nogueira and A. Barrios. 2002. *In vitro* microbial fermentation and protein utilisation of tropical forage legumes grown during the dry season. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 95:1-14. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840101003157> [Oct. 06, 2016].
- Fox, D. G., C. J. Sniffen, J. D. O'Connor, J. B. Russell and P. J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.*, 70. pp. 3578-3596. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/70/11/3578?search-result=1> [Oct. 08, 2016].
- France, J., E. Kebreab, J. France and E. Kebreab. 2008. *Mathematical Modelling in Animal Nutrition*. CABI, Oxfordshire, UK. pp. 1-11.
- France, J., M. K. Theodorou, R. S. Lowman and D. E. Beaver. 1999. *Feed Evaluation for*

- Animal Production **In:** Theodorou M. K. And J. France (Eds). Feeding Systems and Feed Evaluation Models. CABI, Oxfordshire, UK. First Ed. pp. 1-9.
- France, J., M. S. Dhanoa, M. K. Theodorou, S. J. Lister, D. R. Davies and D. Isaac. 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. *J. Theoretical Biol.*, 163:99-111. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519383711094> [Oct. 23, 2016].
- Gaviria-Urbe, X., J. F. Naranjo-Ramírez, D. M. Bolívar-Vergara, R. Barahona-Rosales. 2015. Consumo y digestibilidad de novillos cebuínos en un sistema silvopastoril intensivo. *Arch. Zootec.* 64:21-27. Disponible en línea: [http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/17\\_09\\_57\\_03\\_12\\_3311\\_4.pdf](http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/img/web/17_09_57_03_12_3311_4.pdf) [Oct. 22, 2016].
- Holdridge, L. R. 200. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica.
- Krizsan, S. J., F. Jančík, M. Ramin and P. Huhtanen. 2012. Comparison of some aspects of the *in situ* and *in vitro* methods in evaluation of NDF digestion. *J. Anim. Sci.*, Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/91/2/838?highlight=&search-result=1> [Oct. 20, 2016].
- Leng, R. A. 1990. Factors affecting the utilization of "poor-quality" forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr Res Reviews.* 3 (1) pp. 277–303. Disponible en línea: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/S0954422490000178> [Oct. 08, 2016].
- Leng, R. A. 1997. Tree Foliage in Ruminant Nutrition, FAO Animal Production and Health Paper 139. FAO, Rome, Italy.
- Licitra, G., T. M. Hernandez and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 57:347-358. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840195008373> [Oct. 19, 2016].
- López, S., J. France, J. Dijkstra and M. S. Dhanoa. 2000. Models to interpret degradation profiles obtained from *In Vitro* and **In: Situ** incubation of ruminant feeds. **In:** McNamara J.P., J. France, D.E. Beever (Eds.), *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals.* CAB International, Wallingford UK, pp. 73-86.
- López, S., M. D. Carro, J. S. González and F. J. Ovejero. 1998. Comparison of different *in vitro* and *in situ* methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73: 99-113.
- Maasdorp, B. V. and B. H. Dzowela. 1998. Comparison of *Leucaena leucocephala* and other three fodders as supplements for lactating dairy cows. **In:** Shelton M., R.C. Gutteridge, B.F. Mullen and R.A. Bray. *Leucaena. Adaptation, Quality and Farming Systems.* Proceedings of a workshop held in Hanoi, Vietnam. pp. 291-293.
- Machado, P. A. S., S. C. Valadares Filho, R. F. D. Valadares, M. F. Paulino, P. V. R. Paulino and M. I. Marcondes. 2012. Desempenho e exigências de energia e proteína de bovinos de corte em pasto suplementados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 64 (3):683-692.
- Makkar, H. P. S. 2000. Applications of the *in vitro* gas method in the evaluation of feed resources, and enhancement of nutritional value of tannin-rich tree/browse leaves and agro-industrial by-products. Proceedings Meeting IAEA Technical Cooperation Regional AFRA Project. Cairo, Egypt, pp. 23-40. Disponible: <http://www.naweb.iaea.org/nafa/aph/public/review-3.pdf> [Oct. 23, 2016].
- Makkar, H. P. S, M. Blümmel, K. Becker. 1998. Application of an *in vitro* gas method to understand the effects of natural plant products on availability and partitioning of nutrients. **En:** E. R Deaville, E. Owen, A. T. Adesogan, C. Rymer, J. A. Huntington, T. L. J. Lawrence (Eds.) *In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants,*

- BSAS Occasional Publication No. 22:147-150.
- Mauricio, R. M., F. L. Mould, M. S. Dhanoa, E. Owen, K. S. Channa and M. K. Theodorou. 1999. A semi-automated *In Vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79:321-330. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199000334> [Oct. 21, 2016].
- McDougall, E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *J. Biochem.*, 43:99-109.
- Molina, I. C., G. V. Donneys, S. Montoya, J. Rivera, J. Chara, G. H. Villegas, R. Barahona 2015. La inclusión de *Leucaena leucocephala* reduce la producción de metano de terneras Lucerna alimentadas con *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrus maximus*. *Liv. Res. Rur. Dev. Vol. 27*. Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd27/5/moli27096.html> [Oct. 22, 2016].
- Monforte, G. E., C. A. Sandoval, L. Ramírez and C. M. Leal. 2005. Defaunating capacity of tropical fodder trees: Effects of polyethylene glycol and its relationship to *in vitro* gas production. *Anim. FeedSci. Technol.*, 123-124: 313-327. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840105001598> [Oct. 16, 2016].
- Mota, M., R. Rodríguez, E. Solanas and M. Fondevila, 2005. Evaluation of four tropical browse legumes as nitrogen sources: Comparison of *in vitro* gas production with other methods to determine N degradability. *Anim. FeedSci. Technol.*, 123-124(1):341-350. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840105001616> [Oct. 18, 2016].
- Naranjo, J. F., C. A. Cuartas y H. J. Correa. 2005. Comparación de cuatro modelos matemáticos para la caracterización de la cinética de degradación ruminal de algunos recursos forrajeros. *Liv. Res. Rur. Dev. Vol. 17*. Disponible en línea: <http://www.lrrd.org/lrrd17/9/nara17098.htm> [Oct. 25, 2016].
- Ngamsaeng, A., M. Wanapat, S. Khampa. 2006. Evaluation of local tropical plants by *in vitro* rumen fermentation and their effects on fermentation end-products. *Pakistan J Nutr.* 5: 414–418. Disponible en: <http://www.pjbs.org/pjnonline/ab525.htm> [Oct. 25, 2016].
- Nogueira, J. C., M. Fondevila, A. Barrios and M. González. 2000. *In vitro* microbial fermentation of tropical grasses at an advanced maturity stage. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 83:145-157. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840199001236> [Oct. 20, 2016].
- Nsahlai, I. V., N. N. Umunna and D. Negassa, 1995. The effect of multi-purpose tree digesta on *in vitro* gas production from napier grass or neutral-detergent fibre. *J. Sci. Food Agr.*, 69:519–528.
- Ørskov, E. R. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agr. Sci.*, 92:499-503.
- Paengkoum, P. and S. Traiyakun. 2011. Ruminant and intestinal digestibility of leucaena (*Leucaena leucocephala*) and jack fruit (*Artocarpus heterophyllus*) foliages using *in sacco* and three-step techniques. *Res. J. Appl. Sci.*, 6(2):88-91. Disponible en línea: <http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=rjasci.2011.88.91> [Oct.11, 2016].
- Pell, A. N. and P. Schofield. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. *J. DairySci.*, 76:1063-1073. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293774354> [Oct. 02, 2016].
- Posada, S. L. y R. Rosero. 2006. Comparación de modelos matemáticos: Una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 20:141-148. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295023034006> [Oct. 14, 2016].
- Razz, R., T. Clavero y J. Vergara. 2004. Cinética de degradación *in situ* de la *Leucaena leucocephala* y *Panicum maximum*. *Rev. Cient.*, 14:424-430.

- Rodríguez, R., M. Fondevila and C. Castrillo. 2009. *In vitro* ruminal fermentation of *Pennisetum purpureum* CT-115 supplemented with four tropical browse legume species. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 151:65-74. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784010800374X> [Oct. 19, 2016].
- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, 70. pp. 3551-3561. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/70/11/3551?search-result=1> [Oct. 15, 2016].
- Sandoval, C. A., C. Capetillo, R. Cetina and L. Ramirez. 2002. A mixture simplex design to study associative effects with an *in vitro* gas production technique. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 101:191-200. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840102001372> [Oct. 15, 2016].
- SAS Institute Inc. 2008. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute, INC, Cary, NC, USA.
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P.J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.*, 70:3562-3577.
- Tarazona, A. M., M. C. Ceballos, C. A. Cuartas, J. F. Naranjo, E. Murgueitio and R. Barahona. 2013. The relationship between nutritional status and bovine welfare associated to adoption of intensive silvopastoral systems in tropical conditions. **In:** Enhancing animal welfare and farmer income through strategic animal feeding - Some case studies (ed. Makkar H). pp. 69-78, FAO Animal Production and Health Paper No. 175. FAO, Rome, Italy.
- Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 48:185-197. Disponible en línea: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377840194901716> [Oct. 14, 2016].
- Van, Soest P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74:3583-3597.
- Vergara, J., Á. Rodríguez, C. Navarro y Á. Atencio. 2006. Efecto de la suplementación con leucaena (*Leucaena leucocephala* Lam. de Wit) sobre la degradabilidad ruminal del pasto alemán (*Echinochloa polystachyah*.b.k. Hitch). *Rev. Cient.*, 16:642-647.
- Weimer, P. J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J. Anim. Sci.*, 76:3114-3122. Disponible en línea: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/76/12/3114?search-result=1> [Oct. 19, 2016].
- Williams, B. A. 2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D. I., E. Owen, R. F. Axford and H. M. Omed (Eds.), *Forage Evaluation In: Ruminant Nutrition*. CABI, Oxfordshire, UK. pp. 189-213.

## Replacement of corn by crude glycerin in beef cattle diets: ruminal fermentation, rumen kinetic and blood metabolites

### Sustitución del maíz por glicerina cruda en dietas para ganado de carne: fermentación, cinética ruminal y metabolitos sanguíneos

Román D. Castañeda Serrano<sup>1\*</sup>, Antonio Ferriani Branco<sup>2</sup> y Lina M. Peñuela Sierra<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad del Tolima. Ibagué, Tolima, Colombia. Grupo de investigación en sistemas agroforestales pecuarios. Correo electrónico: rcastaneda@ut.edu.co\* <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Grupo de pesquisa em nutrição de ruminantes. Brasil.

#### ABSTRACT

With the expansion of the biodiesel industry, there is a potential in the availability of processing byproducts, especially crude glycerin (CG), which has high energy content and can be used in animal feeding. The objective of this study was to evaluate the effects of CG supplementation on fermentation, kinetic rumen and blood metabolites. 5 ruminally cannulated Nelore steers (522±43 Kg) were used in a 5×5 Latin square design. The treatments were: (control), 3, 6, 9 and 12% of CG based on the total dry matter. The estimated minimum point (pH min), average pH and average NH<sub>3</sub>-N decreased linearly (P<0,05) as the level of CG in diet increased. Acetate decreased linearly as the level of CG in the diet increased. The propionate and butyrate increased linearly as the level of CG in diet increased (P<0,05). The acetate: propionate ratio decreased with the level of CG in diets. The rate of liquid passage (Kp), the ruminal volume (RV), the retention time (RT) and the recycling rate (Rec R) were not influenced by the levels of CG in the diet. There were no differences (P>0,05) between treatments for glucose, cholesterol, triglycerides and plasma urea nitrogen values (PUN). It is concluded that CG can be used to feed cattle at a level of 12% and can be considered as an alternative energy source.

**Key words:** biodiesel, byproduct, glycerol, ruminants

#### RESUMEN

Con la gran expansión de la industria del biodiesel, existe una disponibilidad potencial de los subproductos proveniente de su procesamiento, especialmente de la glicerina cruda (GC), la cual tiene un alto contenido energético y puede ser utilizada en la alimentación animal. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la suplementación con GC, sobre la fermentación, cinética ruminal y metabolitos sanguíneos. 5 novillos Nelore (522±43 Kg) canulados en el rumen, fueron distribuidos en un diseño de cuadrado latino 5X5. Los tratamientos fueron: (control), 3, 6, 9 y 12% de GC en base a la materia seca total de la dieta. El pH min, pH promedio y el N-NH<sub>3</sub> promedio disminuyeron (P<0,05) con el aumento de los niveles de GC en la dieta. El acetato disminuyó con el aumento de los niveles de GC en la dieta. Las concentraciones de propionato y butirato aumentaron (P<0,05) con los niveles de GC en la dieta. La proporción acetato: propionato disminuyó con el aumento de los niveles de GC en la dieta. La tasa de pasaje de líquidos (Kp), el volumen ruminal (VR), el tiempo de retención (TR) y la tasa de reciclaje (T Rec) no fueron influenciados por los niveles de GC en las dietas. No hubo diferencias (P>0,05) entre tratamientos para los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos y nitrógeno ureico en plasma. Se concluye que la GC puede ser usada en dietas de ganado de carne hasta en un nivel de 12%, además puede ser considerada como una fuente alternativa de energía.

**Palabras clave:** biodiesel, subproducto, glicerol, rumiantes.

## INTRODUCTION

In Brazil, the production of biodiesel is significantly accelerated, because the government established mandatory adding 5% of biodiesel to petroleum diesel since 2013, according to Law 11097/2005 about the biodiesel introduction into Brazilian energetic matrix. With the great expansion of the biodiesel industry, there is a potential in the availability of processing co-products, especially CG, which has high energy content and can be used in animal feeding. The high offer of CG from biodiesel fuel production will likely flood glycerin supplies for the traditional uses, although there are many applications for glycerin, such as using it as an energy source in livestock diets (Chanjula *et al.*, 2014). The cattle production system in feedlots in Brazil has undergone significant changes in recent years, especially in the size of enterprises, management and animal nutrition.

This system is characterized by using high amounts of corn. The trend in grain prices is increasing, besides being designed for ethanol production, mainly in the United States, thus, the use of corn in the diet of ruminants is becoming limited. In this regard, the use of CG has emerged as an option for animal feeding due to lower cost and the ability to replace energy food, like corn (Mach *et al.*, 2008).

There is a great interest in the use of alternative feeds that can replace some of the grains used in the concentrates, without damaging the physiological, metabolical aspects or animal performance, due to this fact, the cost of confined animal production is considered very high (Benedeti *et al.*, 2016). However, it is noteworthy that the CG obtained from the process of transesterification of vegetable oil in Brazil has not been standardized related to composition, although in recent years many efforts and new technologies have been studied to obtain a co-product of better quality.

Preliminary studies on the inclusion of CG in the feeding of ruminants, from the earliest to the latest (Johns, 1953; Avila *et al.*, 2011), indicate that glycerol is fermented to propionate. This is of a great interest in the beef cattle nutrition and has been tested by Chanjula *et al.* (2015) who observed that most of the glycerol has become propionic acid. According to Trabue *et al.* (2007),

when CG is provided in animal diet it tends to reduce the available amount of carbon and ruminal hydrogen contributing to the production of methane gas, by reducing the production of acetate, with subsequent improvement in the efficiency of energy utilization by the animal.

Furthermore, Elam *et al.* (2008) suggested that the presence of glycerol in the diet can increase the water holding capacity of the portions in low humidity environments and improve the palatability of the concentrate due to its flavor and mild taste. However, all these advantages need to be evaluated in *in vivo* experiments with the objective of building a scientific basis by nutritionists. This work was performed in order to evaluate the effects of adding CG into diets offered to beef cattle on fermentation, ruminal kinetics and blood metabolites.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment was performed in the Iguatemi Experimental Farm and the Feed and Animal Nutrition Analysis Laboratory, in the Universidade Estadual de Maringá, Brazil. 5 Nelore steers with  $565 \pm 45$  kg body-weight and a rumen cannula were housed in individual pens. The diets were formulated to allow 1,10 to 1,20 Kg d<sup>-1</sup> daily weight gain. A 5x5 Latin square design was used with, 5 periods and 5 steers per treatment. The experimental periods were of 21d each with the first 15d intended for adaptation to the experimental diets (Table 1) and the following 6d for sample collection (feeds offered, rejections, rumen liquid, and blood plasma). Food intake was adjusted to obtain 5-10% of rejections from the total food offered. Daily food intake was calculated as the difference between food supplied and food rejected, based on the dry matter (DM).

The chemical composition of materials used in the experimental diets is shown in Table1 (ratio between forage and concentrate was 40:60). The CG inclusion in feedlot diets consisted of 0, 3, 6, 9 and 12% based on the total DM of the diet. The diets were provided *ad libitum* a complete mixture twice a day (at 08:00 h and at 16:00 h), and the CG was mixed completely with the other ingredients during the feed preparation.

During the 21d, samples were collected using a ruminal cannula, 150ml of ruminal fluid to

Table 1. Chemical and feed raw material composition of experimental diets based on DM.

	Experimental diets composition (%)				
	0	3	6	9	12
Sorghum silage	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0
Corn	30,2	26,4	23,2	19,7	16,2
Soybean meal	8,0	8,8	9,0	9,5	10,0
Wheat flour	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Crude glycerin	0,0	3,0	6,0	9,0	12,0
Calcium carbonate	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sodium chloride	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Mineral premix <sup>1</sup>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Chemical composition (%)				
Crude Protein	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5
Ether Extract	3,1	3,2	3,2	3,2	3,2
Neutral Detergent Fiber	36,7	36,4	36,1	35,8	35,5
Non Fiber Carbohydrates <sup>2</sup>	43,1	43,2	43,6	43,9	44,2
Total Digestible Nutrients <sup>2</sup>	71,0	71,0	71,0	71,0	71,0
NEm <sup>3</sup>	1,67	1,67	1,67	1,67	1,67
NEg <sup>4</sup>	1,06	1,06	1,06	1,06	1,06

<sup>1</sup>Mineral premix: 0,023% calcium iodate; 0,127% zinc oxide; 0,0089% sodium selenite; 0,03 % cobalt sulfate; 1,2% copper sulfate; 2,07% manganese sulfate, <sup>2</sup>Calculated according Sniffen *et al.* (1992); <sup>3</sup>NEm= net energy for maintenance and <sup>4</sup>NEg= net energy for gain, calculated by NRC (2000).

determine pH, concentration of ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) and ruminal kinetics of liquid phase by the cobalt complex ethylenediamine tetra acetic (EDTA-Co). The first collection was started immediately before the delivery of the first meal of the day, which was collected at time 0 and the next sample at 2, 4, 6, 8, 12, 14 and 24h after the first feeding. After each ruminal fluid collection, the pH was immediately measured with a digital pH meter (Digimed DM20).

For the analysis of ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N), an aliquot of 50ml of ruminal fluid was acidified with 1ml of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1) and stored at -20°C for later analysis. The rumen fluid was kept at room temperature and then it was centrifuged at 3.000xg for 15 min. The NH<sub>3</sub>-N concentration of

the samples was determined using the Fenner (1965) method.

To determine the kinetics of liquid phase, 30g of Co-EDTA diluted in 500ml of distilled water were administered into the rumen of each animal, before the first feeding and placed directly into the rumen at different locations in a single dose for to determine the liquid passage rate (Udén *et al.*, 1980). Similarly, 50ml of rumen fluid were collected approximately before placing the Co-EDTA and every 2 hours to complete 12 hours, with a final collection 24 hours after administration of the tracer.

The liquid passage rate and ruminal concentration curves of Co-EDTA were adjusted to an exponential model unicompartmental of Hungate (1966):

$$Y_{co} = A \cdot e^{-(k_1 \cdot t)}$$

Where,  $Y_{co}$  = tracer concentration at time  $t$ ;

$A$  = equilibrium concentration of cobalt;

$K_1$  = rate of passage or dilution of cobalt;

$t$  = sampling time.

The dynamic parameters of the liquid phase were calculated according to the methodology of Colucci *et al.* (1990) where: the retention time in the rumen (hours) = 1/fluid passage rate ( $TpRet=1/kl\%/h$ ); ruminal volume (liters) provided the quantity of cobalt (mg)/A mg/L ( $VR=Co/A$ ); recycling rate of ruminal liquid phase (number of times/day) =  $24h/TpRet$ , calculated according Maeng and Baldwin, (1976).

To determine the volatile fatty acid (VFA) samples were collected at time 0 and the next sample at 2, 4, 6, 8, 12 hours, after the first feeding. Samples of 50 ml of ruminal fluid were collected and frozen until analysis. Samples were centrifuged at 15.000xg for 20 min and the supernatant was used to determine VFA concentration by gas chromatograph (Hewlett Packard 5890 Series II) equipped with integrator (Hewlett Packard 3396 Series II Integrator) and automatic gun (Hewlett Packard 6890 Series Injector), and analyzed according to Campos *et al.* (2004).

The internal standard used was 2-methylbutyric acid being added in each tube for reading chromatograph, 100  $\mu$ l of internal standard, 800  $\mu$ l and 200  $\mu$ l sample of formic acid. A short chain mixture of fatty acids with a known concentration was used as an external standard for integrator calibration.

Blood samples were collected on the 18th day of each period, before the first feeding (8h00min) by jugular vein puncture using heparin as anticoagulant. Subsequently, the samples were centrifuged for 15min at 2500xg, the plasma transferred to micro tubes considering pet / time / period. The plasma resultant was stored at -20°C for subsequent analysis of glucose, cholesterol, triglycerides, and plasma urea nitrogen using commercial kits (GoldAnalisa®).

The experimental design was a 5x5 Latin square. The data was interpreted using ANOVA, adopted a 5% probability, and when there was

a significant treatment effect it was used for a polynomial regression analysis.

Data of pH and  $NH_3$ -N in the ruminal fluid were adjusted using a time function equation for each animal within each treatment period. These equations calculated the time to reach maximum acidity (pH), maximum and minimum concentrations of  $NH_3$ -N, using regression analysis. The critical points as biological variables were analyzed by ANOVA and when the values were significant, polynomial regression equations were analyzed in function of the increasing levels of CG. All statistical procedures were performed using SAS software (version 9.1 Statistical Analysis System, 2005).

## RESULTS AND DISCUSSION

The dry matter intake (DMI), expressed as Kg/d were similar among treatments ( $P>0,05$ ). The DMI ranged from 9,53 to 10,11 Kg/d and occurred in treatments with 9% and 3% of GC inclusion, respectively (Table 2).

Mach *et al.* (2008) reported that the existing methanol in CG can have potentially negative effect on the DMI, but the presence of 0,09% of this compound did not affect the intake of animals; and concluded that CG may be included as an alternative energy source to replace grain up to the level of 12%. In the present study 1,5% methanol in CG did not result in significant changes on DMI. Indeed, Lage *et al.* (2010) reported that ruminants do not have health risks associated with methanol in CG inclusion in the diet because methanol is naturally produced in the rumen as a result of pectin fermentation.

The minimum critical point (CP min) for pH was not influenced ( $P>0,05$ ) by CG levels. However, the average pH and pH min decreased as the level of CG in the diet increased ( $P<0,05$ ). The pH min changed from 6,51 to 6,29 for the treatments of 0% and 12% of CG, respectively. While the average pH fell from 6,70 to 6,49 for treatments of 0% and 12% of CG, respectively.

Wang *et al.* (2009) reported similar behavior of steers fed with inclusions of 0,100, 200 and 300 g/d of CG, observed values of ruminal pH of 6,58; 6,56; 6,32 and 6,23 respectively. Similar

Table 2. Dry matter intake (DMI) and critical point (hours: minutes) for pH and NH<sub>3</sub>-N

Item	Levels of crude glycerin in the diet (%)					SE	P
	0	3	6	9	12		
DMI (kg/d)	9,64	10,11	9,23	9,53	9,86	0,21	0,35
CP mín <sup>1</sup> pH	4:57	4:41	4:41	4:40	4:25	0,19	0,45
pH in CP min*	6,51	6,46	6,40	6,29	6,23	0,05	0,01
pH average <sup>3*</sup>	6,70	6,63	6,67	6,53	6,49	0,03	0,01
CP max <sup>2</sup> NH <sub>3</sub> -N	1:23	1:39	1:39	1:51	1:37	0,16	0,41
CP min NH <sub>3</sub> -N	6:28	6:47	6:15	6:25	6:04	0,23	0,31
NH <sub>3</sub> -N in CP min*	5,00	5,74	6,21	6,85	6,78	0,76	0,01
NH <sub>3</sub> -N in CP max	17,07	17,40	15,91	13,54	10,33	1,07	0,43
NH <sub>3</sub> -N average <sup>3*</sup>	10,94	11,43	11,21	10,17	8,51	0,72	0,03

<sup>1</sup>CP min= Minimum critical point during the first 8 hours post feeding, <sup>2</sup>CP max = Maximum Critical point during the first 8 hours post feeding. <sup>3</sup>Average value during the period from 0 to 8 hours post feeding. SE = standard error of the mean. P = Value P. \*Regression equations: pH in CP min:  $\hat{Y} = 6,61 - 0,07X$ ; pH average:  $\hat{Y} = 6,73 - 0,05X$ ; NH<sub>3</sub>-N in CP max:  $\hat{Y} = 20,05 - 1,73X$  and NH<sub>3</sub>-N average:  $\hat{Y} = 12,29 - 0,61X$ .

results were reported by Defrain *et al.* (2004) who observed a pH decreased with the addition of CG (80,2% glycerol) in the diet of dairy cows postpartum; this researchers obtained 6,9; 6,89 and 6,61 values for 0; 430 and 860g / day levels of CG, respectively.

Despite the drop in pH in the treatments with higher levels of CG, the values are still higher than considered minimum desirable of 6,2 as reported by Hoover (1986), Ørskov (1988) and Van Soest (1994) to be ideal to promote fermentation of fiber and hold the activity of cellulolytic microorganisms.

The maximum critical point (CP max) and the CP min for the NH<sub>3</sub>-N were not affected by the inclusion of CG ( $P > 0,05$ ), and the observed values occurred from 1:23 - 1:51 (hours: minutes) to CP max and from 6:04 - 6:47 (hours: minutes) to CP min post feeding. The minimum concentration of NH<sub>3</sub>-N was not influenced by the levels of CG in the diet and it was found that for all treatments the values remained above 5 mg/dL<sup>-1</sup> as suggested by Satter and Slyter (1974) at least for an adequate ruminal fermentation of the cell wall. In respect to NH<sub>3</sub>-N in CP max and average NH<sub>3</sub>-N it was observed that as the level

of CG increases, the concentration of NH<sub>3</sub>-N decreases linearly ( $P < 0,05$ ) possibly due to the presence of glycerol in the diet, leading to high growth of microbial populations in the rumen, increasing the consumption of NH<sub>3</sub>-N, especially for populations that degraded the fiber. Similar results were observed by Wang *et al.* (2009) in steers fed with diets 60% forage and 40% concentrate, with concentrations of 10,4; 9,3; 7,9 and 7,5 mg/100 ml to levels of 0, 100, 200 and 300g /d of CG respectively.

Another reason for this behavior can be reduced proteolytic activity. This theory is supported by Paggi *et al.* (1999) who reported a decrease in proteolytic activity of 20% when glycerol was included at levels up to 300 mm in *in vitro* experiment. The same authors reported that when the glycerol is dissolved in the rumen, proteolysis is more difficult due to the lack of a hydrophobic chain of the glycerol molecule.

The VFA concentrations vary ( $P < 0,05$ ) according to the level of inclusion of CG in diet (Table 3). Acetate decreased linearly from 55,9 to 46,8 mmol/L as increased the level of CG in the diet. At the same time, the propionate increased linearly as the level of CG increased in diet ( $P = 0,0005$ ).

Table 3. Volatile fatty acids (VFA) depending on crude glycerin levels in beef cattle diets.

Item	Levels of crude glycerin in diet (%)					SE	P
	0	3	6	9	12		
Acetic Acid mmol/L*	55,9	56,7	50,4	48,8	46,8	5,12	0,0005
Propionic acid mmol/L*	11,7	14,7	16,4	19,1	19,2	3,88	0,0050
Butyric acid mmol/L*	11,7	13,1	15,3	18,0	18,5	6,39	0,0001
VFAs Total mmol/L	80,5	84,6	82,1	85,9	84,5	4,49	0,3600
ratio acetic: propionic*	4,5	3,9	3,1	2,7	2,6	0,57	0,0001

\*Regression equations: acetic acid:  $Y = 59,56 - 2,61x$   $r^2 = 0,41$ ; Propionic acid:  $Y = 11,34 + 1,70(x)$   $r^2 = 0,29$ ; Butyric acid:  $Y = 9,76 + 1,86(x)$   $r^2 = 0,61$ ; Ratio acetic:propionic:  $Y = 4,82 - 0,49(x)$   $R^2 = 0,54$ . SE = standard error of the mean. P = value P.

Similar behavior was observed with butyrate which increased from 11,7 in the diet with 0% to 18,5 mmol/L in the diet with 12% CG. These results directly influenced the acetate: propionate ratio which went from 4,5 in the treatment with 0% to 2,6 in the treatment with 12% CG.

Previous studies have shown that when animals (Defrain *et al.*, 2004; Trabue *et al.*, 2007) or cultures (Ferraro *et al.*, 2009; AbuGhazaleh *et al.*, 2011; Avila *et al.*, 2011; Chanjula *et al.*, 2015) were supplemented with glycerol, the acetate level was lower than in those without (glycerol). The results observed in this study are consistent with those reported by AbuGhazaleh *et al.* (2011), who replaced corn with glycerol with 99,5% purity at levels of 0, 15, 30 and 45% using continuous culture fermenters, similar behavior was also observed in the production of acetate, propionate and butyrate. Roger *et al.* (1992) and Paggi *et al.* (1999) reported that the cellulolytic activity of ruminal extract was reduced as glycerol concentration in diets increased. However, the reduction in fiber digestibility is usually associated with a decrease in acetate production (Castillejos *et al.*, 2006).

The propionate increase is consistent with other studies that have shown that glycerol fermentation resulted in the increases of propionate (Bergner *et al.*, 1994; Ferraro *et al.*, 2009; AbuGhazaleh *et al.*, 2011). Defrain *et al.* (2004) also observed that with a dose of 430 g/day glycerol, acetate tend to be reduced ( $P = 0,15$ ), but propionate was increased ( $P < 0,05$ ) without changes in butyrate. The increase of butyrate concentration with

glycerol substitution level is similar that previous studies (Ferraro *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009) who reported that the butyrate formation in the VFA mixture increased at the expense of acetate when glycerol was supplemented at increasing levels. This fermentation pattern is consistent with other *in vitro* (Bergner *et al.*, 1994; Trabue *et al.*, 2007) and *in vivo* (Defrain *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2009) which confirms the propioneogenic properties of glycerol.

According to Schroder and Südekum (1999), it is likely that glycerol fermentation to ruminal propionate is similar to a fermentable carbohydrate source; the same authors suggested that glycerol of different purities could replace rapidly fermentable starches in diets for ruminants at up to 10% of DM the diet. Our results corroborate the same observation.

Results for butyrate were different from those reported by AbuGhazaleh *et al.* (2011), who observed that butyrate proportions of the total VFA were linearly reduced ( $P = 0,01$ ) with increasing levels of glycerol.

According to Wang *et al.* (2009), glycerol levels increased total VFA production when has added low amounts (i.e., 1,1; 2,2 and 3,3 g/Kg DM) to high forage diets in steers. However, despite the changes in the ratios of VFA in this study, the total VFA production was not affected by glycerol inclusion in the diet ( $P > 0,05$ ).

The data obtained in this study suggest that the use of glycerol may be even more interesting in beef than in dairy cattle, as this could reduce

milk fat as reported by Defrain *et al.* (2004). Meanwhile, Kijora *et al.* (1998) demonstrated that some glycerol can be escaping rumen fermentation, as glycerol content in plasma was significantly higher than in the rumen 12h after the intraruminal glycerol administration (200 g/d), at days 3 and 7 (glycerol infusion days) compared to day 1 (control, without glycerol). Therefore, Ferraro *et al.* (2009) suggested that glycerol in the treatment and prevention of ketosis in dairy cattle may act either by increasing the pool of propionate or directly as a glucose precursor in the liver.

The rate of liquid passage (Kp), the ruminal volume (RV), the retention time (RT) and the recycling rate (Rec R) were not influenced by the levels of CG in the diet, and the mean values were 10,8% / h; 78,8 l; 9,6h and 2,6 times / day respectively (Table 4). Cereal grains are protected by a protein matrix with structural function, which is heavily concentrated in vitreous endosperm, especially in corn grain (Van Soest, 1994). The complex structure of the corn decreases the starch degradation in the rumen and digestibility when compared to other cereals (McAllister *et al.*, 1990). Thus, as the corn is replaced by CG in the diet by their physical shape and chemistry it is likely to affect crude glycerin ruminal kinetics, increasing the Kp and decreasing the RV and RT. Therefore, it was expected rumen microorganism ferment glycerol faster, but the results were no as expect it. In this sense, Kijora *et al.* (1998) working with steers receiving intra ruminant infusion 200 g glycerol / day, observed that over 85% of the infused glycerol, disappeared in the rumen during the first 2 hours. However, Krehbiel, (2008) suggested that the rate of

disappearance of glycerol rumen increased in previously adapted animals.

There were no differences ( $P>0,05$ ) between treatments for glucose, cholesterol, triglycerides and plasma urea nitrogen values (Table 5). The concentration of glucose in all treatments was higher than the average reported by Pogliani and Junior, (2007) for an adult cattle 74,17 mg / dL. It is hypothesized that glycerol may increase plasma glucose levels through its important gluconeogenic activity (Defrain *et al.*, 2004); however data reported in this paper does not demonstrated this .

Because of its gluconeogenic ability, the glycerol has been used for prevention of ketosis, however, the effects of glycerol addition on plasma glucose concentrations are unclear. There are several reports on non-response of plasma glucose from glycerol given supplementation (Chung *et al.*, 2007; Osborne *et al.*, 2009; Rico *et al.*, 2012). Furthermore, Wang *et al.* (2009) offering levels of 0, 100, 200, or 300 g of purified glycerin and Donkin *et al.* (2008), providing 0, 5, 10, or 15% of purified glycerin also observed increase in plasma glucose concentration after glycerin supplementation.

Linke *et al.* (2004) compared delivery methods of glycerol (feeding vs. drenching 800 g) and found drenching to be more efficacious at increasing plasma glucose and insulin concentrations. The amount of glycerol flowed into the abomasum or absorbed across the rumen epithelium when drenched relative to the amount that is fermented when fed appears to determine the gluconeogenicity of glycerol in peripartum dairy cows.

Table 4. Ruminal kinetics depending on crude glycerin levels in beef cattle diets.

Item	Levels of crude glycerin in diet (%)					SE	P
	0	3	6	9	12		
Kp (%/h)	9,7	10,9	10,8	11,0	11,7	0,58	0,24
RV (L)	83,2	80,8	77,8	76,1	76,1	3,79	0,62
RT (h)	10,7	9,4	9,6	9,3	8,9	0,44	0,12
Rec R(times/d)	2,3	2,6	2,6	2,7	2,8	0,14	0,25

Kp (liquid phase) = Passage rate of the liquid phase; RV (Liters) = Ruminal volume; RT = Retention time; Rec R = recycling rate (times/day). SE = standard error of the mean, P = value P.

Table 5. Blood metabolites (mg/dL) depending on crude glycerin levels in beef cattle diets.

Item	Levels of crude glycerin in diet (%)					SE	P
	0	3	6	9	12		
Glucose	75,5	81,2	84,4	86,9	85,4	3,8	0,29
Cholesterol	157,4	163,7	161,4	146,8	141,5	9,0	0,38
Triglycerides	25,2	25,4	26,8	24,5	23,6	1,4	0,62
Plasma urea nitrogen	12,2	11,4	11,6	12,2	11,7	0,6	0,09

SE = standard error of the mean. P = value P.

Defrain *et al.* (2004) showed interaction of plasma glucose concentration and the tendency for greater ruminal butyrate concentrations, it is likely that the ruminal fermentation of glycerol may have increased ruminal butyrate beyond the sample of rumen liquor collected. This is especially true with regard to the inverse relationship between plasma glucose and BHBA (beta-hydroxybutyrate) in cows.

There were no differences between treatments for the plasma urea nitrogen ( $P > 0,05$ ), obtaining an average value of 11,8 mg/dL (Table 5). The results obtained in this study suggest that protein intake in the diet was adjusted to the requirements of the animals in their physiological state. Defrain *et al.* (2004) reported tendencies for a lower milk fat yield and milk urea nitrogen when animals were fed with glycerol. However, in this study with beef cattle this tendency was not observed. The data suggested that the energy availability was similar for both maize and CG. The concentration of plasma glucose, cholesterol and triglycerides did not differ among treatments ( $P > 0,05$ ). The overall average for these variables was 82,7; 154,2 and 25,1 mg/dL respectively. These data are within normal limits for beef cattle, according to Anderson and Rings (2009) and Doornenbal *et al.* (1988).

## CONCLUSIONS

The inclusion of 12% CG in the diet of beef cattle based on dry matter decreased the ruminal pH. Also the average and calculated maximum ammonia nitrogen decreases when the level of crude glycerin is increased in the diet. Acetate: propionate ratio decreases with the inclusion

of crude glycerin in diets. The proportion of butyrate increases with inclusion of CG in the diet.

It is concluded that CG can be used to feed beef cattle at a level of 12% and can be considered as a good source of alternative energy. It is suggested that the use of crude glycerin in beef cattle diets can improve utilization of ruminal ammonia nitrogen and probably the use of glycerin is potentiated using non-protein nitrogen sources.

## LITERATURE REVIEW

- AbuGhazaleh, A. A., S. Abo El-Nor, S. A. and Ibrahim. 2011. The effect of replacing corn with glycerol on ruminal bacteria in continuous culture fermenters. *J Anim Physio Anim Nutri.*, 95:313-319.
- Anderson, D. E. and M. Rings. 2009. *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice* St. Louis, MO. Saunders Elsevier. 556 p.
- Avila, J. S., A. V. Chaves, M. Hernandez-Calva, K. A. Beauchemin, S. M. McGinn, Y. Wang, O. M. Harstad and T. A. McAllister. 2011. Effects of replacing barley grain in feedlot diets with increasing levels of glycerol on in vitro fermentation and methane production. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 166:265-268.
- Benedeti, P. D. B., Paulino, P. V. R., Marcondes, M. I., Maciel, I. F. S., da Silva, M. C. and Faciola, A. P. (2016). Partial Replacement of Ground Corn with Glycerol in Beef Cattle Diets: Intake, Digestibility, Performance, and Carcass Characteristics. *PloS one*, 11(1): 1-14.

- Bergner, H., C. Kijora, Z. Ceresnakova and J. Szakacs. 1994. *In vitro* studies on glycerol transformation by rumen microorganisms. *Archiv für Tierernährung*, 48:245- 256.
- Campos, F. P., C. M. B. Nussio y L. G. Nussio. 2004. Métodos de análise de alimentos. Piracicaba: FEALQ, 135 p.
- Castillejos, L., S. Calsamiglia and A. Ferret 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J. Dairy Sci.*, 89: 2649–2658.
- Chanjula, P., P. Pakdeechanuan and S. Wattanasit, 2014. Effects of dietary crude glycerin supplementation on nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites, and nitrogen balance of goats. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 27(3): 365-374.
- Chanjula, P., P. Pakdeechanuan and S. Wattanasit. 2015. Effects of feeding crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics in finishing goats. *Small Rum Res.*,123 (1): 95-102.
- Chung, Y. H., D. E. Rico, C. M. Martinez, T. W. Cassidy, V. Noiro, A. Ames and G. A. Varga. 2007. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *J Dairy Sci.*, 90: 5682-5691.
- Colucci, P. E., G. K. Macleod, W. L. Grovum, I. McMillan and D. J. Barney. 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J Dairy Sci.*, 73:2143-2156.
- Defrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur and P. W. Jardon. 2004. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *J Dairy Sci.*, 87:4195–4206.
- Donkin, S. S. 2008. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Braz J Ani Sci.*, (37):280-286.
- Doornenbal, H., A. K. Tong and N. L. Murray. 1988. Reference values of blood parameters in beef cattle of different ages and stages of lactation. *Can J. Vet. Res.*, 52: (1), 99-105.
- Elam, N. A., K. S. Eng, B. Bechtel, J. M. Harris and R. Crocker. 2008. Glycerol from Biodiesel Production: Considerations for feedlot diets. In *Proceedings of the Southwest Nutrition Conference*, Arizona, United States. pp. 1-13.
- Fenner, H. 1965. Methods for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *J Dairy Sci.*, 48:249–251.
- Ferraro, S. M., Mendoza G. D., Miranda L. A. and Gutiérrez, C. G. 2009. *In vitro* gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 154:112-118.
- Hoover, W. H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J Dairy Sci.*, (69):2755-2766.
- Hungate, R. E. 1966. Chapter IX – Host Metabolism in Relation to Rumen Processes. **En:** *The rumen and its Microbes*. New York: Academic Press, inc., version, 1999-2001. pp. 353 – 355.
- Johns, A. T. 1953. Fermentation of glycerol in the rumen of sheep. *New Zealand J Sci and Technol.*, (35):262-269.
- Kijora, C., H. Bergner, K. P. Gotz, J. Bartelt and J. Szakacs. 1998. Research note: investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Archiv für Tierernährung*; (51):341-348.
- Krehbiel, 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin, *J Anim Sci.*, 86 (E Suppl 2): 392.
- Lage, J. F., P. V. R. Paulino., L. G. R. Pereira., S. C. Valadares Filho., A. S. Oliveira., E. Detmann e J. C. M. Lima. 2010. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. *Pesqui Agrop Bras.*, (45):1012-1020.
- Linke, P. L., J. M. Defrain., A. R. Hippen and P. W. Jardon. 2004. Ruminal and plasma responses in dairy cows to drenching or feeding glycerol. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl.):343 (Abstr.)
- Mach, N., A. Bach and M. Devant. 2008. Effects of crude glycerin supplementation on

- performance and meat quality of Holstein bulls fed high-concentrate diets. *J Anim Sci.*, (87):632-638.
- McAllister, T. A., L. M. Rode, D. J. Major, K. J. Cheng and J. G. Buchanan-Smith. 1990. The effect of ruminal microbial colonization on cereal grain digestion. *Can J Anim Sci.*, (2):571- 579.
- Maeng, W. J. and R. L. Baldwin. 1976. Dynamics of fermentation of purified diet and microbial growth in the rumen. *J Dairy Sci.*, (59):636-642.
- N R C. National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Ed. National Academic. Washington, D. C. 7<sup>Ed</sup>.
- Orskov, E. R. 1988. Nutrición proteica de los rumiantes. Zaragoza: Ed. Acribia. 178. p.
- Osborne, V. R., N. E. Odongo, J. P. Cant, K. C. Swanson and B. W. McBride. 2009. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance and production performance dairy cows. *J Dairy Sci.*, (92):698-707.
- Paggi, R. A., J. P. Fay and H. M. Fernandez. 1999. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 78:341–347.
- Pogliani, F. and C. E. B. Junior. 2007. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo. *Braz J Veter Res Anim Sci.*, (44):373-383.
- Roger, V., G. Fonty, C. Andre and P. Gouet. 1992. Effects of glycerol on the growth, adhesion and cellulolytic activity of rumen cellulolytic bacteria and anaerobic fungi. *Current Microbiology.*, 25:197-201.
- Rico, D. E., Y. H. Chung, C. M. Martinez, T. Cassidy, K. S. Heyler and G. A. Varga. 2012. Effects of replacing starch of sugar with glycerin in diets for dairy cows on production and blood metabolites. *J Dairy Sci.*, 95: 3310-3317.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute (2005). (Version 9.1) [Computer program]. Cary, NC: Author.
- Satter, L. D. and L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Brit J Nutri.*, 32:199-208.
- Schröder, A. and K. H. Südekum. 1999. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. 10th International Rapessed Congress, Canberra, Australia.
- Sniffen, C. J., J. D. O'connor and P. J. Van Soest. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *J Anim Sci.*, 70(11):3562-3577.
- Trabue, S., K. Scoggin, S. Tjandrakusuma, M. A. Rasmussen and P. J. Reilly. 2007. Ruminal fermentation of propylene glycol and glycerol. *J Agricul Food Chem.*, 55:7043-7051.
- Udén, P., P. E. Collucci and P. J. Van Soest. 1980. Investigation on chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate passage studies. *J Sci Food Agricul.*, 31:625-632.
- Van, Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Ithaca, New York: Cornell. 476 p.
- Wang, C., Q. Liu, W. Z. Yang, W. J. Huo, K. H. Dong, Y. X. Huang and D. C. He. 2009. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 151(1):12-20.

## Aporte a la evaluación para la preservación del caballo Criollo Araucano en Colombia

### Contribution to the evaluation and preservation of “Araucano Criollo” horse in Colombia

Arcesio Salamanca Carreño<sup>1\*</sup>, Néstor Monroy<sup>2</sup>, Pere M. Parés-Casanova<sup>3</sup>  
y René Alejandro Crosby G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigaciones los Araucos sede Arauca, <sup>2</sup>Grupo GIUVUCC sede Villavicencio. <sup>1</sup>, <sup>2</sup>Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Arauca, Colombia. <sup>3</sup>Universidad de Lleida Depto. De Producción Animal, Catalunya, España. \*Correo electrónico: asaca\_65@yahoo.es

#### RESUMEN

El presente estudio tuvo como finalidad realizar un aporte a la evaluación y preservación del caballo Criollo Araucano. Para ello fueron analizados 27 machos pertenecientes a dos fincas del municipio de Arauca, Colombia, ubicadas a una altura de 128 m.s.n.m. Los animales tenían edad y peso promedio estimado de  $6,7 \pm 1,4$  años y  $321,2 \pm 39,4$  kg respectivamente. Las variables corporales se tomaron para cada animal con balanza, cinta y regla equinométrica a objeto de precisar: perímetro torácico, perímetro de la caña, diámetro longitudinal, diámetro dorso-esternal, alzada a la cruz, diámetro bicostal, longitud de cabeza, anchura de cabeza, longitud de cráneo, anchura de cráneo, longitud de cara, anchura de cara, alzada a la grupa, largo de grupa, anchura de grupa y alzada al nacimiento de la cola. El coeficiente de variación permitió determinar la uniformidad de los animales, mientras que la armonicidad fue precisada a través del coeficiente de correlación de Spearman. Los resultados obtenidos permitieron concluir que la población de caballos criollos araucanos en Colombia, es uniforme pero poco armónica.

**Palabras clave:** Arauca, recursos genéticos animales, biodiversidad, preservación.

#### ABSTRACT

This study aimed to make a contribution to the evaluation and preservation of “Araucano criollo” horse. For this purpose, 27 males belonging to two farms of the municipality of Arauca, Colombia, located at a height of 128 m.s.n.m were analyzed. Animals had an age and estimated average weight of  $6.7 \pm 1.4$  years,  $321.2 \pm 39.4$  kg, respectively. Body measurements were individually taken with balance, tape and equinometric rule: chest circumference, cannon circumference, longitudinal diameter, back-sternal diameter, withers height, bicostal diameter, head length, head width, length of skull, width of skull, face length, face width, croup height, rump length, rump width and elevation of the tail. Coefficients of variation were used to determine uniformity and Spearman correlation coefficient was used to determine harmonicity. From obtained results, it can be concluded that “Criollo Araucano” horse is uniform but rather disharmonic.

**Keywords:** Arauca, animal genetic resources, biodiversity, preservation.

## INTRODUCCIÓN

La pérdida de la diversidad de los recursos genéticos en los animales domésticos conlleva básicamente a dos consecuencias principales: la disminución de la variación genética (Hunton, 1984; Kennedy, 1984) y la debilidad para responder a los cambios medioambientales (Simon, 1984).

Los problemas que justifican la preservación de las razas domésticas han sido contemplados en distintos documentos emitidos por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, mundialmente conocida como FAO. En su informe de 1996, la protección de razas constituyó una de las opciones de subsistencia de Recursos Zoogenéticos, emanadas del Segundo Documento de Líneas Directrices para la elaboración de Planes Nacionales de Gestión de los Recursos Genéticos de Animales de Granja FAO (1998), este documento dió prioridad a la preservación *in situ*, con el propósito de recuperar y mantener a las especies o razas en el medio ambiente donde se han desarrollado. Siendo, el mejor espacio para que los animales continúan evolucionándose en su hábitat original.

El Segundo informe sobre la situación de los Recursos Zoogenéticos Mundiales para la Alimentación y la Agricultura de la FAO (2015), menciona que cerca de un 17% de las razas de animales de granja en el mundo se encuentran actualmente en peligro de extinción, mientras que la situación de riesgo de muchas otras (58%) simplemente se desconoce debido a la falta de datos sobre el tamaño y la estructura de sus poblaciones; la FAO (2016), ha reportado que entre los años 2000 y 2014 se extinguieron cerca de 100 razas de ganado.

Según la base de datos mundial de la FAO, existen en Colombia 5 razas autóctonas equinas: el Asno, el Criollo Colombiano, el Paso Fino Colombiano, el Trocha Pura Colombiana y el Trocha y Galope Reunido Colombiano. El caballo criollo de la sabana inundable de Arauca, Colombia, no está oficialmente reconocido como raza, ni se conoce su armonicidad morfoestructural a pesar de que su aporte a la producción ganadera ha sido trascendental desde hace más de un siglo, al ser considerado como animal de transporte y

manejo de los ganados en sabanas extensivas (Salamanca y Rodríguez, 2014).

La falta de estudios sistemáticos que definan la diversidad de los recursos genéticos representa un riesgo de perder la riqueza biológica de una región (Sierra *et al.*, 2003), por tanto, es importante estimar parámetros morfoestructurales para conocer la variabilidad de la población y establecer planes para mejorarlos (Sandoval, 2003). Las características de tipo/linaje de los animales pueden distinguir a las razas a simple vista, ya que se mantienen en una población diferenciándola de otras, cuando son consideradas en su conjunto (Canelón, 2005). Una forma de mejorar la diversidad del caballo criollo, es a través de la selección artificial basada en sus características morfológicas y funcionales que favorecen las labores de campo, permitiendo así su valoración étnica, por medios de programas de conservación y revalorizando su actitud productiva (Fernández, 2000).

Para el caso de poblaciones no caracterizadas, es importante conocer a fondo el concepto de raza valorado por Sotillo y Serrano (1985), quienes mencionan que la raza es un *“un grupo subespecífico de animales con frecuencias génicas similares que presentan características morfológicas y productivas semejantes dentro de una variación visible cuando son explotadas en las mismas condiciones ecológicas”*. La técnica de trabajo de la FAO (Scherf, 1997) considera a la raza doméstica como *“cualquier grupo subespecífico de animales domésticos con características externas definidas e identificables que permiten separarlo por medio de características visibles de otros grupos del mismo nivel dentro de la misma especie, o un grupo para el cual el aislamiento geográfico y/o cultural con respecto a grupos parecidos fenotípicamente ha dado lugar a la aceptación de su individualidad”*.

Para caracterizar etnológicamente a una raza, partiremos de la obtención y análisis de los datos relacionados a sus caracteres etnológicos, así como el medio ambiente en el cual se ha desarrollado para posteriormente mediante la aplicación de metodologías y herramientas adecuadas agruparlos en conjuntos definidos; siendo este el momento de abordar científicamente el problema que conducirá al mejor conocimiento de las poblaciones animales.

Para tomar decisiones en la clasificación de razas es necesario medir cada uno de los caracteres etnológicos, codificarlos y someterlos a los análisis estadísticos pertinentes.

La apreciación de las posibles correlaciones entre las diferentes regiones corporales resulta crucial, según Lerner y Donald (1969) *“debido al hecho que la mayoría de los genes que influyen sobre la configuración de un animal son de acción general y no local, la conformación de una región en parte se muestra estrechamente correlacionada con la conformación de otra. También existen genes específicos que afectan a determinadas regiones, tales como la cabeza, ubre y extremidades”*. Estas consideraciones apoyan la segunda proposición de Barón (1888): *“la morfología de la cabeza tiende a reflejarse en todas las regiones corporales y hasta en los miembros”*, proposición que más tarde fue ampliada por Castejón y Martínez de Arizala (1948).

Por otro lado, Herrera (2000) propone realizar el estudio de la armonicidad del modelo morfoestructural para determinar la población a evaluar, metodología que se seguirá en adelante y que, en esencia, nos señala que *“La consideración de la armonía morfoestructural de los individuos de una raza supone que en cualquiera de ellos, los incrementos o disminuciones en uno de sus parámetros morfoestructurales implican incrementos o disminuciones de otro parámetro en una medida proporcional a la primera, de tal manera que asistimos a la existencia de un MODELO, el cual mantendrá su forma fundamental aún cuando se produzca aumento o disminución de la masa corporal”*. Así, se expresará el *“... grado de armonía de una raza a través de las correlaciones múltiples entre todas las variable zoométricas obtenidas, de tal forma que el grado estará determinado por el mayor o menor número de correlaciones significativas encontradas entre las variables”*. De esta manera, Herrera asume que una raza o un individuo con mayor alzada debe de tener proporcionalmente mayor la anchura de la cabeza, el perímetro torácico o la longitud de la grupa en comparación con otro de la misma raza pero unos centímetros menos de alzada, concluyendo que éste es el principio de la armonicidad del modelo morfoestructural: *“Una raza en la que encontremos que*

*todas las variables están significativamente correlacionadas entre sí es una raza que responde a un modelo armónico, mientras que aquella en la que sólo están correlacionadas el 25% de las variables, tendremos que decir de ella que tiene un modelo poco armónico”*.

*“La armonicidad del modelo no es más que el resultado de la aplicación de unos criterios de selección acertados y su ausencia indica que, o no los hubo, o fueron poco acertados, bien porque el estándar no expresaba nitidamente las características, bien porque los jueces no se ajustaron a él o bien porque los criadores no lo supieron interpretar, entre muchas causas”* (Herrera, 2000). En ocasiones puede suceder que sea mejor no encontrar correlación entre dos regiones antes de que sea significativa, pero con signo negativo, ello significa que cuando una medida se incrementa, la otra paralelamente disminuye, pero por el contrario puede resultar poco armónico en cuanto al modelo. Ello confirma que los criterios de selección no han sido coincidentes y que existen líneas que posiblemente estén dotadas de una elevada uniformidad y transmitan a su descendencia las características que presentan los progenitores, que contempladas en conjunto, a nivel de raza, las diferencias sin ser marcadas, responden a modelos diferentes, siendo necesaria la unificación de criterios así como, la aplicación correcta de su estándar. Una correlación negativa supondría un impedimento a la hora de establecer una selección (González, 2007).

El estudio de los recursos genéticos animales se ha convertido en la prioridad nacional de muchos países al entender que se deben cuidar, rescatar, fomentar o mejorar según sea el caso, y así solventar necesidades humanas y beneficiar al medio ambiente (FAO, 1992; Henson, 1992). Una de las primeras fases para la conservación y mantenimiento de los recursos zoogenéticos es su caracterización racial basada en su morfología y morfometría mediante el uso e interpretación de mediciones corporales (FAO, 1998; Avellanet, 2006).

Bajo estos parámetros, el presente estudio tuvo como objetivo realizar un aporte a la evaluación y preservación del caballo Criollo araucano de la sabana inundable, a través de la evaluación de 16 medidas zoométricas lineales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población y área de estudio

Los datos se recolectaron en dos fincas del municipio de Arauca, Colombia; localizadas a una altitud de 128 m.s.n.m., en la región de sabana inundable, con una topografía totalmente plana, típica de la llanura. La temperatura media anual varía de 20 a 37°C, con un régimen pluvial monomodal y una precipitación media anual de 1.500 mm de abril a noviembre y humedad relativa del 85% (IDEAM, 2000).

### Fuente de datos

Se utilizaron 27 caballos Araucanos machos con edad y peso promedio de 6,7±1,4 años (rango 3-9 años) y 321,2±39,4 kg, respectivamente. Los caballos estudiados pertenecían a una población no sometida a programas de mejoramiento; fueron elegidos considerando: cabeza triangular, de base ancha y vértice fino mediana a grande, frente generalmente ancha y plana; carrillos medianamente destacados, ojos expresivos de forma triangular; orejas medianas puntas hacia arriba; ollares en forma de coma invertida mediana y elástica (Canelón, 2005). La edad, por no tener registros reproductivos de la manada, fue la declarada por los ganaderos, el peso corporal fue estimado con cinta equinométrica debido a dificultades de manejo por falta de báscula. Las demás mediciones corporales se recolectaron individualmente con cinta inextensible y regla equinométrica siguiendo la metodología propuesta por diferentes autores (Aparicio, 1960; Parés, 2009; Peña *et al.*, 2009; Infante, 2011).

El análisis abarcó 16 variables de interés funcional y etnológico necesarias para establecer diferencias entre las razas (Herrera *et al.*, 1996), tales como: perímetro torácico (**PT**) medición que parte desde el punto dorsal más declive de la región interescapular hacia la región esternal inferior para volver al punto de partida, perímetro de la caña (**PC**) medido en el tercio medio de la región metacarpiana, diámetro longitudinal (DL) medido entre la región exterior de la articulación escapulo-humeral y la punta de la nalga -extremidad posterior del isquion, diámetro dorso-esternal (DD) medido desde el punto más culminante interescapular y el esternal inferior

a nivel del olecranon,alzada a la cruz (ALC) medida desde el suelo al punto culminante de la cruz -región interescapular-, diámetro bicostal (DB), medido por detrás de los codos a nivel de la quinta costilla, de costillar a costillar, longitud de cabeza (**LCA**), medida desde el punto más culminante del occipital hasta el más rostral del labio maxilar, anchura de cabeza (**ACA**), medida entre los arcos cigomáticos, longitud de cráneo (**LCR**), medido desde el punto más prominente de la nuca -occipital- y el punto medio de la línea que une los arcos zigomáticos, unión fronto-nasal, anchura de cráneo (ACR) medido entre los puntos inmediatamente superiores de la apófisis coronoides de las ramas mandibulares, externamente quedan en la base de las orejas, longitud de cara (**LC**), medida entre la línea imaginaria que une el ángulo interno de los ojos y el punto más rostral del nasal, anchura de cara (**AC**), medida entre los puntos más laterales de las crestas malares, alzada a la grupa (ALNG), medida desde el suelo, al punto de unión de los lomos con la grupa, largo de grupa (LGR), medida entre el punto más lateral de la tuberosidad coxal y el punto más caudal de la nalga -fleo-isquiática- anchura de grupa (AGR), medida entre las tuberosidades laterales del coxal -espina ilíaca ventral caudal del ilion- y alzada al nacimiento de la cola (ANC), medida desde el suelo al maslo o base de la cola.

La información fue registrada en formatos preparados según los lineamientos expuestos por la FAO para el seguimiento de los Recursos Zoogenéticos (FAO, 2012). Los datos fueron recolectados e introducidos en Excel versión 2010 de Microsoft Office, y posteriormente exportados para su tratamiento.

### Análisis estadístico

Se calcularon los estadísticos descriptivos simples promedio, desviación típica, valores mínimos y máximos y coeficiente de variación (CV) de las variables zoométricas. Se usó la prueba W de Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad de las variables analizadas. Debido a que algunas variables presentaban distribuciones no normales (Cuadro 1), se procedió al uso del coeficiente  $r_s$  de Spearman como alternativa no paramétrica para el estudio de las correlaciones. En toda la prueba se aplicó

un nivel de confianza del 5%, analizando los datos bajo el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se observan los principales estadísticos descriptivos. Herrera *et al.* (1996) señalan que si una variable, en la población estudiada, presenta un CV inferior al 4% se considera “de escasa variabilidad”, presentando así una gran homogeneidad. Prosiguen diciendo que “si el coeficiente de variación está entre el 5 y 9% indica un grado de uniformidad medio” y “si supera el 10% ya se debe pensar en una elevada variabilidad en el contexto de la muestra estudiada” y por extensión de la raza a la que

pertenecen. Es así como de los CV obtenidos se deduce un grado de homogeneidad alto a medio para casi todas las variables estudiadas. Observando pocas variables zoométricas con CV inferiores al 4% (ALC, LCA, ALNG y ANC), lo que indica que existe cierto grado de variabilidad en estos animales, no obstante, hay que tener en cuenta que la mayor parte de los valores (todos excepto PC y LCR) de este estadístico estaban por debajo del 10%, una población puede presentar bastante uniformidad en el estudio cuantitativo de sus variables, como es el caso estudiado, con coeficientes de variación aceptables. Ninguna de las variables presentó correlaciones con signo negativo.

Los resultados del análisis de los coeficientes de correlación se muestran en el Cuadro 3. Algunas

Cuadro 1. Resultados del test de Shapiro-Wilk (W) para contrastar la normalidad de las variables analizadas en la muestra estudiada (n=27).

	W	P
<b>PC</b>	0,821	0,000
<b>PT</b>	0,918	0,035
DL	0,986	0,962
DD	0,941	0,131
ALC	0,950	0,218
DB	0,962	0,406
<b>LCA</b>	0,887	0,007
<b>ACA</b>	0,900	0,013
<b>LCR</b>	0,882	0,005
ACR	0,926	0,054
<b>LC</b>	0,877	0,004
<b>AC</b>	0,923	0,047
ALNG	0,976	0,751
LGR	0,980	0,853
AGR	0,959	0,346
ANC	0,926	0,054

Las variables de distribución no normal aparecen en negrita. Véase el texto para la explicación de las variables estudiadas.

Cuadro 2. Principales estadísticos descriptivos obtenidos en la muestra estudiada (n=27).

	Mínimo	Máximo	Promedio	DE	CV (%)
PC	249	448,5	321,2	39,1	12,2
PT	142	172	154,9	7,0	4,5
DL	117	144	131,1	5,5	4,2
DD	55	66	58,8	2,5	4,3
ALC	127	146	134,5	5,1	3,8
DB	34	48	40,1	3,8	9,4
LCA	53	61,1	55,2	1,9	3,4
ACA	16,5	23	19,3	1,4	7,2
LCR	15	27	23,5	2,7	11,7
ACR	18	25	21,1	1,3	6,4
LC	26	38	33,5	2,3	6,8
AC	16	21	18,3	1,1	6,0
ALNG	125,5	147	135,4	4,8	3,6
LGR	38	51	43,6	3,0	6,8
AGR	38	47	42,9	2,1	4,9
ANC	103	127	117,1	4,5	3,9

Véase el texto para la explicación de las variables estudiadas. DE: desviación estándar.

CV: coeficiente de variación. Los valores lineales expresados en cm.

correlaciones obtenidas difieren de otros trabajos. Así, por ejemplo, ALNG presentó una correlación fuerte y positiva con ALC ( $r_s=0,703$ ), lo que difiere de la reportada para caballos ponis en Portugal donde se obtuvo un  $r_s < 0,30$  (Miranda *et al.*, 2012). Fuentes *et al.* (1987) mencionan que las variables de alzada conllevan a que animales muestren cabezas de mayor tamaño, lo que contradice los datos de este estudio puesto que LCA presentó una correlación baja con ALC ( $r_s=0,159$ ) y ALNG ( $r_s=0,099$ ), igualmente el ACA con ALC ( $r_s=0,126$ ) y con ALNG ( $r_s=0,189$ ).

De acuerdo con Parés (2009), una raza responde a un modelo armónico si todas las variables están significativamente correlacionadas; cuando el número de correlaciones significativas entre las diversas variables ronda el 50%, responde a un modelo medianamente armónico de manera que,

al observar un 25% de variables correlacionadas, estaremos en presencia de un modelo poco armónico. Los estudios morfoestructurales realizados en el caballo Andalúz reportan que todas las alzadas se correlacionan entre sí con las longitudes, diámetros y perímetros, y que el diámetro longitudinal y el dorso esternal presentan el mismo comportamiento y el bicostal correlaciones muy irregulares; además, los perímetros de las extremidades guardan correlación estrecha con las alzadas, la longitud y el PT (Aparicio *et al.*, 1986). En el caso del caballo Araucano únicamente 36 de las 134 correlaciones fueron estadísticamente significativas (26,9%), lo que manifiesta un modelo poco armónico, esto ocurre en algunas variables de especial interés funcional (DB, ALNG y LGR).

Cuadro 3. Matriz de los coeficientes de correlación (diagonal inferior) de Spearman entre medidas zoométricas en la muestra estudiada (n=27).

	PC	PT	DL	DD	ALC	DB	LCA	ACA	LCR	ACR	LC	AC	ALNG	LGR	AGR	ANC
PC	0,000	0,007	0,000	0,000	0,001	0,437	0,641	0,194	0,077	0,645	0,225	0,093	0,001	0,524	0,007	0,001
PT	<b>0,928*</b>	0,003	0,001	0,000	0,404	0,474	0,266	0,038	0,778	0,086	0,047	0,002	0,986	0,005	0,018	0,018
DL	<b>0,510*</b>	<b>0,552*</b>	0,021	0,021	0,596	0,222	0,376	0,484	0,378	0,244	0,741	0,003	0,496	0,002	0,006	0,006
DD	<b>0,679*</b>	<b>0,613*</b>	<b>0,441*</b>	0,000	0,625	0,285	0,300	0,797	0,697	0,162	0,233	0,000	0,294	0,034	0,001	0,001
ALC	<b>0,608*</b>	<b>0,652*</b>	<b>0,443*</b>	<b>0,660*</b>	0,164	0,428	0,531	0,147	0,863	0,053	0,404	0,000	0,916	0,032	0,006	0,006
DB	0,156	0,168	0,107	0,098	0,276	0,191	0,162	0,007	0,175	0,962	0,942	0,585	0,681	0,059	0,692	0,692
LCA	0,094	0,144	0,243	0,214	0,159	0,260	0,441	0,450	0,475	0,092	0,227	0,622	0,218	0,018	0,487	0,487
ACA	0,258	0,222	-0,177	0,207	0,126	0,277	0,155	0,431	0,021	0,930	0,010	0,344	0,411	0,439	0,273	0,273
LCR	0,346	<b>0,402*</b>	0,141	-0,052	0,287	<b>0,507</b>	0,152	0,158	0,759	0,432	0,756	0,604	0,862	0,032	0,316	0,316
ACR	-0,093	-0,057	-0,177	-0,078	0,035	0,269	0,144	<b>0,441*</b>	0,062	0,927	0,071	0,681	0,426	0,429	0,748	0,748
LC	0,241	0,337	0,232	0,277	0,377	0,010	0,331	0,018	0,158	-0,018	0,498	0,086	0,755	0,037	0,170	0,170
AC	0,330	<b>0,385*</b>	-0,067	0,237	0,167	0,015	0,241	<b>0,488*</b>	0,063	0,353	0,136	0,461	0,599	0,738	0,993	0,993
ALNG	<b>0,614*</b>	<b>0,580*</b>	<b>0,552*</b>	<b>0,642*</b>	<b>0,703*</b>	0,110	0,099	0,189	0,104	0,083	0,336	0,148	0,917	0,059	0,000	0,000
LGR	0,128	-0,004	-0,137	0,210	0,021	-0,083	0,245	-0,165	0,035	-0,160	0,063	0,106	-0,021	0,714	0,453	0,453
AGR	<b>0,505*</b>	<b>0,523*</b>	<b>0,577*</b>	<b>0,409*</b>	<b>0,413*</b>	<b>0,367*</b>	<b>0,451*</b>	-0,156	<b>0,413*</b>	-0,159	<b>0,404*</b>	0,068	0,368	-0,074	0,025	0,025
ANC	<b>0,611*</b>	<b>0,453*</b>	<b>0,517*</b>	<b>0,603*</b>	<b>0,512*</b>	0,080	0,140	0,219	0,201	-0,065	0,272	0,002	<b>0,738</b>	0,151	<b>0,431*</b>	<b>0,431*</b>

Los valores con asterisco superior indican correlaciones estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Véase el texto para la explicación de las variables estudiadas. En la diagonal superior aparecen los valores  $P$ .

## CONCLUSIONES

En resumen, los resultados obtenidos muestran que a una uniformidad en general elevada en las variables estudiadas se une una armonía poco marcada. Los coeficientes de variación fueron aceptables y algunas correlaciones fueron fuertes y positivas difiriendo a la reportada para otros caballos. La insuficiente armonicidad se dio en algunas variables de interés funcional.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Comité Nacional de Investigaciones (CONADI) de la Universidad Cooperativa de Colombia por el financiamiento de esta investigación; a los productores por facilitar los animales; y a los estudiantes integrantes del Semillero de Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Colombia, por su dedicación al trabajo de campo.

## LITERATURA CITADA

- Aparicio, G. 1960. Exterior de los grandes animales domésticos (Morfología externa e identificación animal). Imprenta Moderna. Córdoba.
- Aparicio, J. B., J. del Castillo y M. Herrera. 1986. Características estructurales del caballo español. Tipo Andaluz. CSIC, Madrid. 110 p.
- Avellanet, R. 2006. Conservación de Recursos Genéticos ovinos en la Raza Xisqueta: Caracterización estructural, racial, y gestión de la diversidad en programas "in situ". Tesis Ph.D., Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Barón, M. 1888. Méthodes de reproduction zootechnie. Ed. Didot. París.
- Canelón, J. 2005. Características fenotípicas del caballo criollo. Observaciones en el Estado Apure. Arch. Zootec., 54:217-220.
- Castejón y Martínez de Arizala R. 1948. Etnografía. Significación del aloidismo. Zootecnia 8-9 (19-26) pp. 51-62.
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura). 1992. Review of past and present activities and prospects for the future. The management of global animal genetic resource. FAO Animal production and health paper 104. Disponible en línea: <http://www.fao.org/docrep/006/t0665e/T0665E02.htm> [Dic. 18, 2014].
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura, Roma). 1996. Boletín trimestral de estadísticas 10 (1 y 2).
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura). 1998. Razones que justifican la conservación de los animales domésticos. Disponible en línea: <http://www.fao.org/NEWS/1998/PDF/DADIS-s.PDF> [Dic. 20, 2014].
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura, Roma). 2012. Realización de encuestas y seguimiento de los Recursos Zoogenéticos. Producción y Sanidad Animal 7.
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura, Roma). 2015. The second report on the state of the world's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture.
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura). 2016. La diversidad genética del ganado, clave para alimentar un planeta más caliente e inhóspito. Disponible en línea: <http://www.fao.org/news/story/es/item/380842/icode/> [Feb. 25, 2016].
- Fernández, G. 2000. Situación de los recursos genéticos domésticos locales del Uruguay. Arch. Zootec., 49 p.
- Fuentes, F., M. Herrera, J. Aparicio y G. Abascal. 1987. Morfoestructura del caballo árabe en España. Arch. Zootec., 36 (136):1-14.
- González, A. M. 2007. Caracterización de las razas bovinas berrendas en el área de Despeñaperros como base para su conservación. Tesis Ph.D., Universidad Córdoba, Córdoba, España.
- Hammer, Ø., D. Harper and P. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package

- for Education and data Analysis. Disponible en línea: <http://palaeo-electronica.org>: [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm) [Feb. 15, 2015].
- Henson, E. L. 1992. The Need for Conservation. In situ conservation of livestock and poultry. FAO Animal Production and Health Paper 99. Disponible en línea: <http://www.fao.org/docrep/004/t0559e/T0559E03.htm> [Dic. 18, 2014].
- Herrera, M. 2000. Un método para la valoración del modelo morfoestructural: Aplicación a las razas caninas españolas. **En:** Reunión de Jueves Internacionales de razas caninas. Alicante, España.
- Herrera, M., E. Rodero, M. J. Gutiérrez, F. Peña and J. M. Rodero. 1996. Application of multifactorial discriminant analysis in the morphostructural differentiation of Andalusian caprine breeds. *Small Rum. Res.*, 22:39-47.
- Hunton, P. 1984. Selection limits: have they been reached in the poultry industry? *Canadian J. Anim. Sci.*, 64:217-221.
- IDEAM. (Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales). 2000. Clima: Climatografía de las principales ciudades. Disponible en línea: <http://bart.ideam.gov.co/cliciu/arauca/arauca.htm> [Ene. 14, 2015].
- Infante, J. N. 2011. Caracterización y gestión de los Recursos Genéticos de la población equina de carne del Pirineo Catalán (Cavall Pirinenc Català): interrelación con otras razas cárnicas españolas. Tesis Ph. D., Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Kennedy, B. N. 1984. Selection limits: have they been reached with the dairy cows? *Canadian J. Anim. Sci.*, 64:207-205.
- Lerner, I. M. y H. P. Donald. 1969. La nueva Zootecnia. Edit. Academia. León.
- Miranda, J. M., S. Gamboa, P. P Bravo e F. Delgado. 2012. Estudo da variabilidade biométrica do cavalo garrano em diferentes condições ambientais. **En:** VIII Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animais. Évora - Portugal. 98 p.
- Parés, P. M. 2009. Zoometría. **En:** Valoración morfológica de los animales domésticos. Sociedad Española de Zooetnólogos. pp. 171-196.
- Peña, F., M. Gómez, E. Bartolomé y M. Valera. 2009. Valoración morfológica en équidos. **En:** Valoración morfológica de los animales domésticos. Sociedad Española de Zooetnólogos. pp. 203-228.
- Salamanca, A. y L. E. Rodríguez. 2014. Los Recursos Zoogenéticos y el desarrollo sostenible en sabanas inundables de Arauca (Colombia). Disponible en línea: [http://www.produccionbovina.com/genetica\\_seleccion\\_cruzamientos/genetica\\_general/31-Recursos\\_Zoogeneticos.pdf](http://www.produccionbovina.com/genetica_seleccion_cruzamientos/genetica_general/31-Recursos_Zoogeneticos.pdf) [Ene. 13, 2015].
- Sandoval, F. 2003. Estudio morfológico-morfométrico del caballo criollo colombiano de los llanos orientales. **En:** IV Simposio Iberoamericano sobre conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Recife, Brasil.
- Scherf, I. 1997. Lista mundial de vigilancia para la diversidad de los animales domésticos. FAO, UNEP, Roma.
- Sierra, V., H. Ávila, O. Ortiz y C. Marrufo. 2003. Avances del programa de conservación genética de una raza en peligro de extinción. **En:** IV Simposio Iberoamericano sobre conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Recife, Brasil.
- Simon, D. 1984. Conservation of Animal Genetic Resources. A review. *Livestock Production Sci.*, 11:23-26.
- Sotillo, J. L. y V. Serrano. 1985. Producción animal. Etnología zootecnia. Artes Gráficas Flores, Albacete, España.

## Composición de tallas e índice de condición de la almeja estuarina en Curarire, Estado Zulia, Venezuela

### Condition index and size of the estuarine clam at Curarire, Zulia State, Venezuela

Randi J. Guerrero-Rios<sup>1\*</sup>, Nancy T. Hernández<sup>2</sup>, Nínive Espinoza-Rodríguez<sup>3</sup>, Héctor Barrios-Garrido<sup>3,4</sup>, Marynes Montiel<sup>5</sup> y Félix Morales<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Laboratorio de Evaluación de Recursos Pesqueros, Maracaibo, Venezuela. Correo electrónico: randyguerrero@gmail.com. <sup>2</sup>Universidad del Zulia, Departamento de Agronomía, Laboratorio de Ecología, <sup>3</sup>Universidad del Zulia, Departamento de Biología, Laboratorio de Ecología General. <sup>4</sup>University Townsville, College of Marine & Environmental Sciences, Australia. <sup>5</sup>Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ciencias de la Vida, Guayaquil, Ecuador.

#### RESUMEN

Las pesquerías artesanales del Sistema de Maracaibo juegan un papel importante en el uso de los recursos acuáticos por parte de las comunidades costeras de la región. Sin embargo, estas carecen de estudios que evalúen su aprovechamiento y posible sostenibilidad. Por tal motivo, se llevó a cabo un estudio sobre la pesquería de la almeja *Rangia cuneata*; el cual consistió en la evaluación del índice de condición (IC), la composición de tallas, morfotipos y la relación talla/peso en los bancos adyacentes al asentamiento pesquero del Curarire. Los muestreos se realizaron mensualmente durante 7 meses, empleando la técnica usada por los pescadores, esta consistió en coleccionar las almejas con la mano desnuda directamente del bentos. Se cuantificaron un total de 1.120 organismos, con un rango de tallas de 10 a 55 mm. El análisis de la distribución de tallas sugieren una constante renovación de la población, coincidiendo con el ciclo reproductivo continuo para *R. cuneata* en ambientes tropicales. El intervalo 30-35 mm dominó la distribución de tallas con el mayor IC. El mayor rendimiento (talla/peso) se observó para el morfotipo de almejas de concha fina, llegando su rendimiento hasta 15,22% en el mes de diciembre. Se evidenció una asociación estadísticamente significativa entre la talla y el peso, con un ajuste del 69,79% para el modelo potencial. La explotación pesquera y las condiciones ambientales han condicionado la talla media de la población, mientras que el índice de condición se vio afectado por los morfotipos.

**Palabras clave:** Molusco bivalvo, *Rangia cuneata* (Sowerbym 1831), relación talla-peso, rendimiento cárnico, Sistema de Maracaibo.

#### ABSTRACT

The artisanal fisheries in Maracaibo System play an important role in the use of aquatic resources by coastal communities in the region. However, they lack of studies evaluating its exploitation and potential sustainability. We conducted a study on the clam *Rangia cuneata* fishery; which consisted of the evaluation of condition index (IC), size composition, morph type and size/weight from the banks adjacent to the fishing settlement of Curarire. Samples were taken monthly along 7 months, using a technique similar to the used by zone fishermen, which is to collect the clams by his bare hand directly from the sediment. A total of 1,120 organisms, with a size range of 10 to 55mm. The results suggest a constant renewal of the population, coinciding with the continuous reproductive cycle for *R. cuneata* in tropical environments. The interval 30-35mm dominated the distribution of sizes, with the largest IC. The highest yield (height / weight) was observed for the morphotype of thin shelled clams, reaching its yield up to 15.22% in December. It was evidenced a statistically significant association between in the size and weight, with an adjustment of 69.79% for the potential model. The fisheries exploitation and environmental conditions has conditioned the average size of the population, while the condition index was affected by the morphotypes.

**Key Words:** Bivalve mollusc, *Rangia cuneata* (Sowerbym 1831), length-weight relationship, meat yield, Maracaibo system.

Recibido: 23/02/15    Aprobado: 25/10/16

## INTRODUCCIÓN

Las costas venezolanas se caracterizan por su alta diversidad de organismos acuáticos, convirtiéndolas en un país con una importante producción pesquera (FAO, 2009). Pese al potencial pesquero que posee Venezuela la explotación comercial de muchos de sus recursos carecen de regulación y estudios apropiados que permitan el aprovechamiento de las pesquerías a pequeña escala, como es el caso de las pesquerías de almejas en el occidente del país. Los moluscos bivalvos son de gran importancia ecológica y económica en las áreas costeras a nivel mundial, constituyendo una fuente importante de proteína, minerales y vitaminas esenciales de alto valor biológico para la población humana (Ruiz y Ruffini 1981; Fonseca *et al.*, 2011).

En las costas del sistema de Maracaibo se ha reportado a la almeja *Rangia cuneata* como una especie invasiva, introducida posiblemente por aguas de lastre (Pérez *et al.*, 2007). En los últimos años se ha observado la explotación artesanal de esta almeja en diversas zonas del sistema de Maracaibo; entre las que destacan: Laguna de Sinamaica, Gran Eneal (municipio Guajira), Playa Nazareth (municipio Mara) y especialmente Curarire (municipio La Cañada de Urdaneta); ubicado al noroeste del Lago de Maracaibo (Severeyn y Rodríguez, 2000; Rojas *et al.*, 2005; Ferrer, 2007).

En la costa de Curarire se han realizado estudios de dinámica poblacional (Espinoza *et al.*, 2011) que han permitido evaluar los diferentes morfotipos de *R. cuneata*, presentando diferencias en sus valvas, morfotipos con valvas más gruesas y pesadas y otros con valvas más delgadas y livianas (Shuhaibar, 2007) sin embargo, se desconocen aspectos fundamentales que permitan el máximo aprovechamiento de este recurso pesquero que se comercializa a nivel nacional.

Uno de los aspectos más importantes que se debe determinar para el aprovechamiento de los moluscos bivalvos es el rendimiento de la carne con respecto al peso total del organismo, mejor conocido como índice de condición (IC) o índice de engorde, el cual permite inferir la calidad comercial y el estado fisiológico de los moluscos bivalvos (Rivas, 2012). El IC se utiliza para recabar información de importancia comercial y

biológica; esta alternativa se emplea para inferir una mayor información biológica de estadísticas pesqueras en los recursos comerciales y permite conocer cómo responde el organismo a las variaciones del ambiente (Vásquez *et al.*, 2015).

El IC representa la cantidad relativa de tejidos blandos en los bivalvos, por lo que está influenciado por factores intrínsecos como el peso gonádico, crecimiento del tejido somático y de los músculos aductores (Gutiérrez y Otsu, 1975); por lo que el IC varía de acuerdo a los meses, a las condiciones ambientales que afectan la actividad reproductiva y a la relación producción/biomasa (Malavé y Prieto, 2005). Este índice ha sido utilizado en algunas especies de mitílidos para estimar el valor del organismo para su explotación y consumo, siendo por lo general proporcionales con la talla (Arrieche *et al.*, 2002).

Otro parámetro que se toma en cuenta para estudios de poblaciones de interés comercial es el tamaño de los individuos. La distribución de tallas de los individuos que componen una población es indicativa del estado de explotación en la que se encuentra, así como la regeneración de la población (Sparre y Venema, 1995). La estimación del peso o longitud de especies de importancia pesquera son fundamentales para comprender la dinámica de la población y, por lo tanto, para el manejo de dicha población al estar sometida a explotación pesquera. Estos parámetros proporcionan datos importantes para establecer la gestión de la pesquería de una especie dada.

Por lo antes descrito, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la composición de tallas e índice de condición de la almeja estuarina *R. cuneata* (Sowerbym 1831) en Curarire, Estado Zulia, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La población de moluscos bivalvos estudiada se encuentra en las costas de Curarire del municipio La Cañada de Urdaneta pertenecientes a la región occidental del Lago de Maracaibo (Figura 1). La principal fuente de ingreso en la zona es la pesca artesanal a pequeña escala de tres organismos: cangrejo azul (*Callinectes sapidus*), camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*) y las almejas (*Rangia cuneata* y *Polymesoda solida*).

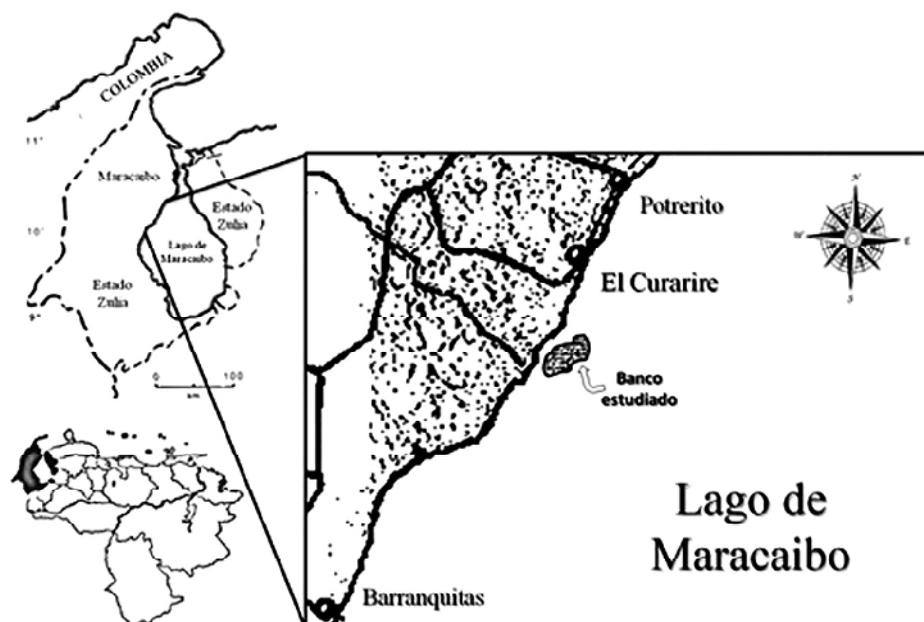


Figura 1. Área de estudio.

La toma de las muestras se realizó durante los meses de junio a diciembre, para ello se establecieron 3 puntos de muestreos ubicados entre Punta Palmas (10°26,5'N; 71°37,5'O) hasta la desembocadura del río Guaco (09°48'N; 72°07'O); los puntos de muestreos fueron escogidos como los usados por los pescadores para la extracción de las almejas. Del mismo modo, los ejemplares fueron colectados de forma manual, de manera similar a la extracción realizada por los pescadores; posteriormente fueron guardados en bolsas con cierre hermético, rotulados con los datos correspondientes al muestreo y trasladadas al laboratorio.

Las medidas fueron tomadas a lo largo del eje anteroposterior mediante el uso de un vernier digital Mitutoyo®. Se elaboraron distribuciones de frecuencia de tallas conformadas por 9 rangos de tallas con un intervalo de clase de 5mm, iniciando desde 10-15mm hasta 50-55mm. Debido a que *R. cuneata* presenta dos morfotípos, el rendimiento fue analizado por separado. Para determinar el rendimiento de ambos morfotípos se tomó el peso en fresco de la carne y la concha de cada organismo mediante el método descrito por Cabrera *et al.* (2001).

$$IC = \frac{Pfc}{Pv} \times 100$$

Donde:

*Pfc* = Peso fresco de la carne

*Pv* = Peso de la valva.

Con ayuda del software Statgraphics Centurión XVI se determinó mensualmente la variación en los índices de condición para la población en general, mediante pruebas de varianza no paramétricas (Kruskal-Wallis), debido al no cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

Se utilizó el modelo de regresión potencial  $P=aL^b$  para determinar la existencia de la asociación entre la longitud anteroposterior de la concha y peso total del organismo. Donde P es el peso total del organismo en gramos, L es la longitud anteroposterior de la concha, a y b son constantes del modelo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La talla máxima registrada fue 59,60mm y la menor fue 11,24mm. El mayor número de organismos estuvieron comprendidos entre 30-35mm y 35-40mm; la media obtenida fue de  $38,58 \pm 7,05$ mm. Estos resultados se encuentran ligeramente por debajo a las tallas reportadas por Espinoza *et al.* (2011). Por otro lado, la talla promedio estimada estuvo por encima de la talla mínima de madurez sexual, la cual está comprendida entre 11 y 12mm (Ferrer, 2007).

Las tallas menores fueron observadas en los meses de julio y septiembre; sin embargo, se presentaron organismos de tamaño pequeño durante todo el estudio; es decir, el intervalo 15-20mm estuvo representado en la mayoría de los meses estudiados (Figura 2). Esto coincide con el ciclo reproductivo continuo planteado por Ferrer, (2007) y Espinoza *et al.* (2011), lo que sugiere que la población estudiada presenta una constante renovación por el reclutamiento de nuevos organismos, posiblemente debido a las condiciones ambientales de los ecosistemas tropicales, las cuales favorecen el desove continuo de los bivalvos y otros organismos

acuáticos (Prieto *et al.*, 1999; Cabrera *et al.*, 2001).

Durante los meses de agosto, septiembre y diciembre se observaron los individuos con mayores tallas, aunque la frecuencia de los intervalos superiores fue escasa; esto puede deberse a la explotación de los pescadores sobre los parches estudiados (De La Hoz, 2010). Las tallas máximas encontradas para la población de *R. cuneata* en las costas de Curarire, son inferiores a las reportadas para el género, por La Salle y De La Cruz (1985) en Louisiana y Carolina, las cuales son de 73,6mm y 99mm respectivamente.

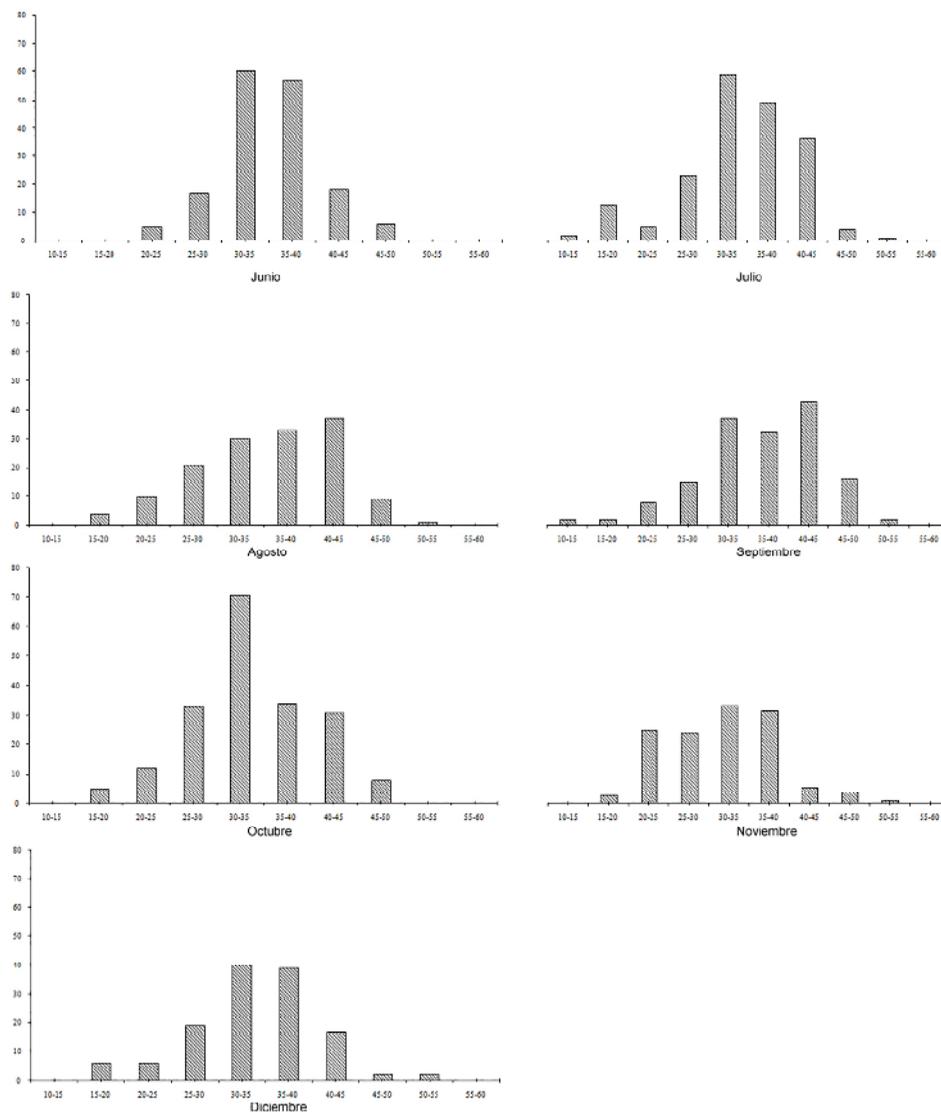


Figura 2. Frecuencia de tallas de la almeja *R. cuneata* en las costas de Curarire en cada mes de muestreo.

La menor talla observada en especies tropicales, podría deberse a la presencia de un ciclo reproductivo continuo, lo que demanda mayor energía reproductiva, ocasionando una muerte temprana en las poblaciones de bivalvos tropicales, a diferencia de las poblaciones con estacionalidades marcadas (Severeyn *et al.*, 1996; García *et al.*, 2003; Prieto *et al.*, 2009); otra causa probable del menor tamaño encontrado en el presente estudio, es la explotación continua a la que está sometida la especie por parte de los pobladores de la zona, la cual sería la causa de mayor influencia sobre la distribución de tallas.

En las costas de Curarire y a lo largo del sistema de Maracaibo existen numerosas fuentes de contaminación (Espinoza *et al.*, 2011); constantes derrames petroleros, descargas de aguas servidas, desechos domésticos e industriales, la actividad pesquera indiscriminada, y la actividad turística, afectan negativamente los bancos de almejas, exponiéndolas a factores estresantes que pueden provocar una muerte temprana de los individuos que componen estas poblaciones (Rojas *et al.*, 2012).

A partir de la evaluación de las características de grosor y peso de las valvas, se apreció la presencia de dos morfotipos de *R. cuneata*, uno de concha gruesa y pesada y el otro de concha fina y liviana. Los resultados de la evaluación del rendimiento por morfotipo, indican que los organismos de concha gruesa y pesada presentan el menor rendimiento, donde 5% del peso corresponde a la carne y el 95% corresponde a la concha; mientras que las almejas de concha fina presentaron mayor rendimiento; el 12% de su peso corresponde a la carne y el 88% a la concha estimando un IC promedio de 10,95% para la población en general, con un mínimo de 2,00% y un máximo de 27,72%. El análisis estadístico muestra diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre las medias del IC de ambos morfotipos (Cuadro 1).

El bajo rendimiento de las almejas de concha gruesa es causado por el peso de sus valvas y a un menor volumen intervalvar en estos ejemplares. Esto impide un mayor desarrollo de los tejidos somáticos y músculos aductores, comparado con las almejas de concha fina, las cuales presentan un mayor espacio intervalvar. La disminución del IC por la reducción del volumen intervalvar ha sido documentada por otros autores con diferentes especies de almejas (Cabrera *et al.*, 2001 y De La Hoz, 2010). A pesar de la diferencia del rendimiento según el morfotipo, no hay ninguna preferencia por parte de los pescadores al momento de la extracción.

Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con lo reportado en estudios previos para otras poblaciones de bivalvos en condiciones de explotación, podemos observar que el IC es similar; tal es el caso de los mejillones *Perna perna* con un IC de 15% a 30%, y *Perna viridis* entre 11% a 22% (Rivas, 2012), el de *Tagelus peruvianus* oscila entre 13% a 27% (Fonseca *et al.*, 2011), mientras que *Arca zebra* mostró un rendimiento máximo de 14,21% (Lista *et al.*, 2014). En el caso de la ostra *Pinctada imbricata* se observaron valores de 3,93% a 16,35% (Vásquez *et al.*, 2015), mientras que la almeja *Tivela mactroides* mostró un rendimiento de 23,8% (Arrieche y Prieto, 2006); por último, se han reportado valores de 13,47% a 17,41% para *Polymesoda solida* (De La Hoz, 2010).

En un estudio previo realizado por Espinoza *et al.* (2011), se reportó un valor máximo de IC para *Rangia cuneata* de 8,04%. Este porcentaje es inferior al IC obtenido en la presente investigación. Esta diferencia puede deberse al empleo por parte del autor, de una metodología basada en el peso seco a diferencia de la utilizada en el presente estudio, la cual se basó en el peso húmedo.

Cuadro 1. Pruebas de Múltiple Rangos para IC por morfotipo

Morfotipo	Casos	Media	Grupos homogéneos
Gruesa-Pesada	464	5,47	X
Fina-liviana	653	15,30	.....X

Método: 95,0 porcentaje Bonferroni

El rendimiento presentó fluctuaciones a lo largo del estudio. El análisis de varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis) mostró diferencias del rendimiento ( $P < 0,05$ ) entre los meses estudiados (Figura 3). La prueba de Post Hoc de Bonferroni reveló el IC más bajo durante el mes junio, mientras que durante el mes de noviembre se presentó el mayor rendimiento, sin diferencias para el resto de los meses (Cuadro 2).

Estas fluctuaciones observadas se deben al porcentaje de organismos con concha gruesa o fina que se extrajeron al momento de la toma de muestras (Cuadro 3), sin embargo, el incremento progresivo observado hasta el mes de agosto podría deberse a un aumento del tejido gonadal de acuerdo a lo planteado por Ferrer (2007), quien señala que en agosto y noviembre ocurre un aumento de emisión de gametos en un 73% y 83% respectivamente; este máximo desarrollo

gonadal promueve un mayor peso de la carne. Así mismo, el descenso observado en los meses posteriores a agosto podría deberse a la disminución de las gónadas por la expulsión de gametos (Lista *et al.*, 2014).

A diferencia del estudio realizado por Espinoza *et al.* (2011) en este trabajo se evidenció una diferencia estadísticamente significativa del rendimiento mensual del recurso. Esta variación tal vez se deba a las diferencias en la recolección de datos entre ambos estudios. La prueba de Bonferroni confirma además la similitud encontrada con el rendimiento de *Rangia cuneata* y el ciclo reproductivo planteado por Ferrer (2007).

Al evaluar la relación talla-peso de la población de almejas estudiada se obtuvo el siguiente modelo potencial,  $P = 0,0005L^{2,96}$ , el cual explica

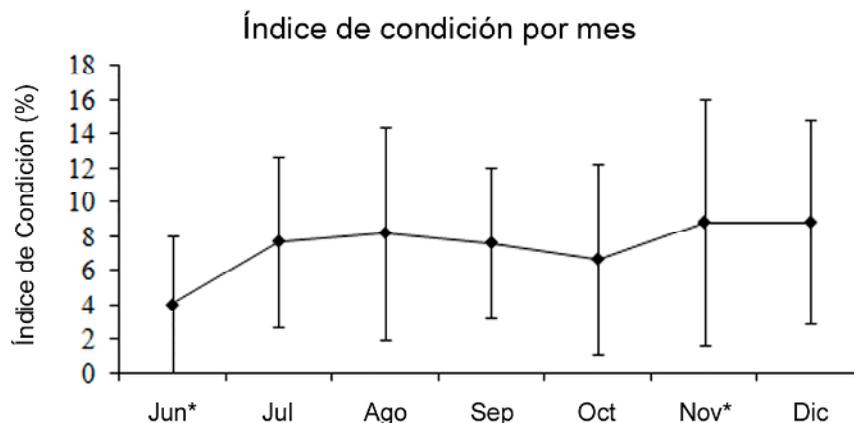


Figura 3. Índice de condición de *R. cuneata* en las costas de Curarire durante los meses de estudio. (\*) Meses donde el IC fue estadísticamente diferente ( $P < 0,05$ ).

Cuadro 2. Pruebas de Múltiple Rangos para IC por Mes

Mes	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Jun.	163	8,72	X.....
Jul.	192	9,93	XX...
Sep.	167	10,92	XXX
Oct.	200	11,27	XXX
Ago.	152	11,95	XXX
Dic.	135	13,68	...XX
Nov.	139	15,22	.....X

Método: 95,0 porcentaje Bonferroni

el 69,79% de la asociación entre las variables, con un coeficiente de correlación de 0,835 y un valor de  $P=0,00$ ; indicando la existencia de una relación estadísticamente significativa entre el peso y la talla, con un nivel de confianza del 95,0%. La evaluación del crecimiento de los individuos de la población, muestra dos tendencias, las cuales corresponden a los diferentes morfotipos. La fracción de la población que posee concha gruesa tiende a alcanzar mayor tamaño y posee mayor peso, a diferencia de los individuos de concha liviana, los cuales poseen menor tamaño y peso (Figura 4).

Esta relación talla-peso influye sobre IC de cada intervalo, donde se observa un aumento progresivo en el rendimiento a medida que aumenta la longitud, hasta llegar al intervalo de

30-35mm, donde alcanza el máximo IC para su posterior descenso hasta el intervalo 45-50mm, llegando este valor muy cercano al intervalo 50-55mm donde su IC tiende acercarse a los valores iniciales (Figura 5).

La disminución del IC en intervalos de tallas superiores, ocurre generalmente en todas las especies de bivalvos con biso, como *Mytilus edulis* y *Arca zebra* (Prieto *et al.*, 1999), igualmente este fenómeno se observa en organismos con crecimiento apiñado como el caso del Ostión del Pacífico, *Crassostrea gigas* (Gallo-García *et al.*, 2001). Otros estudios realizados con *Polymesoda solida* en el Caribe colombiano en tres ciénagas (El Toro, Poza Verde y Atascosa) reportaron que el IC fue en aumento a medida que los organismos iban creciendo hasta llegar

Cuadro 3. Variación mensual de los morfotipos

Morfotipo	Meses de estudio								Total
	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre		
Fina (%)	46,6	53,1	51,4	50,9	51,0	62,4	68,7	54,2	
Gruesa (%)	53,4	46,9	48,6	49,1	49,0	37,6	31,3	45,78	

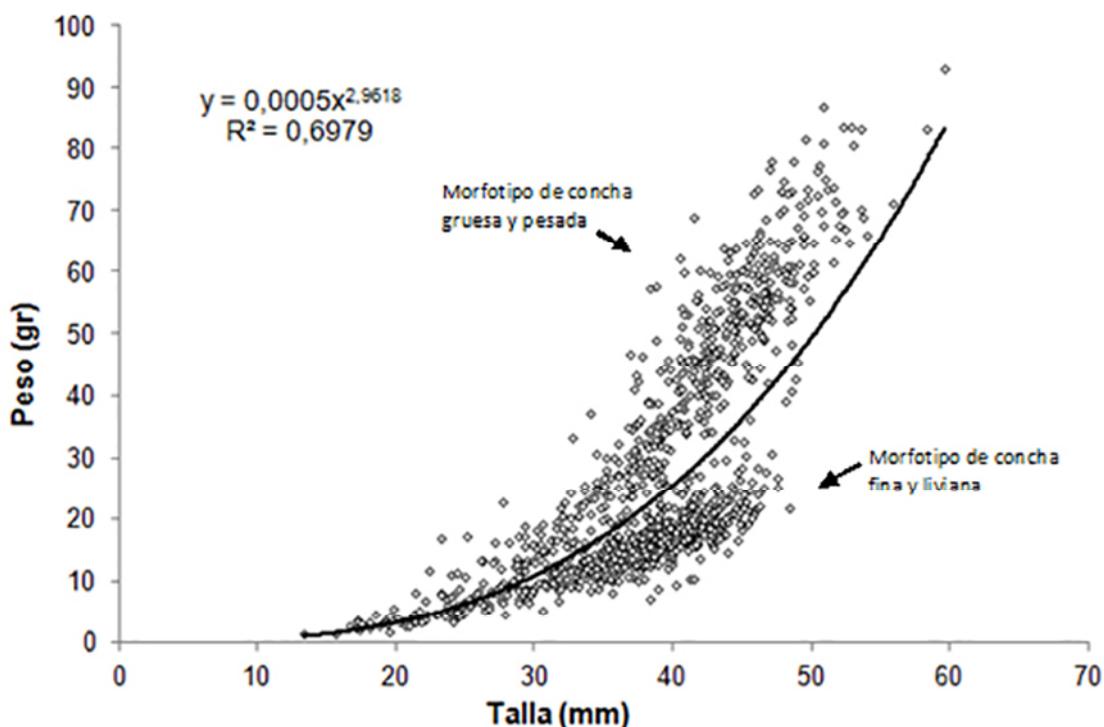


Figura 4. Modelo ajustado de la relación talla-peso de *R. cuneata* en las costas de Curarire.

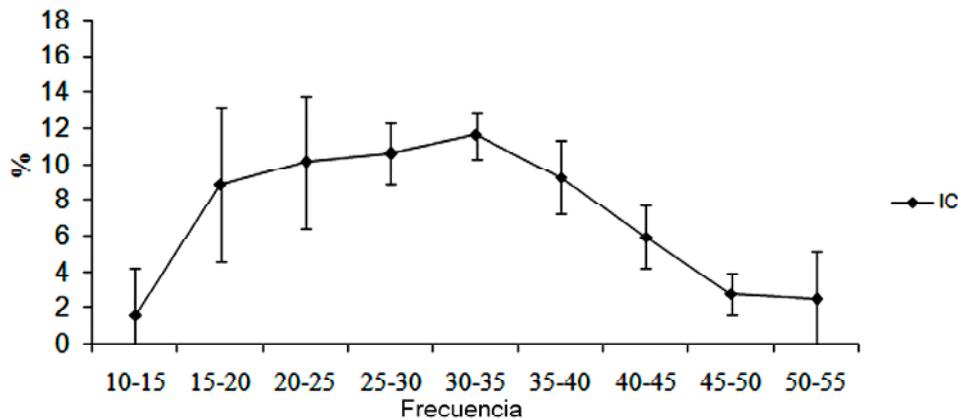


Figura 5. Índice de condición por intervalos de talla de *R. cuneata* en las costas de Curarire.

al intervalo 27-33mm, posterior a este intervalo comenzó a disminuir el IC (De La Hoz, 2010). Otros estudios en Venezuela sobre el IC de *Polymesoda solida*, han evidenciado que la fase de menor crecimiento es a los 35mm indicando que ha alcanzado su desarrollo total (Alió, 2000).

La reducción del IC en tallas mayores en las almejas, *Polymesoda solida* y *Rangia cuneata*, no parece deberse a una reducción intervalar, ya que estas no tienen biso, ni presentan apiñamiento; se cree que este fenómeno ocurre por la disminución de la relación producción/biomasa, ya que a medida que los bivalvos se tornan más longevos dedican mayor energía para el soporte del metabolismo y menos energía para la producción/biomasa, es decir, un cese en el crecimiento de los tejidos blandos mientras la concha continúa engrosándose y aumentando de peso (Malavé y Prieto 2005; Rojas *et al.*, 2012).

## CONCLUSIONES

La distribución de tallas estuvo principalmente representada por el intervalo 30-35mm, con presencia de pequeñas tallas durante todo el estudio, debido a su ciclo reproductivo continuo. Tallas superiores a 40mm fueron escasas debido a la pesquería artesanal que soporta esta población. Las tallas de la población varían según el morfotipo, siendo los individuos de conchas más gruesas los que alcanzan mayor tamaño y peso.

El índice de condición de esta población presenta variación de acuerdo al morfotipo, siendo los de concha fina mejor aprovechados, similares a otros bivalvos de importancia comercial, a diferencia del morfotipo de concha gruesa. Los meses de mayor aprovechamiento son noviembre y diciembre, y los meses de menor rendimiento son de junio y julio. El índice de condición presentó variación en cuanto a las tallas, obteniendo el mayor rendimiento en el intervalo 30-35mm. Por lo tanto, se recomienda concentrar la pesquería sobre individuos de esta talla y de concha fina para mejor aprovechamiento del recurso.

## LITERATURA CITADA

- Alió, J., 2000. Los recursos vivos del Sistema de Maracaibo. **En:** Rodríguez G. (ed.) El Sistema de Maracaibo. 2da. Ed., IVIC, Caracas, Venezuela, pp. 153-173.
- Arrieché, D., B. Licet, N. García, C. Lodeiros y A. Prieto. 2002. Rendimiento del Mejillón Marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del Morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia* 27(11): 613-619.
- Arrieché, D., A. Prieto. 2006. Parámetros poblacionales del guacuco *Tivela mactroides* (Bivalvia: Venereidae) de playa Caicara, estado Anzoátegui, Venezuela. *Cien. Mar.* 32(2):285-296.
- Cabrera, J., M. Protti, M. Urriola y O. Sáenz. 2001. Crecimiento y madurez sexual de

- una población de *Saccostrea palmula* (Mollusca: Bivalvia), Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 49(3-4): 877-882.
- De La Hoz M. 2010. Condición somática de la almeja *Polymesoda solida* (Veneroidea: Corbiculidae) durante el periodo lluvioso, en el Parque Natural Isla de Salamanca, Caribe colombiano. *Rev. Biol. Trop.*, 58(1): 131-145.
- Espinoza, N., R. Guerrero, H. Barrios-Garrido, F. Morales. 2011. Parámetros poblacionales de la almeja estuarina *Rangia* (Bivalvia: Mactride) en la playa Curarire, estado Zulia, Venezuela. *Revista de la Universidad del Zulia.*, 2(3): 79-98.
- FAO. Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura 2009. Perfiles sobre la pesca y la acuicultura por países: Venezuela. Disponible en línea: [http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP\\_VE/es](http://www.fao.org/fishery/countrysector/FI-CP_VE/es) [Feb. 20, 2015].
- Ferrer, A. 2007. Ciclo reproductor de la almeja *Rangia cuneata* (Sowerby, 1831) (Mollusca: Bivalvia) en la laguna de Gran Eneal, Estado Zulia, Venezuela. Tesis Biol., Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Maracaibo, Venezuela. 71 p.
- Fonseca, C., C. Marín-Vindas, F. Chavarría-Solera, R. A. Cruz y P. Toledo Agüero. 2011. Variación estacional de la composición proximal del mejillón *Tagelus peruvianus* (Bivalvia: Solecurtidae) del Golfo de Nicoya, Puntarenas, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 59 (4): 1517-1523.
- Gallo, M., M. García-Ulloa, D. Godinez, Y. K. Rivera. 2001. Estudio preliminar sobre el crecimiento y sobrevivencia del ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) en Barra de Navidad, Jalisco, México. *Universidad y Ciencia.*, 17 (34): 83-91.
- García, N., A. Prieto, R. Alzola y C. Lodeiros. 2003. Crecimiento y distribución de tallas de *Donax denticulatus* (Mollusca: Donacidae) en Playa Brava, Península de Araya, Estado Sucre, Venezuela. *Rev. Científ. FCV-LUZ.*, 13(6): 464-470.
- Gutiérrez, J. y I. Otsu. 1975. Periodicidad en las variaciones biométricas de *Loxechinus albus* Molina. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 15(2):179-199.
- La Salle M and A. De La Cruz. 1985. Species profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (Gulf of Mexico): Common *Rangia*. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 82 (11.31). US Army Corps of Engineers, TR EL-82-4. 16 p.
- Lista, M., C. Velásquez., A. Prieto., y Longart. 2014. Condición fisiológica de *Arca zebra* por grupos de tallas y su asociación con variables ambientales, en el banco de Chacopata, estado Sucre. *Zootecnia Trop.*, 32(1): 33-43.
- Malavé, My A. Prieto. 2005. Producción de biomasa en el mejillón verde de localidad de la Península de Araya, Venezuela. *Interciencia.*, 30(11): 699-705.
- Pérez, J., C. Alfonsi, S. Salazar, O. Macsotay, J. Barrios y R. M. Escarbassiere. 2007. Especies marinas exóticas y criptogénicas en las costas de Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela.*, 46: 79-96.
- Prieto, A., M. Flores y C. Lodeiros. 1999. Madurez sexual e índice de condición en una población del mejillón de fondo *Modiolus squamosus* (Mollusca, Bivalvia) en Tocuchare, Golfo de Cariaco, Venezuela. *Ecotrópicos.* 12(2): 83-90.
- Prieto, A., D. Arrieché y García. 2009. Aspectos de la dinámica poblacional del mejillón verde *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) en el Morro de Guarapo, Península de Araya, Venezuela. *Interciencia.* 34(3): 202-208.
- Rivas, K. 2012. Capacidad de depuración bacteriana en cuatro especies de moluscos bivalvos de interés en acuicultura. Tesis Biol., Universidad de Oriente, Núcleo Sucre, Cumana, Venezuela. 88 p.
- Rojas, J., J. Rincón, R. Buonocore, P. Ortega y J. Marín. 2012. Contenido de glucógeno e índice de condición de tejido de la almeja estuarina *Polymesoda solida* Phillippi 1846

- del lago de Maracaibo. *Bol.Cen.Invs.Biol.*, 46(4): 385-403.
- Rojas, J., S. Theis, y H. Severeyn. 2005. Distribución y abundancia de *Polymesoda solida* (Philippi, 1846) y *Rangia cuneata* (Sowerby, 1831) en el sistema estuarino del río Limón, Estado Zulia-Venezuela. VI Congreso Venezolano de Ecología, Maracaibo, Venezuela. 357 p.
- Ruiz, M. y E. Ruffini. 1981. Obtención de larvas de bivalvos en condiciones controladas del Laboratorio. Universidad de Oriente. Departamento de Ciencias Marinas 14p.
- Severeyn, H., Morales F., Godoy, A. y Delgado, J. 1996. Dinámica poblacional de la almeja marina *Tivela mactroides* en la playa de Caño Sagua, Edo. Zulia, Venezuela. *Investigaciones Científicas*, 1(2): 27-37.
- Severeyn, H. y G. Rodríguez. 2000. La fauna estuarina: Invertebrados. **En:** Rodríguez G. 2 ed. El Sistema de Maracaibo. IVIC, Caracas, Venezuela. pp. 199-224.
- Shuhaibar, L. 2007. Identificación de las almejas estuarinas del Género *Rangia* presentes en el Sistema del Lago de Maracaibo mediante técnicas moleculares. Trabajo especial de grado. Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Maracaibo, Venezuela. 107 p.
- Statgraphics Centurion XVI (Versión 16.1.03) [software]. (2010). Warrenton, Virginia: Statpoint Technologies, Inc. Obtenido de <http://www.statgraphics.com/centurion-xvi>.
- Sparre, P. y Venema, S. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales, Parte 1. FAO Documento Técnico de Pesca. №. 306.1 Rev. 2: 420 p.
- Vásquez, G., Crescini, R., Villanba, W., Mogollón J. y Troccoli, L. 2015. Aspectos biológicos básicos de *Pinctada imbricata* (Bivalvia Pteriidae) en la laguna de La Restinga, isla de Margarita, Venezuela. *Rev. Mar. Cost.*, 7: 117-132.

## Factores genéticos y no genéticos que afectan los índices productivos y reproductivos de vacas doble propósito en la huasteca veracruzana

### Factors affecting productive and reproductive indices of dual purpose cows in low huasteca veracruzana

Claudio Vite<sup>1</sup>, Rubén Purroy<sup>1\*</sup>, Julio Vilaboa<sup>2</sup>, Víctor Severino<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Tantoyuca, Investigación y Desarrollo Tecnológico (ITSTa) \*Correo electrónico: rubenpurroy2000@gmail.com. <sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Subdirección de Investigación, Postgrado en Agroecosistemas Tropicales, Campus Veracruz. <sup>3</sup>Escuela Maya de Estudios Agropecuarios, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Chiapas.

#### RESUMEN

El objetivo del estudio fue analizar los factores que afectan los índices productivos y reproductivos de vacas doble propósito (DP), para lo cual fueron analizadas 2584 lactancias de 840 vacas de los grupos raciales: ½ Holstein (Hs) x ½ Cebú (C), ½ Pardo Suizo (Ps) x ½ C, ¾ Hs x ¼ C, ¾ Ps x ¼ C, +Hs x C, +Ps x C, Mosaico, +C x Hs y +C x Ps de 11 fincas del GGAVATT-Tepetzintla, en Tepetzintla, Veracruz, México. Las variables fueron: duración de lactancia (DL), producción de leche (PL) por lactancia (PLT), intervalo entre parto (IP), días abiertos (DA), días secos (DS), PL promedio diaria ( $\bar{X}$  DL) y PL promedio por día interparto ( $\bar{X}$  IP). Los datos se analizaron con el procedimiento GLM del STATISTICA® Versión 7,0 mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r), la prueba Tukey ( $\alpha \leq 0,05$ ) y el estadístico Lambda de Wilks. La finca Bella Esperanza presentó intervalos de DL 45%, superior a los observados para La Ahuadilla con 213±65 días, las vacas de 4 partos tuvieron un intervalo de DL más amplio comparativamente con las de 1 a 3 partos; el año más productivo observado fue 2001 con 4941±346 Kg de PLT y 17,36±7,48 Kg de  $\bar{X}$  DL. Estos resultados apuntan hacia el uso del grupo racial ¾ Hs x ¼ C, el cual sustenta la mayor habilidad reproductiva, favoreciendo la PL en los sistemas de producción con ganado bovino DP de la huasteca baja veracruzana.

**Palabras clave:** Productividad y reproductividad, ganado de doble propósito, Bos taurus x Bos indicus.

#### ABSTRACT

The aim of the study was to analyze different factors that affect the productive and reproductive rates of dual purpose cows (DP). 2584 lactations of 840 cows racial groups were analyzed: ½ Holstein (Hs) x ½ Zebu (C), ½ Brown Swiss (Ps) x ½ C, ¾ Hs x ¼ C, ¾ Ps x ¼ C, + Hs x C, + Ps x C, Mosaic, + C x Hs and + C x Ps eleven-Tepetzintla-GGAVATT farms in Tepetzintla, Veracruz, Mexico. The variables were: duration of lactation (DL), milk production (PL) per lactation (PLT), calving interval (IP), open days (DA), dry days (DS), average daily PL ( $\bar{X}$  DL) and calving average per day PL ( $\bar{X}$  IP). Data were analyzed with the GLM procedure of Statistica® Version 7.0 by the Pearson correlation coefficient (r), the Tukey test ( $\alpha \leq 0.05$ ) and statistical Wilks' Lambda. The Bella Esperanza farm presented intervals DL 45% higher than those observed for the Ahuadilla 213±65 days, cows with 4 calvings had an interval DL comparatively broader than the 1 to 3 calvings; the most productive year was 2001 observed with 4941±346 kg of PLT and 17.36±7.48 Kg of  $\bar{X}$  DL. These results point to the use of racial group ¾ Hs x ¼ C which supports the higher reproductive ability, favoring the PL in production systems cattle DP of low Huasteca Veracruzana.

**Key words:** Productivity and reproductivity, dual-purpose cattle, Bos Taurus x Bos indicus.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha presentado un crecimiento exponencial de la población mundial, siendo México un ejemplo claro de esta situación. Considerando que en las últimas dos décadas la población nacional se incrementó de 80 millones de habitantes en 1990 a 119 millones en el 2015 (INEGI, 2015), al relacionar este incremento con el consumo per cápita de carne de bovino en México que para el año 2015 fue de 16 Kg por habitante, se puede inferir que la demanda de este producto ha ocasionado una constante presión sobre los sistemas de producción y el ambiente; es un hecho conocido el incremento de la deforestación en la superficie de bosques para convertirlos en pastizales (INEGI, 2014). Por esta razón, es necesario hacer de la ganadería una actividad más eficiente de manera que permita autoabastecer la demanda de carne y leche de la población, sin que esta situación repercuta gravemente en el medio ambiente.

Estudios realizados por Orantes-Zebadúa *et al.* (2014) y Román-Ponce *et al.* (2013), afirman que la actividad ganadera en el trópico mexicano y en la mayor parte de Latinoamérica se basa principalmente en sistemas de doble propósito (DP). Estos sistemas se caracterizan por una intensificación tecnológica baja, utilización de ganado criollo, cebú y sus cruza con ganado especializado en la producción de leche cuya fuente de alimentación es principalmente el pastoreo (González-Rebeles *et al.*, 2015).

De estos sistemas DP, en el trópico mexicano principalmente (Osorio-Arce *et al.*, 2005), se obtiene la producción de leche (PL). En Latinoamérica la ganadería bovina de DP constituye el sistema productivo que cubre gran parte de la demanda de carne y leche; según Soto-Belloso (2004) la ganadería bovina de DP en Venezuela aporta, a nivel nacional un 90% de la producción de leche y un 45% de la producción de carne. En Colombia, la ganadería bovina de DP aporta el 49,1% de la carne nacional (Mahecha *et al.*, 2009). Mientras que en México, Pérez *et al.* (2003) reportan que la ganadería de DP aporta el 35% de la carne y el 25% de la leche que se consume en el país.

De lo anterior se infiere la importancia de los sistemas ganaderos de DP para Latinoamérica y parte de México; sin embargo, existen diversos

factores que afectan las condiciones productivas y reproductivas de los grupos raciales de ganado DP, tales como manejo tecnológico, características climáticas, mestizajes utilizados y la adaptación de estos últimos a las zonas agroclimáticas (Pino *et al.*, 2009; Murcia y Martínez, 2013; Román-Ponce *et al.*, 2013).

Es importante considerar que en las áreas tropicales de México, la producción en los sistemas DP se basa en la alimentación exclusivamente con pastos, donde la producción de forraje se encuentra estrechamente vinculada al manejo y a las condiciones climáticas dominantes en la zona (Magaña *et al.*, 2006; Palma, 2014). El efecto Clima se manifiesta en una reducción de la cantidad y calidad del forraje, principalmente durante la estación seca. Como consecuencia, los animales reducen el consumo de nutrimentos, lo que influye directamente en la tasa de productividad y reproductividad del rebaño e inexorablemente en la ganancia económica del ganadero (Duarte *et al.*, 1988; Vite-Cristóbal *et al.*, 2007).

Ahora bien, con la finalidad de revertir la situación anterior e incrementar la rentabilidad de la finca, el ganadero debe mejorar las condiciones de manejo productivo y reproductivo mediante la aplicación de prácticas adecuadas que le permita incrementar la producción (carne y leche); igualmente debe elegir los mejores sistemas de cruzamiento genético que propicien la obtención de genotipos adaptados a las condiciones climáticas y edáficas imperantes en las zonas de producción, y que igualmente sean portadores de características de resistencia a enfermedades, a ectoparásitos y endoparásitos que normalmente ocasionan pérdidas económicas cuantiosas en la ganadería tropical.

En relación al genotipo, se ha observado que el cruzamiento más común en el trópico se basa en razas de origen cebuínas con razas europeas como Holstein (Hs) o Pardo Suizo (Ps) para la producción de leche y carne (Hernández *et al.*, 2000); así mismo, el uso de animales F1 ha permitido obtener resultados exitosos en la mayoría de los sistemas de DP mexicanos, debido a las características de precocidad sexual, intervalos entre partos más cortos y mayor producción de leche observadas en estos animales (Becerril *et al.*, 1981).

El sistema de ganadería bovina de doble propósito es el sistema más utilizado en la huasteca baja veracruzana. Adicionalmente, los efectos que ocasionan los diversos factores genéticos y no genéticos en los índices productivos y reproductivos no se conocen con certeza y los estudios al respecto son limitados (Osorio-Arce y Segura-Correa, 2005; Ossa *et al.*, 2007; Pérez y Gómez, 2009), existiendo la necesidad de identificarlos y determinar cuáles son los genotipos que confrontan estos factores debido a que están mejor adaptados a las condiciones ambientales de esta zona.

Por lo planteado en párrafos anteriores, el objetivo de realizar esta investigación fue analizar los factores genéticos y no genéticos que influyen sobre la producción de leche y la actividad reproductiva del ganado bovino de doble propósito existente en la huasteca baja veracruzana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y manejo

El estudio se realizó en el “Grupo de Ganaderos para la Validación y Transferencia de Tecnología” (GGAVATT), utilizando la información proveniente de los registros de 11 explotaciones ganaderas: Cañas 1, Cañas 2, Cañas 3, Cañas 4, Pozo Lagarto, Carrizo Negro, Centenario, Los Tigres, La Ahuadilla, Isla de Víboras y Bella Esperanza del municipio de Tepetzintla, Veracruz. El municipio está ubicado en las coordenadas geográficas LN de 21° 09' 48,58" LO 97° 51' 09,02" con una altitud de 283 msnm, un clima predominante A (w) cálido subhúmedo, temperatura media anual de 22°C y precipitación anual de 1969 mm (García, 1987).

Las tarjetas de registros de producción de todos los datos fueron recolectadas desde el año 1990 hasta el 2008 de las 11 fincas arriba indicadas. Se incluyeron vacas con 1 a 5 o más lactancias, lo que dio un total de 840 vacas y 2584 lactancias completas (considerando como lactancia completa aquella que abarcaba desde el inicio de la producción al momento del parto hasta el secado). La cantidad de tarjetas de registro analizadas de las fincas fue variable, siendo distribuida de la siguiente manera: Cañas 1 (210), Cañas 2 (127), Cañas 3 (102), Cañas

4 (95), Pozo Lagarto (28), Carrizo Negro (20), Centenario (35), Los Tigres (103), La Ahuadilla (64), Isla de Víboras (31) y Bella Esperanza (25), para un total de 840 tarjetas.

La alimentación del rebaño fue a base de pasturas distribuidas de la siguiente manera: 524,85ha en potreros con Guinea (*Panicum maximum*), 187,1ha de Estrella (*Cynodon mlemfluensis*), 42,75ha Reserva Ecológica 41ha Taiwán (*Pennisetum purpureum*), 58ha Costa Bermuda (*Cynodon dactylon*), 10ha Mulato (*Brachiaria híbrido 36061*), 19ha de Sto. Domingo (*Cynodon plectostachyus*), 6ha Caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), 8,5ha Kingrass (*Pennisetum purpureum x Pennisetum typhoides*), 22ha Insurgente (*Brachiaria brizantha*) y 3ha pastos nativos de los géneros *Paspalum* (*P. notatum*, *P. conjugatum*) y *Axonopus* (*A. affinis*, *A. compresus*); obteniendo un total de 922,2ha de pasto, distribuidas de manera similar en todas las fincas. Se identificaron unidades de producción con sistemas de ordeño mecánico. Para el pesado de la leche se utilizaron pesadores individuales de leche tipo Waikato (Schlueter Dairy Technologies, Janesville, USA). Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día (6:00 a 8:00 y 17:00 a 19:00 h).

### Variables de respuesta

Los datos obtenidos a través de los registros individuales y eventos reproductivos de cada una de las vacas, generaron las siguientes variables: Duración de la lactancia (DL), producción por lactancia (PLT), promedio de PL por día ( $\bar{X}$  DL), periodo interparto (IP), días abiertos (DA), días secos (DS) y PL por día interparto ( $\bar{X}$  IP). DL fue el periodo de tiempo en días desde el inicio de la lactancia hasta el secado de la vaca, PLT se refiere a la PL de las vacas durante toda la lactación expresada en Kg,  $\bar{X}$  DL correspondió al cociente de PLT entre DL, IP se estimó como la diferencia en días entre las fechas de partos consecutivos, DA fueron estimados como la diferencia de la cantidad de días entre el parto a la concepción, DS fueron estimados desde que termina una lactancia hasta que empieza la siguiente y  $\bar{X}$  IP, el cual fue el cociente de la PLT entre IP.

Las variables categóricas que se utilizaron en el estudio fueron: Finca (R), año de parto (AP), sexo de la cría (S), grupo racial (GR), número

de parto (NP) y época de parto (EP). R como nombre de la finca, AP son los años de estudios desde 1990 hasta el 2008, S correspondió a la estimación tanto de hembras como de machos (1=macho y 2=hembra), GR fueron los nueve (9) grupos raciales reconocidos de las cruces entre las razas Holstein (Hs), Cebú (C) y Pardo Suizo (Ps):  $\frac{1}{2}$  Hs x  $\frac{1}{2}$  C (1),  $\frac{1}{2}$  Ps x  $\frac{1}{2}$  C (2),  $\frac{3}{4}$  Hs x  $\frac{1}{4}$  C (3),  $\frac{3}{4}$  Ps x  $\frac{1}{4}$  C (4), +Hs x C (5), +Ps x C (6), otras tres o más razas, denominadas mosaico (7), +C x Hs (8) y +C x Ps (9), el NP fue agrupado en las categorías de 1 a 5 partos (1=primera lactancia, 2=segunda lactancia, 3=tercera lactancia, 4=cuarta lactancia y 5=quinta o más lactancias) y la EP que para clasificarla se utilizó el criterio de que una precipitación promedio mensual por arriba de 60 mm sería considerada la época de lluvia y la seca por debajo de la misma (García, 1987). Con base a este criterio, en la época de lluvia que comprendió los meses de agosto a febrero, se distribuyó el 83% de la precipitación promedio anual y en la seca, que incluyó los meses de marzo a julio, se distribuyó el 17% de la precipitación restante.

### Análisis estadístico

Mediante el coeficiente de correlación de Pearson se realizaron analogías simples entre las variables DL, PLT,  $\bar{X}$  DL, IP, DA, DS y  $\bar{X}$  IP. Para las mismas variables se realizaron análisis de varianza con el procedimiento GLM del paquete estadístico STATISTICA® Versión 7,0 (Statistica Stat-Soft Inc., 2003), se determinó el estadístico Lambda de Wilks para medir las desviaciones que se producen dentro de cada grupo respecto a las desviaciones totales sin distinción de grupos y la comparación de medias de los efectos principales con la prueba Tukey ( $\alpha \leq 0,05$ ), quedando el modelo descrito en la ecuación 1.

$$Y_{ijklmn} = \mu + R_i + EP_j + NP_k + AP_l + GR_m + S_n + e_{ijklmn} \dots \dots \dots \text{Ec. 1}$$

Donde:

$Y_{ijklmn}$  = Cada una de las variables de respuesta modeladas,

$\mu$  = Media común para todas las observaciones,

$R_i$  = Efecto fijo de la  $i$ -ésima finca ( $i = 1, \dots, 11$ ),

$EP_j$  = Efecto fijo de la  $j$ -ésima época de parto ( $j = 1, 2$ ),

$NP_k$  = Efecto fijo del  $k$ -ésimo número de parto ( $k = 1, \dots, 5$ ),

$AP_l$  = Efecto fijo del  $l$ -ésimo año de parto ( $l = 1, \dots, 19$ ),

$GR_m$  = Efecto fijo del  $m$ -ésimo grupo genético ( $m = 1, \dots, 9$ ),

$S_n$  = Efecto fijo del  $n$ -ésimo sexo de la cría ( $n = 1, 2$ ),

$e_{ijklmn}$  = Error aleatorio asociado con cada observación  $\sim$  NID ( $0, \sigma_e^2$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de las variables en estudio señala una correlación moderada entre  $\bar{X}$  DL y PLT, es decir, un incremento de la producción de leche por día, promueve un aumento de la producción de leche total. Igualmente se observa, una correlación media entre PLT y DL; es decir, bajo las condiciones de este estudio, la ocurrencia de lactancias más largas promueve un incremento de la producción de leche. Por otra parte, se observan correlaciones medias entre DL y las variables reproductivas DA e IP, es decir, las lactancias prolongadas afectan los parámetros reproductivos, específicamente alargando los tiempos transcurridos entre el parto a la concepción y las fechas de partos consecutivos. Investigaciones realizadas por Galeano y Manrique (2010), sostienen que las hembras con mayor producción de leche tienden a tener intervalos más prolongados entre partos, reportando correlaciones moderadas entre estas variables. Esos datos mantienen la tendencia general de que vacas con mayor capacidad de producción lechera presentan mayores dificultades para reproducirse; sin embargo, las bajas correlaciones entre IP y PLT observadas en el presente estudio, no coinciden con el trabajo de Galeano y Manrique (2010); por lo tanto, bajo las condiciones de la presente investigación, este supuesto no es determinante. Entre el resto de las variables contrastadas se presentó una baja correlación tanto positiva como negativa (Cuadro 1). En relación al resultado del p-valor asociado al estadístico Lambda de Wilks se observaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,05$ ) en las variables R, NP, AP y GR (Cuadro 2).

Cuadro 1. Coeficientes de correlación parcial entre los parámetros productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito.

Variable	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	IP	DA	DS	$\bar{X}$ IP
DL (Duración de la lactancia)	1						
PLT (Producción por lactancia)	0,48	1					
$\bar{X}$ DL (Producción de leche por día)	0,00	0,67	1				
IP (Periodo interparto)	0,46	0,20	-0,05	1			
DA (Días abiertos )	0,46	0,20	-0,05	0,94	1		
DS (Días secos)	-0,25	-0,18	-0,08	0,47	0,47	1	
$\bar{X}$ IP (Producción de leche por día interparto)	0,08	0,27	0,24	-0,14	-0,14	-0,07	1

Cuadro 2. Determinación de desviaciones de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito (estadístico Lambda de Wilks).

	Test	Value	F	Effect	Error	p
Intercept***	Wilks	0,011005	37982,48	6	2536	0,000000
R***	Wilks	0,789716	10,21	60	13291,95	0,000000
EP ns	Wilks	0,995336	1,98	6	2536	0,065049
NP***	Wilks	0,905147	10,68	24	8848,26	0,000000
AP***	Wilks	0,646483	10,65	108	14541,15	0,000000
GR***	Wilks	0,922496	4,3	48	12482,25	0,000000
S ns	Wilks	0,998183	0,77	6	2536	0,593977

\*\*\*Altamente significativo al ( $P < 0,001$ ); ns: No significativo; R: Nombre de la finca, EP: Época de parto, NP: Número de parto, AP: Año de parto, GR: Grupo racial y S: Sexo de la cría.

## Finca

La media general de la variable DL fue de  $288 \pm 91$  días, encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre fincas (Cuadro 3). Las vacas de la finca Bella Esperanza presentaron un periodo de DL mayor ( $309 \pm 89$  días). Sin embargo, es menor a los 348,5 días reportados para vacas con diferentes proporciones raciales en la misma zona geográfica por López-Ordaz *et al.* (2009). La media general de PLT fue de  $3599,62 \pm 998,45$  Kg de leche, observándose que un grupo de fincas presentaron valores mayores a 3,500 Kg de Leche: Cañas 1, Cañas 3, Cañas 4, Carrizo Negro, Pozo Lagarto y

Centenario (Cuadro 3). Resultados similares fueron reportados por López-Ordaz *et al.* (2009) quienes observaron PLT de  $4\ 961 \pm 416$  Kg. Los resultados obtenidos de PLT en la presente investigación, probablemente se deban a que entre el 50,02% y el 98,15% de los animales de los rebaños de estas fincas presentan como genotipo predominante el Ps y a prolongados periodos de DL (Cuadro 3), concordando con lo reportado por López y Vaccaro (2002) los cuales indican que a mayor porcentaje de genes Ps mayor es el periodo de lactación aunque sin traducirse esto en mayor cantidad de leche producida.

Cuadro 3. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación a la finca.

Finca	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
Cañas 1	301 $\pm$ 88 <sup>a</sup>	3754 $\pm$ 785 <sup>bc</sup>	12,51 $\pm$ 5,02 <sup>de</sup>	136 $\pm$ 81 <sup>b</sup>	8,71 $\pm$ 4,02 <sup>ab</sup>	442 $\pm$ 106 <sup>bc</sup>	157 $\pm$ 106 <sup>bc</sup>
Cañas 2	304 $\pm$ 94 <sup>a</sup>	3393 $\pm$ 613 <sup>d</sup>	11,44 $\pm$ 4,62 <sup>d</sup>	127 $\pm$ 70 <sup>b</sup>	8,18 $\pm$ 5,41 <sup>ab</sup>	433 $\pm$ 98 <sup>bc</sup>	148 $\pm$ 98 <sup>bc</sup>
Cañas 3	300 $\pm$ 82 <sup>a</sup>	3522 $\pm$ 641 <sup>cd</sup>	11,64 $\pm$ 4,79 <sup>d</sup>	132 $\pm$ 90 <sup>b</sup>	8,48 $\pm$ 4,07 <sup>ab</sup>	432 $\pm$ 92 <sup>bc</sup>	147 $\pm$ 92 <sup>bc</sup>
Cañas 4	305 $\pm$ 86 <sup>a</sup>	4033 $\pm$ 579 <sup>ab</sup>	13,53 $\pm$ 3,86 <sup>d</sup>	133 $\pm$ 106 <sup>b</sup>	9,60 $\pm$ 5,57 <sup>ab</sup>	438 $\pm$ 109 <sup>bc</sup>	153 $\pm$ 109 <sup>bc</sup>
Pozo Lagarto	307 $\pm$ 74 <sup>a</sup>	4000 $\pm$ 393 <sup>abc</sup>	13,10 $\pm$ 3,30 <sup>de</sup>	127 $\pm$ 75 <sup>b</sup>	9,42 $\pm$ 2,92 <sup>ab</sup>	430 $\pm$ 8 <sup>bc</sup>	145 $\pm$ 84 <sup>bc</sup>
Carrizo Negro	289 $\pm$ 57 <sup>abc</sup>	3817 $\pm$ 951 <sup>abcd</sup>	13,27 $\pm$ 2,59 <sup>de</sup>	109 $\pm$ 33 <sup>b</sup>	9,61 $\pm$ 2,37 <sup>ab</sup>	399 $\pm$ 60 <sup>c</sup>	115 $\pm$ 60 <sup>c</sup>
Centenario	299 $\pm$ 69 <sup>abc</sup>	4504 $\pm$ 410 <sup>a</sup>	15,13 $\pm$ 3,66 <sup>ab</sup>	142 $\pm$ 108 <sup>b</sup>	11,08 $\pm$ 3,44 <sup>a</sup>	416 $\pm$ 83 <sup>bc</sup>	132 $\pm$ 83 <sup>bc</sup>
Los Tigres	268 $\pm$ 98 <sup>bc</sup>	3428 $\pm$ 1423 <sup>cd</sup>	12,98 $\pm$ 3,01 <sup>de</sup>	187 $\pm$ 107 <sup>a</sup>	7,73 $\pm$ 3,01 <sup>ab</sup>	453 $\pm$ 117 <sup>b</sup>	168 $\pm$ 117 <sup>b</sup>
La Ahuadilla	213 $\pm$ 65 <sup>d</sup>	3482 $\pm$ 1308 <sup>cd</sup>	16,02 $\pm$ 2,72 <sup>a</sup>	205 $\pm$ 118 <sup>a</sup>	11,05 $\pm$ 6,61 <sup>a</sup>	418 $\pm$ 107 <sup>b</sup>	133 $\pm$ 107 <sup>bc</sup>
Isla de Víboras	241 $\pm$ 68 <sup>bd</sup>	3100 $\pm$ 1082 <sup>d</sup>	12,84 $\pm$ 2,71 <sup>cde</sup>	199 $\pm$ 100 <sup>a</sup>	7,32 $\pm$ 2,85 <sup>ab</sup>	443 $\pm$ 101 <sup>bc</sup>	158 $\pm$ 101 <sup>bc</sup>
Bella Esperanza	309 $\pm$ 89 <sup>a</sup>	1958 $\pm$ 946 <sup>e</sup>	6,11 $\pm$ 1,57 <sup>f</sup>	213 $\pm$ 218 <sup>a</sup>	4,01 $\pm$ 2,58 <sup>b</sup>	514 $\pm$ 136 <sup>a</sup>	229 $\pm$ 136 <sup>a</sup>

<sup>abcd</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; Tukey). DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

La R mostró efecto sobre  $\bar{X}$  DL ( $P < 0,05$ ). Las fincas la Ahuadilla y Centenario presentaron la mayor producción de leche por animal día con 16,02 $\pm$ 2,72 kg y 15,13 $\pm$ 3,66 respectivamente; estos resultados pueden atribuirse a los grupos raciales presentes en estas fincas. En la finca La Ahuadilla, el 52% de su rebaño lo conforma un genotipo que se denominó mosaico con alta carga de genes *Bos Taurus*, mientras que en la finca Centenario, el 48,86% de su rebaño está conformado por un genotipo +Ps x C. Estos resultados concuerdan con los reportados por López-Ordaz *et al.* (2009), quienes indican que las vacas de 50 hasta 80% de genes *Bos taurus* expresan mayor potencial para producción de leche. Al comparar DL y  $\bar{X}$  DL de la finca Bella Esperanza cuyo rebaño tiene 100% de genotipo +Hs x C se puede observar que presenta periodos de DL más largos, 309 $\pm$ 89 días, pero con menor  $\bar{X}$  DL (6,11 $\pm$ 1,57 por animal día) que no favoreció a la PLT, contrariamente a lo observado para La Ahuadilla (Cuadro 3). Estos resultados coinciden con los reportados por López y Vaccaro (2002) y López-Ordaz *et al.* (2009), en los que confirman

que el manejo de la finca influye en los días de lactancia y por consiguiente sobre la producción total de leche. En cuanto a los resultados de producción de leche por vaca día obtenidos en el presente estudio, a excepción de la finca Bella Esperanza, no coinciden con los 6 a 8 kg reportados por Paredes *et al.* (2003) en un estudio realizado en Venezuela para vacas con más de ½ herencia europea, ni con los 2,73 a 8,73 kg de leche por vaca día reportado por Román-Ponce *et al.* (2013) para vacas C y sus cruces con Hs, Ps y Simmental en la región del trópico húmedo mexicano.

### Época de Parición

Al analizar la EP (Cuadro 4), no se observaron efectos de esta variable sobre el periodo de DL y PTL ( $P > 0,05$ ). Resultados similares fueron reportados por Rodríguez *et al.* (2002) y Rodríguez y de León (2011) al no encontrar efectos de la EP sobre esta misma variable de estudio. Sin embargo, existe una diferencia numérica de 140 Kg de leche favorable para la época seca, resultado que posiblemente es

Cuadro 4. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación a la época del año.

Época de Parto	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
Lluvias	289 $\pm$ 94 <sup>a</sup>	3520 $\pm$ 402 <sup>a</sup>	12,42 $\pm$ 7,91 <sup>a</sup>	157 $\pm$ 45 <sup>a</sup>	8,72 $\pm$ 5,90 <sup>a</sup>	445 $\pm$ 105 <sup>a</sup>	160 $\pm$ 105 <sup>a</sup>
Secas	286 $\pm$ 94 <sup>a</sup>	3660 $\pm$ 620 <sup>a</sup>	12,91 $\pm$ 4,52 <sup>a</sup>	145 $\pm$ 56 <sup>a</sup>	8,76 $\pm$ 4,37 <sup>a</sup>	432 $\pm$ 104 <sup>a</sup>	148 $\pm$ 104 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; Tukey). DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

atribuido al manejo de las fincas en la época de estiaje. Hernández-Reyes *et al.* (2000) encontraron comportamientos similares en la PLT siendo mayor en la época seca con 1861,3 $\pm$ 85,1 Kg, mientras que en la época de lluvia fue de 1776,4 $\pm$ 80,2 kg. De igual manera, al determinar la influencia de la EP sobre la  $\bar{X}$  DL se reflejó una media de producción de 12,91 $\pm$ 4,52 kg de leche para la época seca y 12,42 $\pm$ 7,91 kg para época de lluvia (Cuadro 4). No se encontraron diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) para DS y DA, concordando con lo reportado por Tadesse y Dessie (2003), los cuales sugieren que en regiones tropicales cuando se realiza un manejo (alimenticio y reproductivo) adecuado, en ganado bovino de DP, el efecto de los factores climáticos puede ser poco o nulo.

Vergara *et al.* (2007) reportaron periodos interparto de hasta 469 $\pm$ 9 días encontrando que el efecto de la EP sobre IP fue significativo ( $P < 0,05$ ). En la presente investigación, a pesar de que no se detectaron diferencias significativas, se observó una diferencia numérica de 13 días adicionales para el IP, cuando la época de parto ocurrió en periodo lluvioso. Por otra parte, los resultados de DA obtenidos en esta investigación, son indicativos de baja eficiencia reproductiva, ya que de acuerdo a Salgado *et al.* (2003), los DA en bovinos de doble propósito deben ser 85 días, a fin de obtener un IP de un año.

### Número de Partos

En el análisis del efecto del NP sobre PLT mostró diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), con una media general de 3599 $\pm$ 998 Kg de leche por lactancia, siendo las vacas con más de tres partos las de mayor producción con 3979 $\pm$ 329 Kg de leche en

promedio. Santos y Martínez (1989) reportaron resultados similares en un trabajo con ganado Hs en el trópico húmedo mexicano. Según Osorio-Arce y Segura-Correa (2005) este resultado se debe a que las vacas de primer parto todavía están en desarrollo, por consiguiente, cubren sus requerimientos para completar su crecimiento antes que para la producción de leche.

Se encontró diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) en el efecto del NP sobre los DL, PLT,  $\bar{X}$  DL y  $\bar{X}$  IP (Cuadro 5), al observarse que las vacas entre dos y cuatro partos presentaron valores mayores de productividad que las primíparas y las de más de cinco partos; sin embargo, en un estudio realizado en Venezuela por Acostan *et al.* (1998) reportan que las vacas primíparas presentaron lactancias más largas que las vacas multíparas, debido que las vacas de primer parto presentan problemas de anestro posparto, provocando un retraso en la presentación del celo y posterior alargamiento de la lactancia de manera progresiva. Los resultados del presente estudio coinciden con Ceballos *et al.* (2012) quienes encontraron que el número de parto afecta significativamente la DL y en consecuencia la producción de leche.

### Sexo del becerro

No se detectó efecto del sexo del becerro ( $P > 0,05$ ) sobre DL y PLT (Cuadro 6), únicamente se observaron diferencias numéricas; vacas con crías machos presentaron un periodo de DL 7,32 días más largo y una producción de leche por lactancia que supera en 94 Kg a las vacas con crías hembras. Se ha reportado que las vacas que amamantan crías machos manifiestan periodos de DL más largos que las vacas que amamantan hembras y en consecuencia periodos de anestro

Cuadro 5. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación al parto.

Número de parto	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
1	280 $\pm$ 99 <sup>bc</sup>	2991 $\pm$ 146 <sup>c</sup>	10,85 $\pm$ 3,91 <sup>c</sup>	189 $\pm$ 52 <sup>a</sup>	7,77 $\pm$ 4,21 <sup>a</sup>	466 $\pm$ 127 <sup>a</sup>	181 $\pm$ 127 <sup>a</sup>
2	291 $\pm$ 91 <sup>ab</sup>	3426 $\pm$ 231 <sup>b</sup>	12,02 $\pm$ 4,41 <sup>b</sup>	152 $\pm$ 94 <sup>b</sup>	8,19 $\pm$ 5,11 <sup>a</sup>	439 $\pm$ 102 <sup>b</sup>	154 $\pm$ 102 <sup>b</sup>
3	300 $\pm$ 88 <sup>a</sup>	3979 $\pm$ 329 <sup>a</sup>	13,48 $\pm$ 7,56 <sup>ab</sup>	136 $\pm$ 74 <sup>bc</sup>	9,34 $\pm$ 8,69 <sup>a</sup>	438 $\pm$ 103 <sup>b</sup>	153 $\pm$ 103 <sup>b</sup>
4	304 $\pm$ 94 <sup>a</sup>	3893 $\pm$ 458 <sup>a</sup>	12,94 $\pm$ 4,74 <sup>ab</sup>	128 $\pm$ 68 <sup>c</sup>	9,19 $\pm$ 3,94 <sup>a</sup>	431 $\pm$ 93 <sup>bc</sup>	145 $\pm$ 93 <sup>bc</sup>
>5	276 $\pm$ 77 <sup>c</sup>	3827 $\pm$ 553 <sup>a</sup>	14,04 $\pm$ 5,24 <sup>a</sup>	139 $\pm$ 77 <sup>bc</sup>	9,32 $\pm$ 3,64 <sup>a</sup>	419 $\pm$ 89 <sup>c</sup>	134 $\pm$ 89 <sup>c</sup>

<sup>abcd</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; Tukey). DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

Cuadro 6. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación al sexo del becerro.

Sexo	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
Hembra	284 $\pm$ 93a	3552 $\pm$ 1613a	12,68 $\pm$ 4,97a	153 $\pm$ 98a	8,80 $\pm$ 6,17a	438 $\pm$ 107a	153 $\pm$ 107a
Machos	292 $\pm$ 90a	3646 $\pm$ 2317a	12,70 $\pm$ 7,27a	148 $\pm$ 105a	8,68 $\pm$ 6,34a	438 $\pm$ 103a	153 $\pm$ 103a

<sup>ab</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; Tukey). DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

posparto prolongado, (Montoni y Riggs, 1978; Bellows *et al.*, 1982; Segura-Correa *et al.*, 2001); lo anterior puede estar relacionado con la mayor ingesta de leche de los becerros machos comparado con las hembras, debido a una mayor frecuencia de amamantamiento (Miranda *et al.*, 2002). Según Wettemann *et al.* (2003), el amamantamiento prolonga la inactividad ovárica postparto debido a su efecto inhibitorio sobre la secreción pulsátil de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH).

### Grupo racial

El GR mostró efecto sobre el periodo de DL ( $P < 0,05$ ). Las lactancias más largas fueron para los grupos raciales  $\frac{3}{4}$  Hs x  $\frac{1}{4}$  C y  $\frac{3}{4}$  Ps x  $\frac{1}{4}$  C con 312 $\pm$ 99 y 299 $\pm$ 87 días respectivamente, no observándose diferencias significativas entre estos dos genotipos (Cuadro 7). Los resultados obtenidos en la presente investigación para la

variable DL, son mayores a los reportados por Hernández-Reyes *et al.* (2000), para vacas con diferentes proporciones raciales.

El GR tuvo efecto sobre PLT,  $\bar{X}$  DL y  $\bar{X}$  IP ( $P < 0,05$ ). Los grupos  $\frac{1}{2}$  Hs x  $\frac{1}{2}$  C y  $\frac{3}{4}$  Hs x  $\frac{1}{4}$  C presentaron mayor producción, con medias de entre 4029 $\pm$ 636 y 4504 $\pm$ 191 Kg de leche por lactancia respectivamente (Cuadro 7), esto probablemente causado por la mayor proporción racial Hs, altamente especializada. Resultados similares reportan Osorio-Arce y Segura-Correa (2005) en un estudio sobre factores que afectan la curva de lactancia de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* en un sistema de DP en el trópico húmedo de Tabasco, México. Cañas *et al.* (2009) en un estudio para estimar las curvas de lactancia en ganado Hs y BON x Hs en el trópico alto colombiano, observaron que las vacas con raza Hs tuvieron mayor producción.

En relación a las variables DS, IP y DA, se observó que estas fueron afectadas por el GR ( $P<0,05$ ). Los animales +Hs x C presentaron periodos de DS, IP y DA mayores, con valores de  $207\pm 99$ ,  $494\pm 45$  y  $209\pm 35$  días, respectivamente (Cuadro 8).

### Año del parto

El AP tuvo efecto sobre los DL ( $P<0,05$ ). La media más alta de  $347\pm 56$  días fue para el año 1992 y la más baja de  $235\pm 73$  días para el año 2008 (Cuadro 8). Estos resultados coinciden con la abundante precipitación ocurrida por única ocasión en el primer trimestre de 1992, misma que fue de 135.7 mm. Algunos autores han reportado que las variables productivas y reproductivas están influenciadas por factores ambientales (Ossa *et al.*, 2007; M-Rocha *et al.*, 2012).

El AP mostró efecto sobre la PLT ( $P<0,05$ ). En los años 1999, 2000 y 2001 se observaron las medias más altas de PLT con  $4440\pm 629$ ,

$4821\pm 592$  y  $4941\pm 346$  Kg, respectivamente (Cuadro 8). Lo anterior se atribuye a la distribución más prolongada de la precipitación media anual durante estos años a diferencia de los del resto del periodo de estudio, favoreciendo la disponibilidad y calidad forrajera. El efecto del año del parto sobre la producción de leche ya ha sido reportado en vacas con diferentes proporciones raciales en sistemas DP del trópico (Osorio y Segura, 2005; Contreras *et al.*, 2002; López-Ordaz *et al.*, 2009). Otros estudios encontraron efectos del número de parto y del año y mes de nacido del becerro sobre IP (Ossa *et al.*, 2007; Pérez y Gómez, 2009), variable que tiene correlación positiva con la producción de leche ajustada a  $305\text{ dr}_g=0,69$  (Pérez y Gómez, 2009); lo cual indica que los factores genéticos y no genéticos afectan la productividad de la finca, de esta manera en los años con mayor disponibilidad de forraje se ve incrementada la producción láctea reduciéndose la eficiencia reproductiva de la vaca.

Cuadro 7. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación al grupo racial.

Grupo racial	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
½ Hs x ½ C	286 ± 90 <sup>ab</sup>	4029 ± 636 <sup>ad</sup>	14,55 ± 5,49 <sup>ab</sup>	140 ± 69 <sup>b</sup>	9,92 ± 4,43 <sup>a</sup>	421 ± 90 <sup>b</sup>	136 ± 90 <sup>b</sup>
½ Ps x ½ C	269 ± 90 <sup>b</sup>	2816 ± 189 <sup>bd</sup>	10,71 ± 3,40 <sup>cd</sup>	146 ± 78 <sup>b</sup>	6,86 ± 2,52 <sup>a</sup>	417 ± 89 <sup>b</sup>	132 ± 89 <sup>b</sup>
¾ Hs x ¼ C	312 ± 99 <sup>a</sup>	4504 ± 191 <sup>a</sup>	14,78 ± 4,98 <sup>a</sup>	135 ± 80 <sup>b</sup>	10,29 ± 4,02 <sup>a</sup>	447 ± 85 <sup>b</sup>	162 ± 75 <sup>b</sup>
¾ Ps x ¼ C	299 ± 87 <sup>a</sup>	3444 ± 433 <sup>d</sup>	11,71 ± 4,12 <sup>c</sup>	140 ± 83 <sup>b</sup>	8,21 ± 4,95 <sup>a</sup>	439 ± 91 <sup>b</sup>	154 ± 91 <sup>b</sup>
+Hs x C	294 ± 98 <sup>ab</sup>	3234 ± 379 <sup>be</sup>	11,07 ± 5,67 <sup>cd</sup>	207 ± 99 <sup>a</sup>	10,60 ± 6,25 <sup>a</sup>	494 ± 45 <sup>a</sup>	209 ± 35 <sup>a</sup>
+Ps x C	293 ± 86 <sup>a</sup>	3834 ± 565 <sup>d</sup>	13,31 ± 6,74 <sup>b</sup>	147 ± 80 <sup>b</sup>	9,05 ± 6,56 <sup>a</sup>	440 ± 66 <sup>b</sup>	155 ± 66 <sup>b</sup>
Mosaico	278 ± 92 <sup>b</sup>	3645 ± 623 <sup>de</sup>	13,21 ± 4,29 <sup>b</sup>	154 ± 98 <sup>b</sup>	8,72 ± 3,83 <sup>a</sup>	432 ± 79 <sup>b</sup>	147 ± 89 <sup>b</sup>
+C x Hs	231 ± 91 <sup>ab</sup>	2375 ± 617 <sup>bode</sup>	10,64 ± 2,68 <sup>cd</sup>	171 ± 97 <sup>ab</sup>	5,80 ± 2,73 <sup>a</sup>	405 ± 27 <sup>b</sup>	120 ± 47 <sup>b</sup>
+C x Ps	253 ± 80 <sup>b</sup>	2137 ± 287 <sup>c</sup>	9,00 ± 4,66 <sup>d</sup>	151 ± 75 <sup>b</sup>	4,97 ± 2,83 <sup>a</sup>	429 ± 90 <sup>b</sup>	145 ± 90 <sup>b</sup>

<sup>abcd</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P<0,05$ ; Tukey). DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

Cuadro 8. Medias ( $\pm\sigma$ ) de los atributos productivos y reproductivos de vacas en un sistema de doble propósito en relación al año del parto.

Año de Parto	DL	PLT	$\bar{X}$ DL	DS	$\bar{X}$ IP	IP	DA
1990	293 $\pm$ 45 <sup>cde</sup>	1699 $\pm$ 804 <sup>k</sup>	5,78 $\pm$ 1,61 <sup>f</sup>	175 $\pm$ 16 <sup>abcd</sup>	3,64 $\pm$ 1,57 <sup>f</sup>	469 $\pm$ 92 <sup>abc</sup>	184 $\pm$ 92 <sup>abc</sup>
1991	309 $\pm$ 85 <sup>abcd</sup>	2461 $\pm$ 996 <sup>jk</sup>	7,93 $\pm$ 2,60 <sup>ef</sup>	154 $\pm$ 12 <sup>abcdefg</sup>	5,40 $\pm$ 2,13 <sup>ef</sup>	466 $\pm$ 91 <sup>abc</sup>	181 $\pm$ 91 <sup>abc</sup>
1992	347 $\pm$ 56 <sup>a</sup>	2813 $\pm$ 995 <sup>hij</sup>	8,16 $\pm$ 1,81 <sup>ef</sup>	140 $\pm$ 9 <sup>bcdefgh</sup>	5,74 $\pm$ 1,69 <sup>def</sup>	494 $\pm$ 35 <sup>a</sup>	209 $\pm$ 34 <sup>a</sup>
1993	338 $\pm$ 45 <sup>a</sup>	2693 $\pm$ 584 <sup>ij</sup>	7,92 $\pm$ 1,95 <sup>ef</sup>	137 $\pm$ 30 <sup>defgh</sup>	5,62 $\pm$ 1,90 <sup>ef</sup>	478 $\pm$ 19 <sup>ab</sup>	193 $\pm$ 19 <sup>ab</sup>
1994	338 $\pm$ 26 <sup>ab</sup>	3071 $\pm$ 399 <sup>ghij</sup>	9,16 $\pm$ 2,81 <sup>de</sup>	124 $\pm$ 80 <sup>efgh</sup>	6,75 $\pm$ 2,41 <sup>cdef</sup>	466 $\pm$ 15 <sup>abc</sup>	181 $\pm$ 15 <sup>abc</sup>
1995	312 $\pm$ 88 <sup>ab</sup>	3425 $\pm$ 362 <sup>defghi</sup>	11,10 $\pm$ 3,21 <sup>cd</sup>	120 $\pm$ 59 <sup>fgh</sup>	8,03 $\pm$ 2,80 <sup>bcdef</sup>	434 $\pm$ 89 <sup>bcde</sup>	149 $\pm$ 89 <sup>bcde</sup>
1996	303 $\pm$ 77 <sup>bcd</sup>	3876 $\pm$ 342 <sup>bcd</sup>	12,97 $\pm$ 4,28 <sup>b</sup>	109 $\pm$ 44 <sup>h</sup>	9,56 $\pm$ 3,42 <sup>abcde</sup>	410 $\pm$ 80 <sup>de</sup>	125 $\pm$ 79 <sup>de</sup>
1997	292 $\pm$ 66 <sup>cde</sup>	3978 $\pm$ 444 <sup>bcd</sup>	13,58 $\pm$ 3,75 <sup>b</sup>	119 $\pm$ 67 <sup>fgh</sup>	9,87 $\pm$ 3,23 <sup>abcde</sup>	408 $\pm$ 81 <sup>de</sup>	123 $\pm$ 81 <sup>de</sup>
1998	294 $\pm$ 76 <sup>cd</sup>	4136 $\pm$ 539 <sup>bc</sup>	13,93 $\pm$ 3,67 <sup>b</sup>	127 $\pm$ 75 <sup>efgh</sup>	9,94 $\pm$ 3,47 <sup>abcde</sup>	423 $\pm$ 98 <sup>de</sup>	138 $\pm$ 98 <sup>de</sup>
1999	262 $\pm$ 79 <sup>efgh</sup>	4440 $\pm$ 629 <sup>ab</sup>	17,02 $\pm$ 5,48 <sup>a</sup>	146 $\pm$ 62 <sup>cdefg</sup>	11,07 $\pm$ 4,00 <sup>abcd</sup>	403 $\pm$ 79 <sup>e</sup>	118 $\pm$ 79 <sup>de</sup>
2000	275 $\pm$ 82 <sup>defg</sup>	4821 $\pm$ 592 <sup>a</sup>	17,31 $\pm$ 3,38 <sup>a</sup>	136 $\pm$ 58 <sup>defgh</sup>	11,63 $\pm$ 3,88 <sup>abc</sup>	417 $\pm$ 81 <sup>de</sup>	132 $\pm$ 82 <sup>de</sup>
2001	279 $\pm$ 69 <sup>cdefg</sup>	4941 $\pm$ 346 <sup>a</sup>	17,36 $\pm$ 7,48 <sup>a</sup>	154 $\pm$ 40 <sup>abcdefg</sup>	11,96 $\pm$ 4,32 <sup>abc</sup>	432 $\pm$ 16 <sup>bcde</sup>	147 $\pm$ 16 <sup>bcde</sup>
2002	278 $\pm$ 92 <sup>cdefg</sup>	3890 $\pm$ 477 <sup>bcd</sup>	14,12 $\pm$ 3,03 <sup>b</sup>	163 $\pm$ 24 <sup>abcde</sup>	14,0 $\pm$ 5,55 <sup>a</sup>	429 $\pm$ 10 <sup>cde</sup>	144 $\pm$ 10 <sup>cde</sup>
2003	288 $\pm$ 96 <sup>cdef</sup>	3661 $\pm$ 368 <sup>cdefgh</sup>	13,10 $\pm$ 3,73 <sup>bc</sup>	159 $\pm$ 94 <sup>abcde</sup>	13,99 $\pm$ 3,29 <sup>bcdef</sup>	447 $\pm$ 14 <sup>abcd</sup>	162 $\pm$ 14 <sup>abcc</sup>
2004	281 $\pm$ 83 <sup>cdefg</sup>	3747 $\pm$ 486 <sup>bcd</sup>	13,42 $\pm$ 3,89 <sup>bc</sup>	182 $\pm$ 93 <sup>abc</sup>	8,44 $\pm$ 3,40 <sup>bcd</sup>	464 $\pm$ 18 <sup>abc</sup>	179 $\pm$ 28 <sup>abc</sup>
2005	276 $\pm$ 54 <sup>defg</sup>	3345 $\pm$ 600 <sup>defghi</sup>	12,23 $\pm$ 3,88 <sup>bc</sup>	191 $\pm$ 78 <sup>a</sup>	7,49 $\pm$ 3,54 <sup>bcdef</sup>	470 $\pm$ 35 <sup>abc</sup>	185 $\pm$ 35 <sup>abc</sup>
2006	249 $\pm$ 97 <sup>gh</sup>	3152 $\pm$ 422 <sup>efghij</sup>	12,92 $\pm$ 3,98 <sup>bc</sup>	185 $\pm$ 73 <sup>ab</sup>	7,57 $\pm$ 3,58 <sup>bcdef</sup>	440 $\pm$ 17 <sup>bcde</sup>	155 $\pm$ 17 <sup>bcde</sup>
2007	253 $\pm$ 86 <sup>fgh</sup>	3272 $\pm$ 722 <sup>efghi</sup>	12,78 $\pm$ 4,25 <sup>bc</sup>	190 $\pm$ 89 <sup>a</sup>	7,62 $\pm$ 3,61 <sup>bcdef</sup>	441 $\pm$ 18 <sup>bcde</sup>	156 $\pm$ 11 <sup>bcde</sup>
2008	235 $\pm$ 73 <sup>h</sup>	2960 $\pm$ 430 <sup>hij</sup>	12,54 $\pm$ 4,46 <sup>bc</sup>	188 $\pm$ 75 <sup>a</sup>	7,93 $\pm$ 3,76 <sup>bcdef</sup>	412 $\pm$ 81 <sup>de</sup>	127 $\pm$ 21 <sup>de</sup>

<sup>abcdefghij</sup> Medias con al menos una literal igual en la misma columna no presentan diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; Tukey).

DL: Duración de la lactancia, PLT: Producción por lactancia,  $\bar{X}$  DL: promedio de producción de leche por día, DS: Días secos,  $\bar{X}$  IP: producción de leche por día interparto, IP: Periodo interparto y DA: Días abiertos.

## CONCLUSIONES

Los factores que influyeron sobre los atributos de la producción de leche y la actividad reproductiva de las vacas fueron: la finca, el número y año del parto y el grupo racial. Los resultados observados permiten sugerir el uso de los grupos raciales  $\frac{3}{4}$  Hs x  $\frac{1}{4}$  C y  $\frac{1}{2}$  Hs x  $\frac{1}{2}$  C por ser los más apropiados para la producción de leche con la mayor habilidad reproductiva, en los sistemas de producción con ganado bovino de doble propósito de la huasteca baja veracruzana.

## LITERATURA CITADA

- Acosta, J., S. Padrón, N. Pereira, E. Rincón, Z. Chirinos, R. Villalobos y D. Marin. 1998. Producción de leche de ganado mestizo en una zona de bosque seco tropical. Rev. Cient. FVZ. LUZ., 8(2):99-104
- Becerril, P., H. Román-Ponce y H. Castillo. R. 1981. Comportamiento productivo de vacas Holstein, Suizo Pardo y sus cruces con Cebú F1 en clima tropical. Téc. Pecu. Méx., 10:16-21.

- Bellows, R. A., R. Short y G. Richardson. 1982. Effects of sire, age of dam and gestation feed level on dystocia and postpartum reproduction. *J. Anim. Sci.*, 55(1):18-27.
- Cañas, J. J., L. Restrepo, J. Ochoa, A. Echeverri y M. Cerón-Muñoz. 2009. Estimación de las curvas de lactancia en ganado Holstein y Bon X Holstein en trópico alto Colombiano. *Rev. Lasallista Investig.*, 6(1): 35-42.
- Ceballos, M. C., G. Correa y J. Echeverri. 2012. Prediction of total protein percentage from partial sampling and adjustment of environmental effects. *Rev. MVZ Córdoba.*, 17(1): 2884-2890.
- Contreras, G., S. Zambrano, M. Pirela, O. Abreu y H. Cañas. 2002. Factores que afectan la producción de leche en vacas mestizas Criollo Limonero x Holstein. *Rev. Cient. FVZ. LUZ.*, 2(1):15-18.
- Duarte, O. A., W. Thorpe and A. Tewolde. 1988. Reproductive performance of purebred and crossbreed beef cattle in the tropic of Mexico. *Anim. Prod.*, 47: 11-20.
- Galeano, A. y C. Manrique. 2010. Estimación de parámetros genéticos para características productivas y reproductivas en los sistemas doble propósito del trópico bajo colombiano. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 57(2): 119-131.
- García, E. 1987. Modificaciones a la clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 276 p.
- González-Rebeles, C. I., Tania, G. F., Francisco, G. H., 2015. Recursos naturales y uso de las tierras ganaderas en el trópico. Capítulo I. **En:** O. Rodríguez R. Libro Técnico. Estado del arte sobre investigación e innovación tecnológica en ganadería bovina tropical. Red de investigación e innovación tecnológica para la ganadería bovina tropical (REDGATRO). Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). ©REDGATRO CONACyT. México, D. F. pp. 38-47.
- Hernández-Reyes, E., V. Segura-Correa, J. Segura-Correa y M. Osorio-Arce. 2001. Intervalo entre partos, duración de la lactancia y producción de leche en un hato de doble propósito en Yucatán, México. *Agrociencia.*, 35(6) pp. 699-705.
- INEGI, (Instituto Nacional de Estadística y Geografía Generación e integración de información, Estados Unidos Mexicanos) Estadística geográfica sobre el territorio, la población y la economía de México, 2014. Disponible en línea: <http://www.inegi.org.mx/inegi/default.aspx> [Mar. 23, 2014].
- INEGI, (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Estados Unidos Mexicanos) Principales resultados de la Encuesta Intercensal 2015. Disponible en línea: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/biblioteca/ficha.aspx?upc=702825078966> [May. 13, 2015].
- López-Ordaz R., R. García-Carreón, G. García-Muñiz y R. Ramírez-Valverde. 2009. Producción de leche de vacas con diferente porcentaje de genes *Bos taurus* en el trópico mexicano. *Téc. Pecu. Méx.*, 47(4): 435-447.
- López-Ordaz, R., C. Vite-Cristóbal, J. García-Muñiz y P. Martínez-Hernández. 2009. Reproducción y producción de leche de vacas con distinta proporción de genes *Bos taurus*. *Arch. Zootec.*, 58(224): 683-694.
- López, J. y L. Vaccaro. 2002. Comportamiento productivo de cruces Holstein Friesian-cebú comparados con Pardo Suizo-cebú en sistemas de doble propósito en tres zonas de Venezuela. *Zoot. Trop.*, 20(3): 397-414.
- Magaña, M. J. G., G. Ríos A. y J. C. Martínez G. 2006. Los sistemas de doble propósito y los desafíos en los climas tropicales de México. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 14 (3) pp.105-114.
- Mahecha, L., L. A. Gallego y F. J. Peláez. 2002. Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 15(2) pp. 213-225.
- Miranda, J., M. Benezra y O. Colmenares. 2002. Efecto de la suplementación estratégica con germen de maíz sobre la producción

- de leche y reproducción de vacas de doble propósito. *Zootecnia Trop.*, 30(1): 31-47.
- Montoni, D. y J. Riggs. 1978. Efecto del amamantamiento limitado sobre el comportamiento productivo y reproductivo de un rebaño Brahman. *Agron. Trop.*, 28(6): 551-571.
- M-Rocha, J. F., J. Gallego, R. Vásquez, J. Pedraza, J. Echeverri, M. Cerón-Muñoz y R. Martínez. 2012. Estimación de parámetros genéticos para edad al primer parto e intervalo entre partos en poblaciones bovinas de la raza Blanco Orejinegro (BON) en Colombia. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, 25(2): 220-228.
- Murcia, R. y G. Martínez. 2013. Factores que afectan la vida útil de vacas doble propósito. *Revista MVZ Córdoba.*, 18(2): 3459-3466.
- Orantes-Zebadúa M, Á., D. Platas-Rosado, V. Córdova-Avalos, D. los Santos-Lara, M. del Carmen y A. Córdova-Avalos. 2014. Caracterización de la ganadería de doble propósito en una región de Chiapas, México. *Eco. Rec. Agrop.*, 1(1): 49-58.
- Osorio-Arce, M. M., y J. Segura-Correa. 2005. Factores que afectan la curva de lactancia de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* en un sistema de doble propósito en el trópico húmedo de Tabasco, México. *Téc. Pecu. Méx.*, 43(1): 127-137.
- Ossa, G. A., M. A. Suárez y J. E. Pérez. 2007. Factores ambientales y genéticos que influyen la edad al primer parto y el intervalo entre partos en hembras de la raza criolla Romosinuano. *Rev. Corpoica – Cienc. Tecn. Agrop.*, 8(2): 74-80.
- Palma, G. J. M. 2014. Escenarios de sistemas de producción de carne de bovino en México. *Rev. Avan. Inv. Agrop.*, 18(1):53-62.
- Paredes, L., V. Hidalgo, T. Vargas y A. Molinett. 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): 87-108.
- Pérez, P., R. Rojo, A. Álvarez, J. García, C. Ávila, S. López, J. Villanueva, H. Chalate, E. Ortega y J. Gallegos. 2003. Necesidades Investigación y Transferencia de Tecnología de la Cadena de Bovinos de Doble Propósito en el Estado de Veracruz. Fundación Produce Veracruz, México. 170 pp.
- Pérez, Q. G. y M. Gómez. 2009. Factores genéticos y ambientales que afectan el comportamiento productivo de un rebaño pardo suizo en el trópico. 2. Intervalo entre partos y su relación con la producción de leche. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, 19 (1): 77-83.
- Pino, T., G. E. Martínez, R. Galíndez, M. Castejón y A. Tovar. 2009. Efecto del grupo racial y algunos factores no genéticos sobre la producción de leche e intervalo entre partos en vacas de doble propósito. *Rev. Fac. Cienc. Vet.*, 50(2) pp. 224-228.
- Rodríguez, R., M. Mejía, B. Camberos, R. Ochoa, F. Ruvuna y A. Schunemann. 2002. Producción de leche de los diferentes cruzamientos con Holstein en el CEIEGT FMVZ UNAM de Martínez de la Torre, Veracruz. *Boletín Técnico Virtual.*, 13 (5): 1-6.
- Rodríguez, Y. y R. de León. 2011. Caracterización de la producción lechera (1986 hasta 2007) de los genotipos vacunos Cebú Lechero Cubano ( $\frac{3}{4}$  Cebú:  $\frac{1}{4}$  Holstein) y sus mestizos. *Rev. Cubana Ciec. Agríc.*, 45(3): 231-236.
- Román-Ponce S, I., F. Ruiz-López, H. Montaldo, R. Rizzi y H. Román-Ponce. 2013. Efectos de cruzamiento para producción de leche y características de crecimiento en bovinos de doble propósito en el trópico húmedo. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.*, 4(4): 405-416.
- Salgado, R., J. Álvarez, M. Bertel, M. González, L. Maza y L. Torregroza. 2003. Efecto de la época del parto y del sistema de amamantamiento sobre la eficiencia reproductiva de vacas del sistema doble propósito. *Rev. MVZ Córdoba.*, 8(2): 323-328.
- Santos, J. L. y F. Martínez. 1989. El ganado Holstein en el trópico húmedo mexicano. V.

- Efecto de época del año, granja y número de parto en las curvas de lactancia y nivel de producción., *Rev. Univ. Cienc.*, 6(11): 43-50.
- Segura-Correa, V. M., S. Anderson, R. Delgado-León y J. Segura-Correa. 2001. Efecto del destete temporal en el comportamiento reproductivo postparto de vacas de doble propósito bajo condiciones tropicales. *Liv. Res. Rural Dev.*, 13(1): 2001.
- Soto-Belloso, E. 2004. La ganadería de doble propósito en Venezuela. *Memorias XII Congreso Venezolano de Producción Animal*. Maracay, Edo. Aragua – Venezuela. 22-25/11. pp. 221-229.
- StatSoft, I. 2003. *Statistica 7 for windows*. Statsoft Inc., 2300 East, 14th Street, Tulsa, Oklahoma, USA.
- Tadesse, M. y T. Dessie. 2003. Milk production performance of Zebu, Holstein Friesian and their crosses in Ethiopia. *Liv. Res. Rural Dev.*, 15(3): 28-37.
- Vergara, O., R. Salgado, L. Maza, L. Botero, C. Martínez, C. Medina y J. Pestana. 2007. Factores que afectan el primer intervalo de parto de hembras bovinas manejadas bajo el sistema doble propósito. *Liv. Res. Rural Dev.*, 19(10): 140.
- Vite-Cristóbal, C., R. López-Ordaz, J. García-Muñiz, R. Ramírez-Valverde, A. Ruiz-Flores. 2007. Producción de leche y comportamiento reproductivo de vacas de doble propósito que consumen forrajes tropicales y concentrados. *Rev. Vet. Méx.*, 38(1) pp. 63-79.
- Wettemann, R. P., C. A. Lents, N. H. Ciccioli, E. J. White and I. Rubio. 2003. Nutritional and suckling mediated anovulation in beef cows. *J. Anim. Sci.*, (Suppl. 2): 48-59.

## Fracción fenólica y flavonoides totales del polen corbicular colombiano: actividad antioxidante y capacidad antirradicalaria

### Phenolic fraction and total flavonoids in colombian corbicular bee pollen: antioxidant and free radical scavenging activity

<sup>1,2</sup>Guillermo Salamanca Grosso, <sup>2</sup>July Alexandra Hernández López,  
<sup>2</sup>Mónica Patricia Osorio Tangarife

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias-Departamento de Química. <sup>2</sup>Laboratorio de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimentos. Universidad del Tolima-Colombia. <sup>1</sup>Correo electrónico: salamancagrosso@gmail.com

#### RESUMEN

El polen corbicular, es un producto natural resultado de la actividad de las abejas que aglutinan los granos removidos de las anteras de las flores que forrajean y estructuran en diminutos pellets, tras la adición de néctar y enzimas hipofaríngeas, para el sustento de la colonia. La variabilidad y propiedades de éste producto ha llamado la atención debido a sus propiedades nutricionales. Para el estudio se colectaron y evaluaron 63 muestras de las zonas de bosque húmedo premontano (*bh-PM*) y muy húmedo premontano (*bmh-PM*). El contenido y actividad de los fenoles y flavonoides fueron determinados sobre extractos de etanol-agua (70:30). En los extractos, la densidad media oscila entre 0,8840±0,01 y 0,8851±0,01 g/mL, el rendimiento del extracto blando de 3,30±0,70 a 7,10±1,25 g/100 mL. Los espectros UV-Vis de los extractos presentan patrones propios de fenólicos y flavonoides. La fracción fenólica observada varía entre 11,8±2,22 y 30,6±7,10 mg EAG/g, los flavonoides desde 5,67±2,35 a 12,1±1,13 mg Eq. Quercetina/g polen. La capacidad reductora (11,8±2,22 a 30,6±7,10) y (9,00±3,43 y 17,9±4,30) µM de Trolox/g para FRAP y ABTS respectivamente. Una función estructural PLS-PATH y sus correlaciones en virtud a las propiedades y componentes responsables de la actividad antioxidante han sido planteadas. Los resultados son reveladores de un aporte significativo de fenoles y flavonoides, en muestras de polen corbicular de zonas altoandinas colombianas, su extracción y concentración posibilita la incorporación como aditivo en suplementos alimenticios o productos farmacéuticos.

**Palabras clave:** Antioxidantes, fenoles, polen, flavonoides.

#### ABSTRACT

Corbicular bee pollen, is a natural product result from the activity of bees that removed pollen grains from anthers and agglutinate it into tiny pellets, after the addition of nectar and hypo pharyngeal enzymes. The final product is stored in the hives and used as a nutritional sustenance of the colony. Variability and properties of this product has attracted research attention due to its nutritional properties. For the study were collected 63 samples at the premountain wet forest (*bh-PM*) and very wet premountain forest (*bmh-PM*). Phenols, flavonoids, and its activity were determined on extracts using ethanol-water (70:30) as a solvent. Average of density change between 0,8840±0,01 to 0,8851±0,01 g/mL, total extract from 3,30±0,70 to 7,10±1,25 g/100 mL. UV-Vis spectra show typical patterns of phenolic and flavonoids compounds. The phenolic fraction observed varies between 11,8±2,22 and 30,6±7,10 mg EAG/g, and flavonoids from 5,67±2,35 to 12,1±1,13 mg Eq. Quercetin/g pollen. The reducing capacity (11,8±2,22 to 30,6±7,10) and (9,00±3,43 and 17,9±4,30) µM Trolox/g for FRAP and ABTS respectively. A structural function PLS-PATH and their correlations respect to the properties and components responsible for the antioxidant activity have been raised. The results are indicative of a significant contribution of phenols and flavonoids, in colombian bee pollen from Andean zones, its removal and concentrations allows the incorporation as additive in food supplements or pharmaceutical products.

**Key words:** Antioxidants, phenols, pollen, flavonoids.

## INTRODUCCIÓN

El polen es un producto de gran demanda en el mercado de los productos naturales, debido a sus propiedades nutricionales y terapéuticas constituye la principal fuente proteica y de alimentación de las abejas en su ciclo larval (Salamanca, *et al.*, 2011); los beneficios para la salud derivan de sus características depurativas, energizantes y revitalizantes cuyas propiedades están en función de su origen botánico y de las condiciones de manejo durante las operaciones de extracción y beneficio, (Cimpoiou, *et al.*, 2013; Graikou, *et al.*, 2011; Salamanca, *et al.*, 2011; Vit, 2009; Silva, *et al.*, 2009; Sayas y Huamán, 2009; Guo, *et al.*, 2009; Del Risco, 2004; Bogdanov, 2004; 2011).

Este producto ha ganado importancia en virtud de sus propiedades funcionales y valor biológico, aporta carbohidratos y ácidos grasos insaturados; siendo posicionado como un alimento tipo II por los aminoácidos esenciales que aporta, (Kostic, *et al.*, 2015; Ketkar, *et al.*, 2014; Ciappinni, *et al.*, 2013). Contiene además vitaminas, minerales, carotenos, xantofilas y derivados fenólicos que le confieren propiedades antioxidantes (Mohdaly, *et al.*, 2015; Feás, *et al.*, 2012).

De esta manera, se conoce como actividad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado. En alimentos de origen vegetal, se atribuye esta actividad a la presencia de compuestos fenólicos, principalmente a los flavonoides, (Ciappinni, *et al.*, 2013; Gobert, *et al.*, 2013).

Es así como, la acción terapéutica del polen apícola se ha atribuido a varios compuestos fenólicos con actividad antioxidante. Las propiedades bioactivas de los extractos de polen corbicular pueden ser aumentadas si se emplea un disolvente adecuado para su extracción, mejorando la actividad de secuestro de los radicales libres (Mohdaly, *et al.*, 2015).

Extractos apropiados del polen se pueden utilizar como alimento funcional o suplemento alimenticio teniendo en cuenta la cantidad de compuestos fenólicos y su capacidad de secuestro de los radicales libres responsables del estrés oxidativo y la carcinogénesis (Ketkar, *et al.*, 2014; Fatroková, *et al.*, 2013; Kacániova,

*et al.*, 2012; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a, b; Carpes, *et al.*, 2007; Basim, *et al.*, 2006; Cushnie y Lamb, 2005; Kroyer y Hegedus, 2001).

De acuerdo con lo expresado, se ha demostrado la actividad biológica de aproximadamente 250 compuestos de origen botánico asociados al polen (Nogueira, *et al.*, 2012). La composición y propiedades de las cargas de polen dependen de la flora disponible en las regiones y de factores del entorno, las principales moléculas con actividad biológica que componen la matriz de polen son Ácido fólico, Biotina, Carotenos ( $\beta$ -Caroteno) y Xantofilas, Vitaminas A y E, cuyo contenido varía dependiendo de la fuente floral.

Además, se ha encontrado una alta concentración de polifenoles en muestras de polen corbicular (Kroyer y Hegedus, 2001), responsables entre otras cosas del crecimiento de las plantas y la reproducción, proporcionan resistencia contra agentes patógenos por la acción de las fitoalexinas y protección contra plagas ya que contribuyen a que éstas aumenten su astringencia, siendo menos comestible para los insectos, (Hung-Ju, *et al.*, 2012; Angelo y Jorge, 2007). Estas sustancias polifenólicas son responsables de las tonalidades del polen y actúan como barreras protectoras de las plantas absorbiendo la radiación solar (Kacániova, *et al.*, 2012; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a, b).

Los flavonoides son polifenoles caracterizados por su estructura benzo- $\alpha$ -pirano de origen vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares en forma de glucósidos importantes para el desarrollo y funcionamiento de las plantas (Aličić, *et al.*, 2014; Aksoy, *et al.*, 2013; Pascoal, *et al.*, 2013; Morais, *et al.*, 2011; Cartaya y Reynaldo, 2001).

Su estructura básica comprende un núcleo central que contiene 15 átomos de carbono (C15). Este grupo de compuestos tiene dos anillos fenólicos sustituidos (A y B) y un heterociclo oxigenado (anillo C), que forman un sistema C6-C3-C6. El anillo A proviene de la ruta de la malonil-coenzima A, y los anillos B y C, provienen de la ruta del ácido shikímico, (Pérez-Pérez, *et al.*, 2012; Pinheiro y Justino, 2012; Hossain y Rahman, 2011; Crozier, *et al.*, 2009; Dornas, *et al.*, 2007; Araujo, *et al.*, 2005; Cushnie y Lamb, 2005; Duthie, 2003). Los flavonoides suelen

presentar al menos tres hidroxilos fenólicos y se encuentran generalmente como flavonoides libres (agliconas) o combinados con azúcares en forma de glucósidos.

Varios subgrupos de flavonoides son clasificados de acuerdo con la sustitución del anillo C. En esta clasificación son de suma importancia el estado de oxidación del anillo heterocíclico y la posición del anillo B, (Araujo, *et al.*, 2005; Cartaya y Reynaldo, 2001). Los que poseen en su estructura unidades de azúcares además de los grupos hidroxilos, presentan un marcado efecto polar, razón por la cual pueden ser extraídos con etanol, metanol, butanol, acetona principalmente como ocurre con algunos flavonoides, es el caso de la quercetina e isoramnetina-3-glucósido, miricetina y kaempferol-3-glucósido además de naringina, isoramnetina, rutina, apigenina, naringenina, como los más predominantes, (Carpes, 2008; Leja, *et al.*, 2007; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a,b; Serra-Bonvehí, *et al.*, 2001).

Las razones de la existencia ubicua de tipos monoméricos y oligómeros de flavonoides, como metabolitos secundarios son bien conocidas, entre ellos el rol como agente protector contra hongos y patógenos y como indicador de polinizadores. La protección de la radiación UV, es prueba de su efecto fotosensible, (Saxena, *et al.*, 2012).

En muestras de polen mexicano, se encontró una elevada actividad antioxidante, provenientes de especies de *Amaranthus hybridus*, *Prosopis juliflora*, *Tapetes sp.* y mezclas de éste con polen de *A. hybridus*, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a, b). En pólenes brasileros de *Mimosa gemmulata*, se encontró cierta actividad antirradicalaria, (Freire, *et al.*, 2012; Sarmiento, *et al.*, 2006), al igual que en los extractos etanólicos de pólenes japoneses de *Cistus ladaniferus*, (Nagai, *et al.*, 2002). La actividad antioxidante y capacidad antirradicalaria es mayor cuanto más fresco es el polen, disminuyendo con el almacenamiento, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2004; Campos, *et al.*, 2003). En pólenes europeos se observó del mismo modo, una importante actividad biológica, (Kroyer y Hegedus, 2001).

Estudios más recientes han mostrado una amplia variabilidad en la actividad antioxidante del polen polaco, (Leja, *et al.*, 2007). Los compuestos responsables de ésta actividad y de manera

contraria a lo observado en otros productos de origen vegetal o apícola, se encuentran como agliconas, es decir, no están glucosilados o unidos a carbohidratos, pues el enlace que los une se rompe cuando la abeja mezcla el polen colectado con su saliva y secreciones de sus glándulas hipofaríngeas, lo que incrementa su posible bioactividad, (Serra-Bonvehí, *et al.*, 2001).

En el contexto anterior y teniendo en cuenta la ausencia de trabajos relacionados con la determinación de fenoles, flavonoides, la capacidad antioxidante y actividad antirradicalaria, de extractos de polen corbicular beneficiado en diferentes entornos biogeográficos; se ha planteado en éste trabajo adelantar un estudio analítico y comparativo de los parámetros indicadores de fenoles totales, flavonoides, actividad antirradicalaria y capacidad reductora de extractos hidroalcohólicos de polen corbicular de las zonas biogeográficas de bosque húmedo y muy húmedo premontano, en los departamentos de Quindío y Tolima, como contribución al estudio de los productos naturales de interés apícola y como modelo de trabajo para estudios posteriores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

Se recolectaron un total de 63 muestras de polen corbicular colectado por *Apis mellifera* L., en dos zonas de vida (Figura 1). Se consideraron 37 muestras de bosque húmedo premontano (*bh-PM*; 800 a 2000 m.s.n.m; precipitación anual 1000-2000 mm/año; sensación térmica 17-24°C), 26 muestras de bosque muy húmedo premontano (*bmh-PM*; 800 a 2000 m.s.n.m; precipitación anual 2000-4000 mm/año; sensación térmica 17-24°C). En el Cuadro 1, se muestran las zonas de muestreo y la información geográfica asociada. Las muestras del sector de Cajamarca abarcan dos consociaciones biogeográficas. La muestra de Ibagué esta asociada al bosque húmedo premontano.

### Frecuencias polínicas

El proceso de clasificación de las cargas de polen en cada una de las muestras estudiadas,

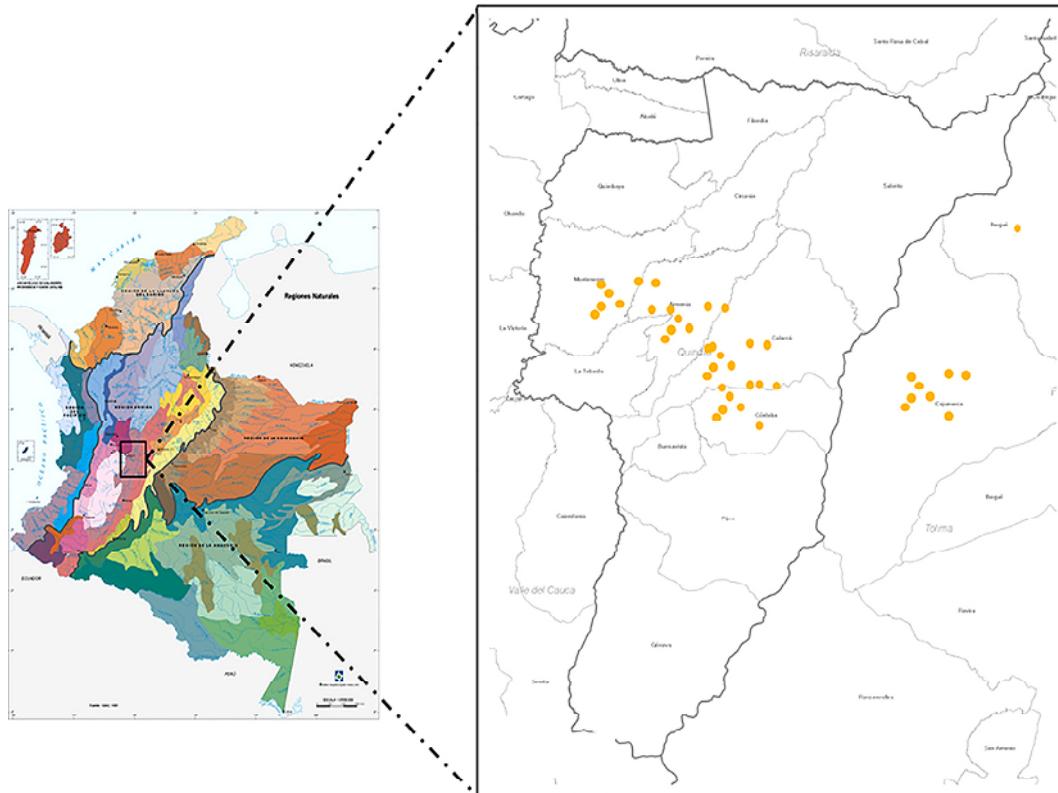


Figura 1. Posicionamiento geográfico de los departamentos de Quindío y Tolima y las zonas asignadas al muestreo de polen corbicular.

se realizó de forma manual y bajo estereoscopio, una fracción de polen fresco de  $2,0 \pm 0,1$  g de muestra homogenizada, usando una lámpara lupa tipo Hammer™ (Tecgnology and Tools) con tamaño de lente de 90 mm; dioptría 3D+12 y lámpara fluorescente compacta T4 12 W (Modelo FJ1209 LL8092). Cada una de las tonalidades separadas fue codificada, siguiendo los estándares de la guía internacional de colores, Pantone 747XR, (Salamanca, *et al.*, 2011). Una vez separadas las cargas cromáticas se adelantó una valoración microscópica con la intención de relacionar los tipos polínicos como componentes de las cargas de cada una de las muestras. La técnica de acetólisis, fue implementada siguiendo la metodología descrita en la literatura, (Borja, *et al.*, 2011). El proceso de preparación y limpieza de los granos durante la acetólisis se realizó mediante centrifugado en la unidad Dynac™ 297C a 3500-4000 rpm por 20 min, la composición de las cargas separadas y acetolizadas fueron analizadas en un microscopio Olympus™ Modelo CX21FS1, con aumento de 10, 40 y 100

X y disposición de acople para cámara digital (Motic™) y software Motic Image Plus™ 2.0 ML. El proceso de separación y los protocolos de trabajo melitopalínológico siguiendo los criterios de Louveaux, *et al.*, (1978).

### Extractos

Para la obtención de extractos hidroalcohólicos de polen (EHAPo) se realizaron operaciones de lixiviación. En todos los casos se pesaron  $2,0 \pm 0,1$  g de polen seco y se homogenizaron con 15 mL de etanol al 70% a  $50^{\circ}\text{C}$ , en baño de agua marca Dubnoff BT56, durante 45 min con agitación constante. A continuación, los lixiviados se filtraron, centrifugaron y almacenaron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de análisis, conforme a las directrices de Carpes, *et al.*, (2007). A 2 mL de los EHAPo's, le fue removido el solvente determinando la fracción seca, que se ha expresado en g de extracto seco por 100 mL y relacionados como extracto blando. La densidad de los extractos se determinó a partir del volumen y peso de los mismos.

Cuadro 1. Relación de muestras de polen corbicular de las regiones geográficas y zonas de vida colombianas consideradas en el estudio.

Zona de Vida Holdrige	Departamento	Municipio	<i>n</i>	LN	LO	ST °C	A m.s.n.m.	P mm/año	
<i>bh-PM</i>	Quindío	Calarcá	5	4°34'18"	75°42'28"	20	1431	1543	
			5	4°26'05"	75°41'42"	19	1656	1700	
		Montenegro	10	4°31'17"	75°48'33"	21	1234	2700	
			Ibagué	1	4°27'53"	75°08'01"	23	1270	2100
	Tolima			6	4°27'31"	75°23'45"	14	1946	1300
			Cajamarca	6	4°23'22"	75°26'33"	12	2004	1415
				4	4°22'09"	75°20'40"	15	1818	1580
<i>bmh-PM</i>	Quindío	Armenia	11	4°28'58"	75°42'03"	24	1315	2200	
		Génova	11	4°11'54"	75°47'09"	19	1617	2000	
	Tolima	Cajamarca	4	4°28'02"	75°22'39"	10	2213	1300	

*bh-PM*: bosque húmedo premontano. *n*: número de muestras. *bmh-PM*: bosque muy húmedo premontano. P: precipitación media anual. A: cota altitudinal. ST: sensación térmica. LN: latitud Norte. LO: longitud Oeste.

### Espectroscopia UV/Visible

Con el propósito de verificar las características de los extractos etanólicos de polen, se registraron sus espectros en el rango entre 200 y 400 nm, haciendo uso de cubetas de cuarzo de 10 mm de paso espectral, por medio del espectrofotómetro Beckman Coulter Du 800 y siguiendo los protocolos de la literatura (Cabral, *et al.*, 2012; Alencar, *et al.*, 2007).

### Fenoles y acidez total

Los compuestos fenólicos totales fueron determinados por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Morais, *et al.*, 2011; Kroyer y Hegedus, 2001), empleando ácido gálico (100 µg/mL) como patrón de referencia. A una alícuota de 100 µL de EHAPo, se le adicionaron 500 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10, pasados 2 minutos 400 µL de solución de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 7,5%. Luego de 60 minutos de incubación sin luz a temperatura ambiente se registró la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Biospectro, Modelo SP-22. El contenido de fenoles totales se expresó como equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g polen seco), la acidez total se determinó por microtitulación potenciométrica a pH 8,20.

### Flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado conforme a las directrices de Miliuskas, *et al.*, (2004), con las siguientes especificaciones: una alícuota de 50 µL de EHAPo se mezcló con 50 µL de cloruro de aluminio al 2% y 1150 µL de etanol absoluto, cuando fue necesario se realizó dilución de la muestra con etanol al 70%. Las muestras fueron homogenizadas e incubadas durante 40 min a temperatura ambiente protegiéndolos de la luz, la absorbancia fue medida a 415 nm en espectrofotómetro Biospectro, Modelo SP-22. El contenido de flavonoides fue calculado como mg equivalente de Quercetina/g de polen seco.

### FRAP

La capacidad reductora de los extractos se determinó mediante un ensayo de la capacidad del ion férrico en el complejo formado con 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), que se transforma a su forma ferrosa, en la presencia de antioxidantes, (Thaiponga, *et al.*, 2006). Se preparo solución tampón de acetato 300 mM pH 3.6, solución de HCl 40 mM, solución de TPTZ 10mM usando como solvente el HCl, solución de cloruro de hierro (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) 20 mM y solución Trolox 1000 µM. El reactivo FRAP fue preparado

en proporción 10:1:1, tampón acetato 300 mM pH 3.6, solución de TPTZ 10 mM y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM respectivamente. A alícuotas de 50  $\mu\text{L}$  de la muestra diluida se le adicionaron 950  $\mu\text{L}$  del reactivo FRAP. Las muestras fueron homogenizadas y dispuestas en baño de María a 37°C por 30 minutos. Las lecturas fueron realizadas a 593 nm en un espectrofotómetro Biospectro, Modelo SP-22. Para los cálculos finales fue empleada la curva de calibración de Trolox 500  $\mu\text{M}$ , siendo los resultados expresados en  $\mu\text{M}$  de Trolox por g de muestra.

### ABTS

A los fines de determinar la actividad antioxidante de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, basada en la reducción del radical  $[\text{ABTS}]^{+\cdot}$ , por antioxidantes presentes en extractos naturales (Dudonné, *et al.*, 2009; Surveswaran, *et al.*, 2007; Re, *et al.*, 1999), se utilizó el reactivo [(2,2'-azino-bis-) (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)] el radical  $[\text{ABTS}]^{+\cdot}$  fue generado a partir de la reacción del ABTS 7  $\mu\text{M}$  y persulfato de amonio 2,45  $\mu\text{M}$ , dejado a temperatura ambiente con agitación constante entre 12 a 16 horas en oscuridad. La solución de  $[\text{ABTS}]^{+\cdot}$  resultante, se diluyó en etanol absoluto hasta alcanzar una absorbancia de 0,700 a 0,800 a la longitud de onda de 750 nm. El volumen total de la reacción fue de 1.000  $\mu\text{L}$ , con un volumen fijo de 950  $\mu\text{L}$  de la solución  $[\text{ABTS}]^{+\cdot}$  y volúmenes del solvente y muestra diluida alcanzando 50  $\mu\text{L}$ . Las determinaciones fueron realizadas en la unidad espectrofotométrica Beckman Coulter™ DU 800 después de 6 minutos de incubación. La curva de calibración fue construida empleando diferentes concentraciones de la solución Trolox 500  $\mu\text{M}$ , a través de la reducción de las absorbancias del radical  $[\text{ABTS}]^{+\cdot}$ . Los resultados fueron expresados en mg equivalente de Trolox/g de muestra de polen.

### Conglomerados componentes principales y PLS-PATH

Con la información generada en el estudio de las propiedades fisicoquímicas arriba indicadas, se realizó un estudio de relaciones funcionales asociadas al origen geográfico, la densidad del extracto hidroalcohólico de polen corbicular (EHAPo), su capacidad reductora y potencial

de inhibición de radicales libres, considerando algunos trabajos reportados en la literatura (Álvarez y Salamanca, 2009, 2007; Pages y Tenenhaus, 2001).

### Estadística

Las muestras fueron analizadas por triplicado, evaluando en cada caso el promedio, desviación estándar, coeficientes de variación y las correspondientes determinaciones del análisis de varianza entre grupos de muestras por origen. Los resultados de los análisis para cada uno de los parámetros fueron ordenados verificando los índices de correlación, se planeó un análisis de conglomerados como índice de similitud de extractos, que se complementó con la proyección de un modelo de redes neuronales. El análisis estadístico se evaluó haciendo uso del paquete estadístico Statgraphics Centurión™ XVI (Versión 16.1.02), JMPPro11™ y XLSTAT™ 2014.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 63 muestras de polen corbicular de las zonas de Quindío y Tolima, han sido heterogéneas en su presentación, en cuanto a su composición, los granos de polen (cargas) acumulados en las colonias de abejas son de naturaleza multifloral, con prevalencia de 3 a 8 tipos distintos de polen con composición cromática variable. 34,9% de las muestras presentaron 6 tipos polínicos, entre 4 (19) y 5 (22,2) cargas el 41,2%.

La frecuencia más baja fue de 3 cargas (4,76%), la mayor diversidad se encontró en las muestras de Cajamarca. En los apiarios de Armenia, se han encontrado 18 frecuencias polínicas, con predominio de las tonalidades 154c (20,6), 153c (17,2), 146c (16,8) y 143c (14,6%). Los tipos polínicos de Calarcá, muestran 7 frecuencias polínicas que corresponden a las tonalidades 146c (34,8%), 131u (20,0%), 139c (17,3%), 141u (10,9%), 154c (7,60%) y 464u (9,40%); en Génova y Montenegro 23 y 17 frecuencias respectivamente, siendo afines las tonalidades 139c, 146 y 160u (Figura 2).

La mayor diversidad se presentó en las muestras del Tolima (Cajamarca e Ibagué), con 25 frecuencias polínicas y dominancia de las tonalidades 4635pc (12,9%), 126pc (10,8%) y 117pc (9,38%), siendo comunes los grupos 146c,

143c, 139c y 154c en las muestras evaluadas. Los tipos cromáticos corresponden a las familias *Asteraceae* (146c y 160u), *Myrtaceae* (143c, 146c y 125pc), *Rosaceae* (139c, 146c y 154c), *Bignoniaceae*, *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lauraceae* y *Solanaceae* (139c, 143c, 146c y 154c), que se relacionan con tonalidades café, marrón, amarillo y naranja, principalmente, los resultados son concordantes con los reportes de Salamanca, *et al.*, 2014. La variabilidad en la composición de los tipos polínicos incide en las propiedades fisicoquímicas finales del polen corbicular. El perfil cromático señala una mayor diversidad en muestras de polen corbicular del Tolima.

Los componentes solubles en etanol, son de tonos amarillo y amarillo naranja, en virtud a la solubilidad de xantofilas y compuestos fenólicos. La densidad media de los EHAPo's aunque son

diferentes, no presentan diferencias estadísticas significativas entre si, los valores observados son del orden de  $0,8840 \pm 0,01$  y  $0,8851 \pm 0,01$  g/mL para los extractos de las muestras de *bh-PM* y *bmh-PM*, respectivamente. Entre tanto en el extracto blando hay diferencias estadísticas significativas entre los grupos de muestras de acuerdo al origen que revelan 3 grupos distintos, ( $P_v < 0,05$ ). Los extractos blandos de mayor rendimiento, corresponden a las muestras del Quindío tipo 1 (Q1), con  $7,10 \pm 1,25$  g/100 mL que son comparables con las muestras del Tolima tipo 1 (T1:  $6,00 \pm 0,05$ ). Las categorías de EHAPo's del tipo 2 Quindío (Q2) y Tolima (T2), son dominantes al provenir del mayor número de muestras, Q2 con 37 (58,7;  $5,20 \pm 0,50$ ) y T2 con 18 (28,6%;  $5,00 \pm 0,50$  g/100 mL). En este sentido, las del tipo 3 Quindío y Tolima (Q3 y T3), son del orden de  $3,70 \pm 0,30$  a  $3,30 \pm 0,70$  g/100 mL, (Cuadro 2).

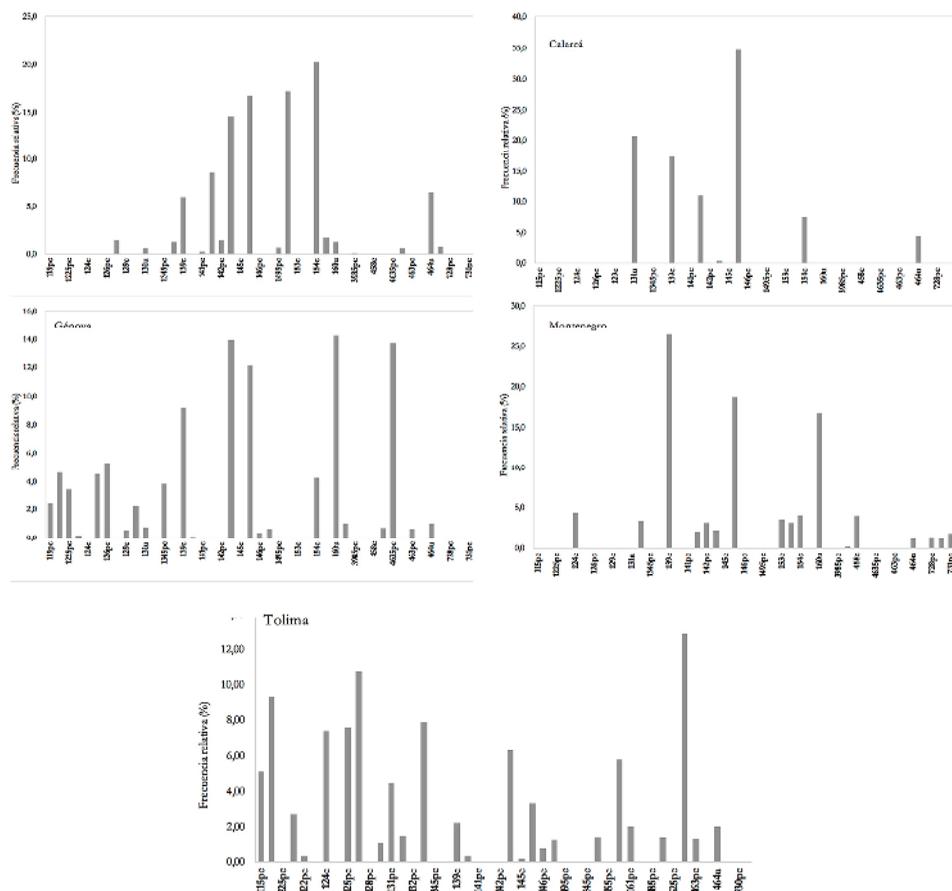


Figura 2. Frecuencias polínicas asociadas a la dominancia cromática de las cargas de polen corbicular de las zonas apícolas en los Departamentos del Quindío y Tolima.

El análisis de varianza revela diferencias estadísticamente significativas entre los extractos de muestras de los departamentos del Quindío y Tolima, pero también entre los grupos de muestras de las 2 zonas geográficas estudiadas, ( $P_v < 0,05$ ; Razón-F, 64,4). Estos parámetros revisten particular interés desde el punto de vista de la calidad de los extractos y existe un vacío en la literatura en relación al rendimiento de la fracción soluble, por ello los resultados se consolidan como un parámetro de referencia.

En relación al contenido fenólico de los EHAPo's, las concentraciones más elevadas se han presentado en las muestras de Cajamarca ( $25,3 \pm 6,81$ ) y Armenia ( $18,9 \pm 9,70$  mg EAG/g polen), diferencias que pueden ser explicadas si se tiene en cuenta la diversidad y oferta floral en los emplazamientos establecidos para el beneficio del producto, que consolidan polen corbicular multifloral y que para el caso del Tolima (Ibagué y Cajamarca), la diversidad es de 25 tipos polínicos diferentes. Las categorías para el contenido fenólico por departamento se agrupan en 5 tipos Q1 a Q5 (Quindío) y 4 T1 a T4 (Tolima).

Los tenores tipo 1 (Q1 y T1), presentan niveles superiores a 35 mg EAG/g de polen ( $37,2 \pm 3,90$  y  $35,7 \pm 7,40$ ), los contenidos más bajos se presentan en las categorías Q4, Q5 y T4, (Cuadro 3). Como complemento a lo expuesto, es importante notar que la acidez natural del polen está asociado no sólo a la presencia de ácidos grasos volátiles y

productos del metabolismo de algunos agentes microbianos naturales. En la literatura, se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos en polen que contienen grupos carboxilo en su estructura y le confieren propiedades ácidas como el caso de los ácidos caféico, ferúlico, *p*-coumárico y clorogénico, (Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007a, b).

En relación a los flavonoides, es importante considerar, que éstos compuestos usualmente se encuentran en su forma glucosilada y los azúcares asociados *D*-glucosa, *D*-galactosa y *L*-ramnosa, son los que suelen anclar la estructura de éstos metabolitos, (Campos, *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos asociados al polen, en general son metabolitos como Apigenina-7-*o*-glucósido, Luteolina-7-*o*-glucósido, Quercetina-3-glucósido, isoflavonas glucosiladas de Genisteina, dihidroflavonoides de Quercetina, Isorhamnetina-3-*o*-glucósido e Isorhamnetina-3-*o*-glucósido, derivados de los ácidos cinámicos (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015; Almaraz-Abarca, *et al.*, 2007).

Los ácidos clorogénicos, gálicos, ferúlicos, hidroxicinámicos, caféicos, han sido igualmente relacionados como metabolitos secundarios del polen, (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015; Chu, *et al.*, 2007; Serra-Bonvehí, *et al.*, 2001), así como isoquercetina, miricetina, tricetina, quercetina, luteolina, selangina, kaempferol e isoramnetina, (Kristerson, *et al.*, 2012). Extractos orgánicos de polen en solventes polares ponen en evidencia la presencia de éste tipo de compuestos a partir

Cuadro 2. Rendimiento del extracto blando del polen corbicular (EHAPo's) en muestras de Quindío y Tolima.

Departamento	Categoría	<i>n</i>	Extracto blando polen (g por 100 mL)		
			Mínimo	Máximo	Promedio $\pm$ ds
Quindío	Q1	2	6,00	8,60	$7,10 \pm 1,25^d$
	Q2	37	4,10	5,90	$5,20 \pm 0,50^b$
	Q3	3	3,20	3,90	$3,70 \pm 0,30^a$
Tolima	T1	1	6,00	6,15	$6,00 \pm 0,05^c$
	T2	18	4,10	5,95	$5,00 \pm 0,50^b$
	T3	2	2,50	3,90	$3,30 \pm 0,70^a$

Número de muestras (*n*). Letras diferentes en las columnas revelan las diferencias significativas con nivel de confianza del 95%. ds: desviación estándar. Q1 a Q3 y T1 a T3: muestras de zonas biogeográficas del Quindío y Tolima.

Cuadro 3. Valores medios de fenoles totales en extractos hidroalcohólicos de polen corbicular de las zonas de Quindío y Tolima.

Departamento	Categoría	n	E. Ácido Gálico (mg/g de polen)		
			Mínimo	Máximo	Promedio±ds
Quindío	Q1	2	32,5	42,1	37,2±3,90 <sup>f</sup>
	Q2	3	24,6	27,7	26,4±1,15 <sup>d,e</sup>
	Q3	5	16,9	26,2	22,0±2,90 <sup>c</sup>
	Q4	29	8,10	25,4	14,2±3,50 <sup>b</sup>
	Q5	3	6,53	10,0	8,70±1,50 <sup>a</sup>
Tolima	T1	3	29,5	45,4	35,7±7,40 <sup>f</sup>
	T2	9	18,7	32,2	26,0±3,50 <sup>e</sup>
	T3	7	20,0	31,5	23,3±2,90 <sup>c,d</sup>
	T4	2	10,8	17,4	14,1±3,40 <sup>b</sup>

Número de muestras (*n*). Letras diferentes en las columnas revelan las diferencias significativas con nivel de confianza del 95%. ds: desviación estándar. Q1 a Q5 y T1 a T4: muestras de zonas biogeográficas del Quindío y Tolima.

de las determinaciones con cloruro de aluminio y 2,4-D, (Salamanca *et al.*, 2007). El uso de cloruro de aluminio en determinaciones de algunos tipos de flavonoides, como es el caso de flavonas, flavonoles y flavanonas se encuentra bien documentado, (Salamanca, *et al.*, 2007; Kosalec, *et al.*, 2004). El complejo entre tipos de flavonoides tipo apigenina, crisina y luteonina, los flavonoles rutina, morina, quercetina, miricetina, kaempferol, quercetina y galangina, se expresan a través del complejo estable con un máximo de absorción a 415 nm, (Pallab, *et al.*, 2013; Pal, *et al.*, 2009).

Tres categorías de valores se han presentado en la determinación de flavonoides; con una mayor concentración en las muestras del Tolima, que son significativamente mayores en relación con las del Quindío. Al igual que en fenoles, las mayores concentraciones en los EHAPo's se presentan en las muestras de Cajamarca. La concentración media en atención al origen en los EHAPo's es mayor en Cajamarca respecto de las muestras de Ibagué que a su vez son mayores en relación a los extractos de polen de Armenia, Montenegro y Calarcá, (Cuadros 4 y 5). Una correlación lineal positiva entre extractos blandos y su contenido de fenoles y/o flavonoides puede resultar relevante en el diagnóstico de calidad de EHAPo's.

Los resultados de la evaluación de extractos hidroalcohólicos de polen de las muestras

colombianas, son similares al comportamiento de los extractos alcohólicos de polen brasileros, pero no en cantidad. En esos extractos los tenores en fenoles oscilan entre 19,3 y 48,9 mg GAE/g de polen, con un valor medio de 30,8±8,22, (Carpés, *et al.*, 2009) que es mayor al observado en el presente trabajo.

No obstante, los promedios encontrados son similares a los reportes observados en los extractos de polen austriacos, cuyos tenores son del orden de 24,6 mg GAE/g de polen (Kroyer y Hegedus, 2001). Los extractos etanólicos de polen monoflorales de la zona de Bahía en el nordeste brasiler, para las especies *Cecropia*, *Eucalyptus*, *Elaeis*, *Mimosa pudica*, *Eupatorium* y *Scoparia*, mostraron amplia variabilidad en su fracción fenólica en diferentes periodos. Algunos de los valores reportados oscilan entre 59,9±0,80 y 188,6±1,70 mg EAG/g, (Kristerson, *et al.*, 2012) en diferentes periodos del año. Estos valores son similares a los reportados en muestras del estado Paraná, (Carpés, *et al.*, 2009), en muestras rumanas se han observado valores similares a los reportados para el caso colombiano, desde 8,32 a 22,7 mg GAE/g de muestra.

En extractos alcohólicos de polen argentinos (Aloisi y Ruppel, 2014), el contenido de flavonoides oscila entre 50,5 y 109,2 y 51,7 y 163,9 mg EAG/g, en dos entornos diferentes, situación que revela diferencias en la

Cuadro 4. Valores medios para el contenido de flavonoides en extractos hidroalcohólicos de polen corbicular de las zonas geográficas de Quindío y Tolima.

Departamento	Categoría	n	(mg Eq. Quercetina/g de polen)		
			Mínimo	Máximo	Promedio±ds
Quindío	QF1	4	5,04	6,08	<sup>a</sup> 5,50±0,40
	QF2	28	2,00	4,95	<sup>b</sup> 2,80±0,70
	QF3	10	1,40	1,99	<sup>c</sup> 1,80±0,10
Tolima	TF1	3	7,54	8,49	<sup>d</sup> 8,00±0,30
	TF2	2	5,65	5,79	<sup>a</sup> 5,70±0,10
	TF3	16	2,0	4,96	<sup>f</sup> 3,50±0,80

Número de muestras (n). Letras diferentes en las columnas revelan las diferencias significativas con nivel de confianza del 95%. ds: desviación estándar. QF1 a QF3 y TF1 a TF3: muestras de zonas biogeográficas del Quindío y Tolima.

Cuadro 5. Contenido medio de la fracción de fenoles y flavonoides en extractos Hidroalcohólicos de polen y por localidad.

Localidad	FT±ds	FLV±ds
Armenia	18,9±9,70 <sup>b</sup>	3,30±1,66 <sup>b</sup>
Cajamarca	25,3±6,81 <sup>c</sup>	4,32±1,80 <sup>c</sup>
Calarcá	12,2±2,18 <sup>a</sup>	2,33±0,30 <sup>a</sup>
Génova	18,3±6,15 <sup>b</sup>	2,56±0,78 <sup>a,b</sup>
Ibagué	23,3±6,17 <sup>c</sup>	3,87±1,22 <sup>c</sup>
Montenegro	17,1±5,95 <sup>b</sup>	3,03±1,10 <sup>a,b</sup>
Total	19,5±8,01	3,29±1,55
Razón-F	14,3	9,89
Valor-P	< 0,05	< 0,05

FT: fenoles totales (mg de Ácido Gálico/g).  
FLV: flavonoides (mg Eq. Quercetina/g polen).  
ds: desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna representan valores con diferencias estadísticas significativas.

composición de la fracción flávica en relación al origen geográfico y por ende al botánico. Esto puede evidenciarse además a partir de los resultados de las evaluaciones de extractos alcohólicos de pólenes monoflorales chilenos. La especie *Quillaja saponaria*, demostró la presencia de un mayor contenido de fenoles en relación a *Echinopsis chilensis* y *Schinus polygamus*, (Montenegro, et al., 2013).

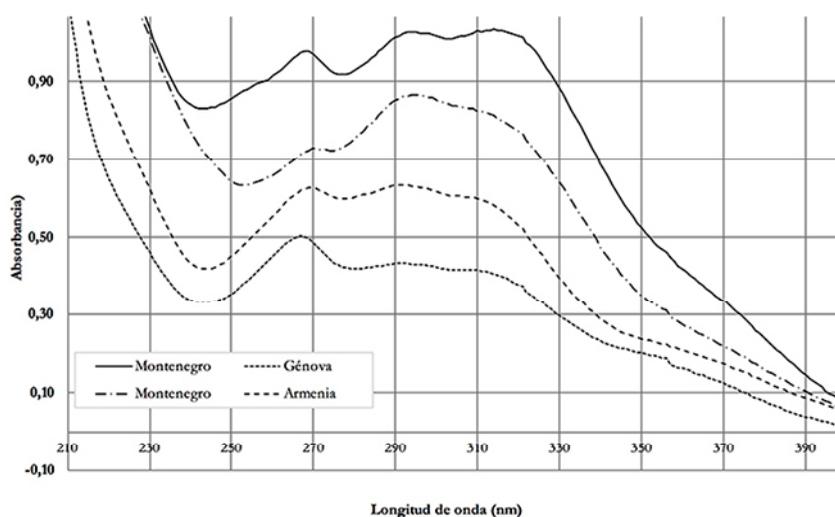
La condición austral en Chile propicia el desarrollo de un tipo de flora muy diferente a la observada en zona de trópico. Se sugiere considerar aspectos del orden fisiológico en plantas, que con mayor área foliar expresan una mayor acumulación de antioxidantes, debido a factores de entorno, (Gao, et al., 2010).

La presencia de fenoles y derivados de ácidos, como también la de flavonoides, en principio podrían evidenciarse a partir de sus

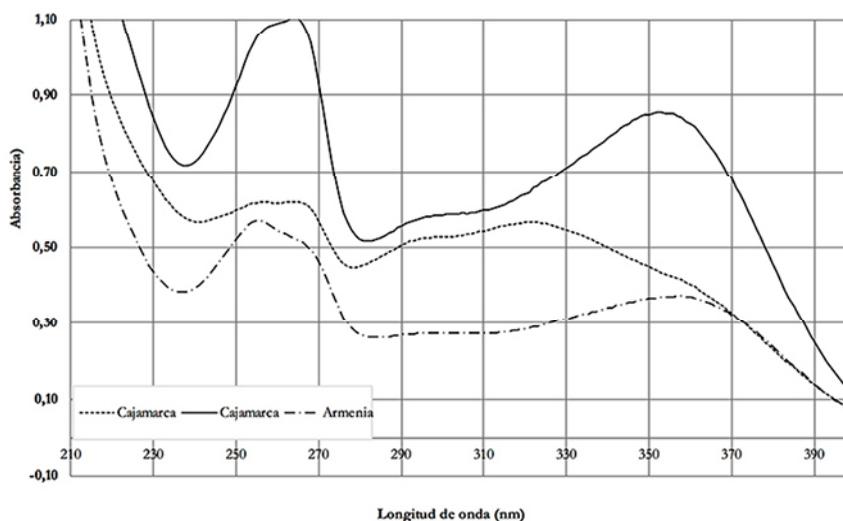
espectros UV. En cromatografía de líquidos la detección se realiza haciendo uso de sistemas electrónicos con arreglo de diodos, (Campos, *et al.*, 2003). Los espectros UV, de extractos, ponen en evidencia la presencia y dominancia de éstos compuestos, (Carpés, *et al.*, 2009). Las principales absorciones de los ácidos fenólicos y sus derivados de flavonoides, se presentan entre 200 y 400 nm. Los espectros UV de EHAPo's colombianos, se muestran en la Figura 3. Las bandas de absorción y sus longitudes de onda máxima son coincidentes con otros reportes de la literatura, para ácidos fenólicos

identificados a través de sistemas de detección en HPLC, con arreglo de diodos (DAD), en ácidos dihidroxibenzoicos, caféico, ferúlico e isoferúlico, (Kao, *et al.*, 2011) y para flavonas y flavonoles sustituidos en sus banda I y II, que son característicos de flavonoides, (Carpés, *et al.*, 2009; Campos, *et al.*, 2003).

Los ácidos y derivados de ácido cinámico (AC) y ácido benzoico (AB), son significantes en la evaluación del poder reductor; sus derivados hidroxilados presentan diferencias importantes en su poder reductor, siendo los mayores en



A



B

Figura 3. Espectros UV-Vis de los extractos hidrolcoólicos de polen corbicular de muestras de Quindío y Tolima. **A.** Perfiles asociados a tipos de ácidos fenólicos sustituidos, **B.** Flavonas y flavonoles hidroxilados.

los derivados del ácido cinámico que en los benzoicos. Estas diferencias se han explicado teniendo en cuenta aspectos estructurales de sus moléculas y la presencia de hidroxilos y sus efectos estéricos, (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015). Los derivados (AB) *n*-hidroxilados exhiben una mayor capacidad reductora respecto de los dihidroxiderivados tipo *o*-dihidroxilados y *n*-hidroxilación.

La fracción de ácidos fenólicos del polen se ha estimado en 0.20%, (Rzepecka-Stojko, *et al.*, 2015). La variabilidad en la capacidad reductora de los EHAPo's de muestras colombianas en principio puede ser explicada en términos de su capacidad reductora FRAP, en una escala de 16,2±4,00 a 52,8±5,20 a favor de los grupos Q1 (52,8±5,20) > T1 (43,8±2,00) mg Trolox/g de polen, (Cuadro 6).

Mientras que para la capacidad antirradicalaria ABTS en una escala de 8,50±1,10 a 34,2±1,80 a favor de los grupos QA1 (34,2±1,80) > TA1 (22,0±1,60) mg Trolox/g de polen, (Cuadro 7). Este mismo parámetro en función del origen por localidad, se presentan diferencias estadísticas significativas entre muestras del mismo sector, con 30,6±7,10 mg Trolox/g de polen, que es

mayor a los promedios de Armenia Calarcá, Génova y Montenegro, (Cuadro 8).

Los EHAPo's analizados en éste trabajo revelan una considerable actividad antirradicalaria, que puede ser explicada teniendo en cuenta la concentración de fenoles totales, flavonas y flavonoles, (Cuadros 8 al 10), donde se relacionan los parámetros respecto de su origen biogeográfico y por localidad. Los resultados se validan tomando como referencia otros trabajos reportados en la literatura, (Kristerson, *et al.*, 2012; Carpés, *et al.*, 2009). La baja actividad antioxidante y antirradicalaria, puede estar relacionada con una reducida concentración de compuestos fenólicos.

El análisis de los resultados recién expuestos y sus interrelaciones presentan correlaciones lineales positivas. Una concentración elevada de flavonoides, se corresponde con el contenido de fenoles totales, que a su vez representa elevada capacidad reductora. La pendiente de la curva de la relación fenoles-FRAP es de 1,23 y la de Fenoles-Flavonoides es de 0,117. En este caso la relación es de la forma:  $FLV=0,117C_{x1}+1,015$ , en la expresión es  $FRAP=1,23C_{x2}-2,373$ , siendo  $C_{x1}$  y  $C_{x2}$  las concentraciones de fenoles, como equivalentes de ácido gálico (EAG mg AG/g).

Cuadro 6. Valores estadísticos básicos asociados al test de capacidad reductora (FRAP) de los extractos hidroalcohólicos de polen corbicular.

Departamento	Categoría	n	FRAP		
			mg Trolox/ g de polen		
			Mínimo	Máximo	Promedio±ds
Quindío	Q1	2	46,8	56,1	52,8±5,20 <sup>h</sup>
	Q2	4	23,9	38,7	32,0±4,20 <sup>f</sup>
	Q3	7	20,6	29,6	24,0±2,70 <sup>d</sup>
	Q4	23	10,1	19,9	13,0±2,50 <sup>b</sup>
	Q5	6	5,30	9,97	8,10±1,80 <sup>a</sup>
Tolima	T1	2	41,4	45,9	43,8±2,00 <sup>g</sup>
	T2	9	30,2	38,2	33,4±1,90 <sup>f</sup>
	T3	8	24,6	29,9	27,4±1,40 <sup>e</sup>
	T4	2	11,3	19,7	16,2±4,00 <sup>c</sup>

Número de muestras (n). Letras diferentes en las columnas revelan las diferencias significativas con nivel de confianza del 95%. Q1 a Q5 y T1 a T4: Muestras de zonas biogeográficas del Quindío y Tolima.

Cuadro 7. Valores estadísticos básicos asociados a la capacidad antirradicalaria (ABTS) de los extractos hidroalcohólicos de polen corbicular.

Departamento	Categoría	<i>n</i>	ABTS (mg Eq. Trolox/g de polen)		
			Mínimo	Máximo	Promedio±ds
Quindío	QA1	4	32,3	36,6	34,2±1,80 <sup>g</sup>
	QA2	11	10,1	16,2	12,7±2,10 <sup>d</sup>
	QA3	14	5,03	9,73	6,70±1,80 <sup>b</sup>
	QA4	13	3,30	4,99	4,40±0,45 <sup>a</sup>
Tolima	TA1	8	20,0	24,8	22,0±1,60 <sup>f</sup>
	TA2	11	13,1	19,9	17,0±2,10 <sup>e</sup>
	TA3	2	7,50	9,60	8,50±1,10 <sup>c</sup>

Número de muestras (*n*). Letras diferentes en las columnas revelan las diferencias significativas con nivel de confianza del 95%. ds: desviación estándar. QA1 a QA4 y TA1 a TA3: muestras de zonas biogeográficas del Quindío y Tolima.

Cuadro 8. Contenido medio de los indicadores de capacidad reductora (FRAP) y antirradicalaria (ABTS) de extractos etanólicos de polen corbicular.

Localidad	FRAP±ds	ABTS±ds
Armenia	20,3±15,7 <sup>b</sup>	12,1±11,3 <sup>b</sup>
Cajamarca	30,6±7,10 <sup>c</sup>	17,9±4,30 <sup>c</sup>
Calarcá	11,8±2,22 <sup>a</sup>	5,67±2,35 <sup>a</sup>
Génova	17,9±8,00 <sup>b</sup>	9,29±4,51 <sup>b</sup>
Ibagué	28,5±2,30 <sup>c</sup>	18,4±1,80 <sup>c</sup>
Montenegro	18,8±7,71 <sup>b</sup>	9,00±3,43 <sup>a,b</sup>
Total	21,6±11,2	11,9±7,38
Razón-F	17,3	18,4
Valor-P	< 0,05	< 0,05

FRAP (mg Eq. Trolox/g). ABTS (mg Eq. Trolox/g). Letras diferentes en la misma columna representan valores con diferencias estadísticas significativas. ds: desviación estándar.

Cuadro 9. Contenido medio de la fracción de fenoles, flavonoides, capacidad reductora (FRAP) y antirradicalaria (ABTS) de extractos etanólicos de polen corbicular por zona de vida.

Zona de vida	FT±ds	FLV±ds	FRAP±ds	ABTS±ds
<i>bh-PM</i>	19,7±8,00 <sup>a</sup>	3,49±1,70 <sup>b</sup>	22,4±9,91 <sup>c</sup>	12,1±6,50 <sup>d</sup>
<i>bhm-PM</i>	19,2±8,10 <sup>a</sup>	3,04±1,29 <sup>b</sup>	20,4±12,7 <sup>c</sup>	11,6±8,51 <sup>d</sup>
Total	19,5±8,01	3,29±1,55	21,6±11,2	11,9±7,38
Razón-F	19,5	2,58	0,94	0,14
Valor-P	0,73	0,11	0,33	0,71

Cuadro 10. Relación de cargas polínicas, extracto blando, fracción fenólica e indicadores de capacidad antioxidante de extractos etanólicos de polen corbicular.

Origen	Cargas	EHAPo's <sup>1</sup>	Fenoles <sup>2</sup>	Flavonoides <sup>3</sup>	FRAP <sup>4</sup>	ABTS <sup>5</sup>
Armenia	8	4,49±0,89	23,5±2,64	3,72±0,21	30,4±0,81	15,8±0,24
	4	5,33±0,38	14,1±1,38	5,19±0,15	13,0±2,09	4,55±0,08
	3	5,77±0,03	15,8±0,27	1,90±0,10	12,1±1,27	4,87±0,51
	4	5,27±0,08	16,1±1,78	3,80±0,06	20,3±0,34	5,36±0,07
	7	4,25±0,10	35,1±2,64	5,91±0,14	42,8±4,06	33,2±0,82
	3	4,81±0,21	39,3±2,79	5,86±0,22	55,7±0,39	35,3±1,29
	5	5,75±0,18	12,9±0,04	1,48±0,08	9,50±0,48	5,07±0,16
	6	3,28±0,01	13,9±0,64	1,99±0,20	12,9±1,26	4,88±0,03
	4	5,87±0,49	16,3±1,01	1,73±0,05	10,6±1,46	8,68±0,48
	8	5,45±0,26	11,5±0,48	2,49±0,13	5,77±0,24	4,21±0,16
7	5,88±0,07	9,16±1,07	2,13±0,11	10,0±0,52	10,4±0,04	
Cajamarca	5	4,46±0,31	17,0±0,34	2,99±0,02	26,9±0,48	15,2±0,35
	7	5,58±0,25	24,1±0,96	5,72±0,07	34,1±1,31	24,4±0,41
	5	4,82±0,07	11,2±0,45	2,53±0,02	12,9±1,64	9,52±0,08
	5	4,92±0,07	28,8±3,21	4,22±0,26	40,5±5,49	20,5±0,67
	5	5,36±0,16	25,7±3,30	3,48±0,08	32,1±0,44	17,1±0,59
	3	3,48±0,91	21,5±1,18	3,00±0,26	29,7±1,69	20,3±0,25
	6	5,22±0,42	29,9±0,39	4,16±0,07	28,4±0,53	19,1±0,28
	6	5,60±0,35	29,5±2,66	7,75±0,22	31,9±0,91	14,2±0,15
	6	6,14±0,01	25,6±0,81	8,01±0,16	33,4±0,30	19,8±0,15
	4	5,24±0,37	24,6±0,71	4,87±0,09	26,9±0,11	20,0±0,78
	6	5,63±0,39	22,4±0,06	8,25±0,24	32,7±2,52	16,5±0,05
	6	4,64±0,13 <sup>a</sup>	27,1±0,46	3,94±0,41	30,2±1,85	20,5±0,42
	6	5,56±0,03	21,9±0,84	2,63±0,03	28,0±0,55	16,5±0,17
	5	5,71±0,25	20,4±0,31	2,05±0,05	27,5±2,49	7,54±0,02
	7	5,01±0,11	22,4±3,67	4,35±0,01	19,4±0,31	14,9±0,26
	5	4,38±0,25	28,1±3,41	3,43±0,44	37,9±3,40	23,6±0,67
	4	4,37±0,02	38,2±7,23	3,94±0,05	33,8±0,02	22,3±1,10
6	3,94±0,42	24,2±1,93	3,12±0,10	25,8±1,16	16,1±0,27	
5	4,87±0,14	38,9±5,90	4,52±0,10	40,7±2,46	21,3±1,07	
6	4,07±0,20	24,9±2,32	3,43±0,57	39,0±5,76	19,9±0,96	
Calarcá	7	5,27±0,47	13,2±0,60	2,67±0,09	12,4±0,63	4,15±0,22
	6	5,19±0,72	13,3±0,86	2,31±0,21	14,2±2,52	9,31±1,53
	6	4,87±0,23	15,8±1,24	2,45±0,19	12,6±0,89	4,35±0,21
	6	6,68±1,90	11,7±1,12	2,69±0,21	15,3±0,87	4,79±0,51
	6	5,53±0,19	12,1±1,09	2,40±0,01	10,6±0,01	5,27±0,12
	6	4,95±0,05	10,3±2,21	2,07±0,28	10,8±0,08	10,7±0,39
	7	5,42±0,16	11,7±0,35	2,11±0,01	10,7±0,55	4,40±0,52
	4	4,81±0,08	12,4±0,32	2,27±0,38	12,4±0,71	4,81±0,19
	6	4,71±0,06	9,86±0,15	2,31±0,12	10,2±0,94	5,23±0,10
	6	6,39±2,00	12,1±3,18	2,06±0,09	8,44±0,39	3,80±0,22

../... continúa

.../... continuación Cuadro 10.

Cuadro 10. Relación de cargas polínicas, extracto blando, fracción fenólica e indicadores de capacidad antioxidante de extractos etanólicos de polen corbicular.

Origen	Cargas	EHAPo's <sup>1</sup>	Fenoles <sup>2</sup>	Flavonoides <sup>3</sup>	FRAP <sup>4</sup>	ABTS <sup>5</sup>
Genova	6	5,74±0,11	11,5±0,81	1,78±0,06	12,8±0,58	5,25±0,11
	6	5,88±0,19	15,9±3,58	1,62±0,02	12,9±0,50	5,13±0,05
	4	5,31±0,06	14,1±1,16	1,94±0,15	12,7±1,10	4,65±0,20
	4	5,53±0,20	15,1±1,17	1,82±0,03	9,71±0,36	4,91±0,13
	4	5,09±0,24	8,03±1,50	2,28±0,29	5,45±0,16	3,42±0,14
	4	5,71±0,01	27,1±0,06	3,55±0,14	30,4±1,06	12,7±1,10
	6	5,03±0,10	19,4±0,52	3,23±0,27	17,7±5,12	11,8±0,47
	7	5,77±0,42	22,3±2,53	3,64±0,06	26,6±4,88	13,6±0,25
	5	5,26±0,08	26,1±1,59	3,50±0,22	23,2±1,51	11,2±0,13
	8	5,54±0,45	21,3±4,09	2,24±0,06	23,4±0,06	15,9±0,34
	5	5,10±0,38	20,2±0,01	2,61±0,06	22,8±1,10	13,7±0,61
Ibagué	6	5,22±0,67	23,3±6,17	3,87±1,22	28,5±2,30	18,4±1,80
	5	4,87±0,07	19,1±2,26	2,75±0,19	20,9±3,95	8,91±0,21
	6	4,35±0,15	12,8±0,29	3,80±0,15	9,85±0,22	8,79±0,11
	8	5,02±0,02	25,9±0,02	5,18±0,04	33,8±0,83	4,83±0,21
	6	5,34±0,14	22,9±2,67	4,59±0,36	26,9±3,11	12,9±0,27
	7	4,03±0,11	12,3±0,27	2,63±0,20	13,5±2,77	5,48±0,09
	4	5,52±0,19	14,1±0,80	2,74±0,14	15,9±0,68	9,27±0,46
	5	4,37±0,24	12,5±1,50	2,23±0,14	10,6±0,46	4,52±0,04
	5	3,53±0,29	8,21±1,06	1,84±0,13	14,2±1,39	9,03±0,11
	5	5,07±0,19	24,1±0,03	2,19±0,34	23,7±1,67	15,5±0,06
	6	5,41±1,24	19,4±0,51	2,38±0,09	18,4±1,42	10,6±0,53

<sup>1</sup>Extracto etanólico de polen al 70% (g/100mL). <sup>2</sup>Fenoles (mg GAE/g polen). <sup>3</sup>Flavonoides (mg quercetina/ g polen). <sup>4</sup>Capacidad reductora (mg Trolox/g polen). <sup>5</sup>Actividad antirradicalaria (mg Trolox/g polen). Grupos de la misma letra representan tipos de muestras con diferencias estadísticamente significativas al 95%. Notaciones con letras (<sup>a,b</sup>) diferentes en la misma columna detonan diferencias entre en los valores medios.

Estas mismas correlaciones entre Flavonoides y su actividad antirradicalaria (ABTS), se ajusta a la regresión de la forma  $FLV=2,7624C_{x3} + 2,8326$ , pero el coeficiente de correlación es bajo, ( $R^2: 0,33582$ ), aquí  $C_{x3}$  es la concentración de flavonoide como equivalentes de quercetina. No obstante, la relación Fenoles-ABTS, es de la forma  $Fenoles = 0,7467C_{x4} - 2,6209$  ( $R^2: 0,65695$ ), donde  $C_{x4}$  corresponde a la concentración de fenoles como Eq. Acido gálico/g de polen. La Figura 4, ilustra la relaciones para cada una de las observaciones descritas.

El análisis de componentes principales (CP) de los parámetros analizados, genera 5 CP, que permiten explicar la variabilidad de los EHAPo's en un plano de dos dimensiones de las variables

rotadas (Figura 5). El Cuadro 11, recoge los 5 componentes. El porcentaje acumulado en el segundo componente es de 61,45. La matriz de correlaciones entre parámetros se muestra en el Cuadro 12. Se resaltan las relaciones entre fenoles, flavonoides y los indicadores de la capacidad reductora e inhibición de radicales libres.

El análisis de conglomerados muestra tres grupos de EHAPo's, según su origen geográfico y por zona de vida (Figura 6). La estructura final del clúster resulta de alguna manera compleja si se observa en detalle, pues esta representa la relación entre muestras. En este sentido, es importante considerar los indicadores de actividad antirradicalaria (ABTS), capacidad

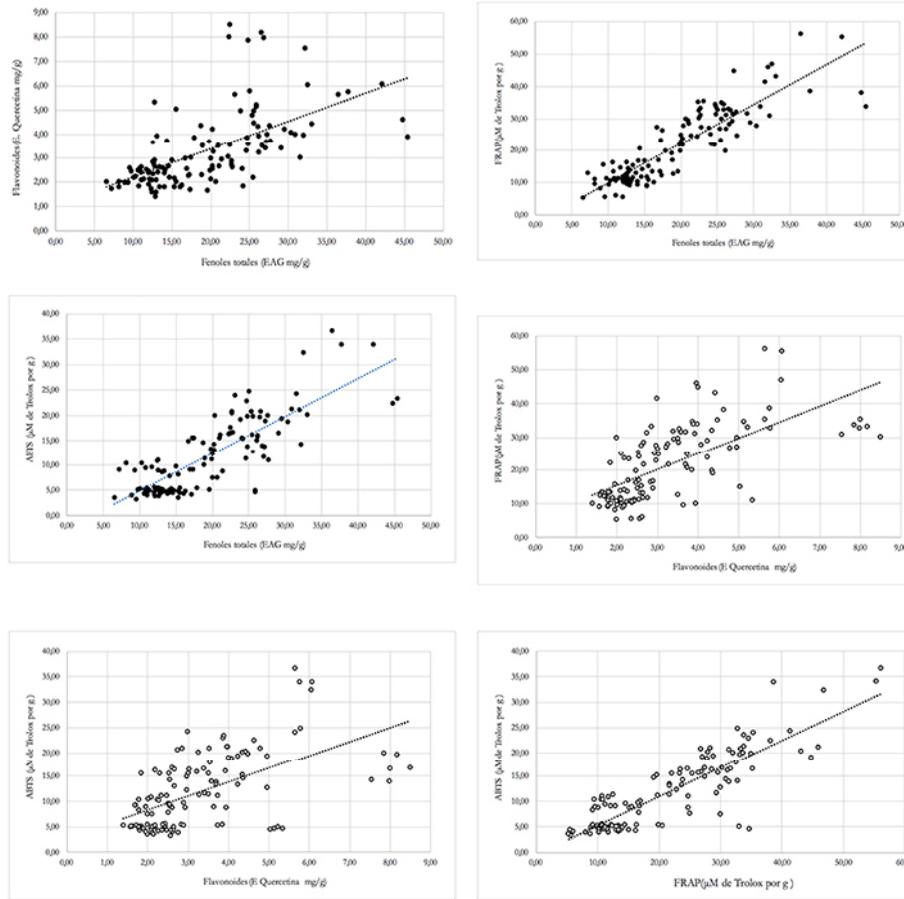


Figura 4. Representación de las relaciones entre parámetros relacionados con la fracción fenólica, los flavonoides, la actividad reductora y antirradicalaria.

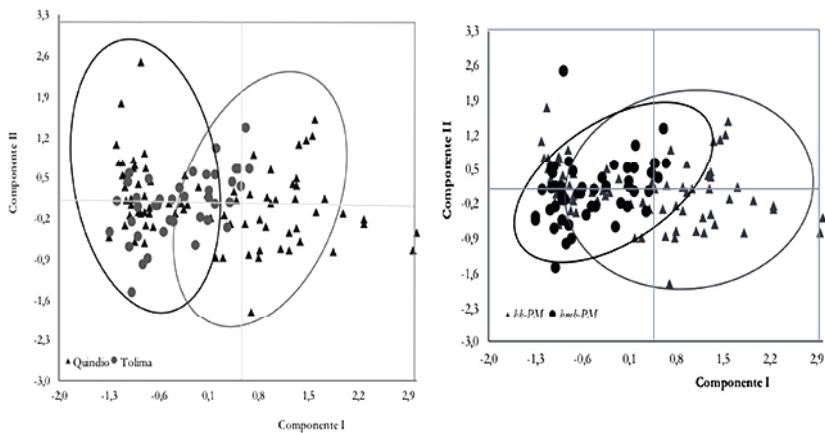


Figura 5. Representación del análisis factorial de los parámetros asociados a extractos hidroalcohólicos de muestras de polen corbicular. A. Departamento, B. Zona de vida.

Cuadro 11. Valores propios asociados al análisis de componentes principales.

Componentes	Valor propio	Variabilidad (%)	%Acumulado
F1	3,262	40,77	40,77
F2	1,654	20,68	61,45
F3	1,072	13,41	74,86
F4	0,509	10,45	85,39
F5	0,510	6,373	91,70

F1 a F5: Componentes del Análisis de Componentes principales.

Cuadro 12. Matriz de correlaciones de Pearson de los parámetros asociados a las características de extractos hidroalcohólicos del polen corbicular.

Parámetros	T. Polen	Densidad	EBL	A. Total	Fenoles	FLV	FRAP	ABTS
<b>T. Polen</b>	1,000							
<b>Densidad</b>	0,128	<b>1,000</b>						
<b>EBL</b>	0,177	<b>0,545</b>	<b>1,000</b>					
<b>A. Total</b>	0,104	0,060	-0,089	<b>1,000</b>				
<b>Fenoles</b>	-0,096	0,062	-0,028	-0,132	<b>1,000</b>			
<b>FLV</b>	0,049	0,121	0,065	-0,107	<b>0,606</b>	<b>1,000</b>		
<b>FRAP</b>	-0,099	0,072	-0,102	-0,128	<b>0,811</b>	<b>0,659</b>	<b>1,000</b>	
<b>ABTS</b>	-0,092	0,086	-0,186	-0,064	<b>0,811</b>	<b>0,579</b>	<b>0,864</b>	<b>1,000</b>

T.Polen: cargas de polen. EBL: extracto blando. A. Total: acidez total. FLV: flavonoides. FRAP: capacidad reductora. ABTS: actividad antirradicalaria.

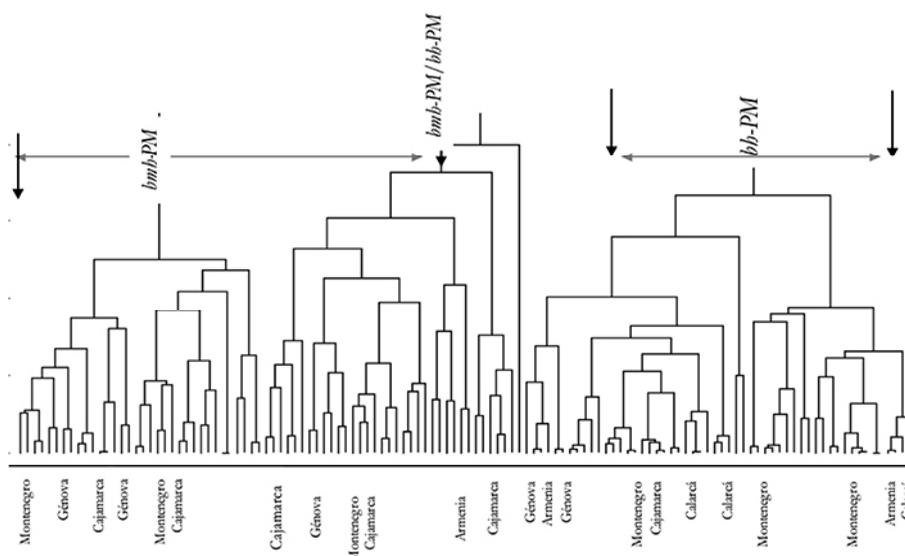


Figura 6. Representación del análisis de conglomerados generados a partir del contenido de fenoles flavonoides y la capacidad reductora y actividad antirradicalaria de extractos etanólicos de polen corbicular.

reductora (FRAP) y el contenido de fenoles y flavonoides de las muestras analizadas y agrupadas en subniveles, (Cuadros 3 al 8). No obstante, el dendograma señala los grupos de muestras con características análogas, pero se revela el origen y su zona de vida, adicionalmente se describe la presencia de muestras de los dos entornos biogeográficos que presentan propiedades similares, este comportamiento se puede explicar teniendo en cuenta los periodos de oferta floral para polen en las zonas de estudio y los índices de similitud de Jaccard, (Salamanca, *et al.*, 2014).

La implementación de un sistema modelo mediante PLS-PATH para la relación entre la capacidad reductora y actividad antirradicalaria, el origen y la calidad de los extractos de polen corbicular, se ha desarrollado, para identificar la relación entre variables latentes y sus indicadores. El modelo estructural ha partido de tablas múltiples. El diagrama revela la correlación entre el origen del polen corbicular

y el poder reductor de los componentes en los EHAPo's (Corr.:0,21) y los componentes causantes de la actividad y capacidad de los fenoles y flavonoides de éstos mismos extractos (Corr.:0,528). La correlación de las fracciones fenólicas, la acidez total y la capacidad reductora y actividad antirradicalaria en significativa (Corr.:0,857), la diversidad polínica y composición del polen corbicular según el origen, definen la calidad de los extractos y rendimiento en la extracción de metabolitos con actividad y capacidad reductora. La proyección factorial de los EHAPo's se ilustra en la Figura 7.

Como complemento a las observaciones y exposición de resultados, vale indicar que los EHAPo's adicionalmente a los componentes fenólicos y flavonoides, contienen tipos de pigmentos que contribuyen en la determinación del poder antioxidante. La presencia y actividad de compuestos bioactivos esta influenciada por factores de entorno.

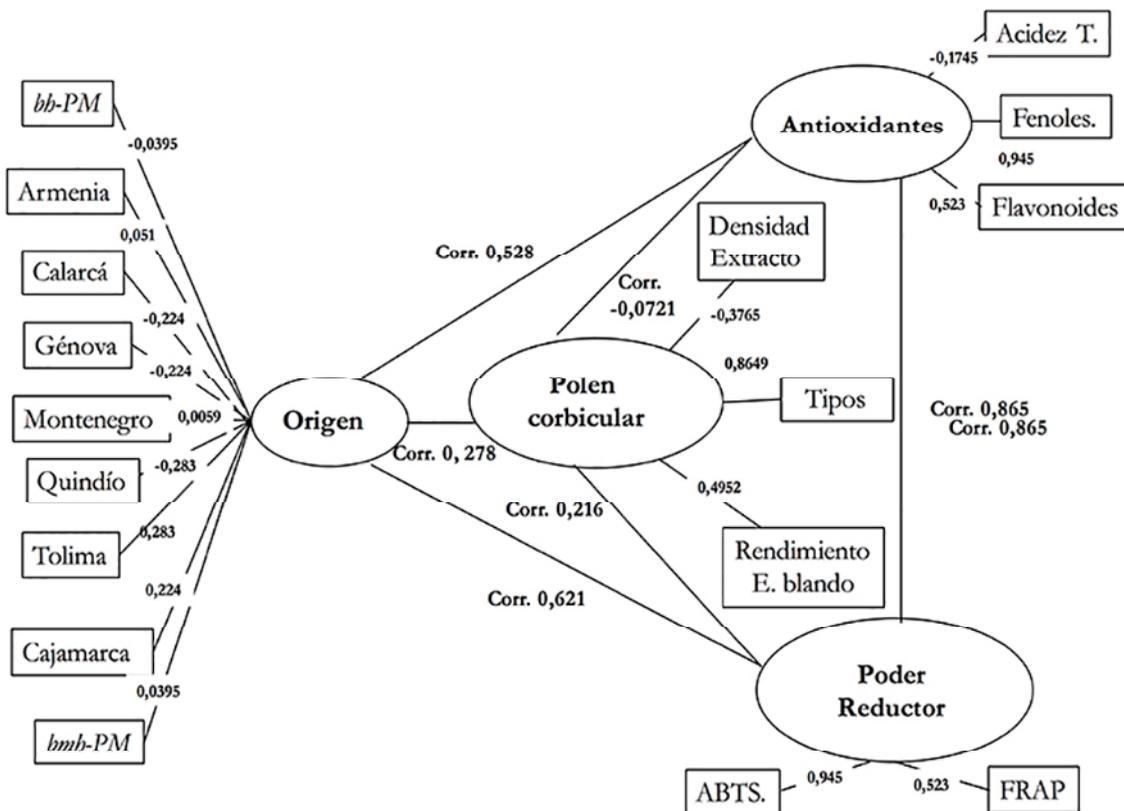


Figura 7. Relaciones PLS-PATH entre el origen biogeográfico de tipos de polen corbicular, los componentes de la actividad antirradicalaria y la capacidad reductora de extractos hidroalcohólicos.

## CONCLUSIONES

Las muestras colectadas por las abejas en las dos zonas de vida son del tipo multifloral, con amplia variabilidad en la composición cromática en virtud a la biodiversidad en la oferta polinifera que marca la relación planta insecto con mayor variabilidad en muestras de bosque húmedo premontano de la zona de Cajamarca, con predominio de taxones botánicos de tonos café, marrón, amarillos y naranja, correspondientes a las familias *Asteraceae*, *Myrtaceae*, *Rosaceae*, *Bignoniaceae*, *Brassicaceae*, *Euphorbiaceae*, *Lauraceae* y *Solanaceae*, principalmente. La variabilidad de los tipos polínicos que constituyen las cargas polínicas inciden en las propiedades fisicoquímicas finales de los extractos, la densidad, rendimiento y calidad del extracto blando.

Los componentes solubles presentan tonalidades del amarillo al amarillo naranja. El rendimiento de los extractos blandos y la densidad de los mismos en relación al origen biogeográfico no presenta diferencias marcadas, no así el aporte de metabolitos, la fracción fenólica revela una importante propiedad antioxidante, complementaria al contenido de flavonoides, que ha sido estimada frente a estándares de referencia y que han permitido comparar la calidad de los extractos con otros trabajos reportados en la literatura. El perfil espectrofotométrico confirma la presencia de estructuras fenólicas y flavonoides sustituidos, de los cuales deriva su poder reductor y su actividad antirradicalaria con una marcada correlación entre el origen y sus componentes.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a los apicultores de las localidades de Cajamarca, Ibagué y Armenia, en particular a Jorge Saavedra y Abdón Salazar Méndez, por su acompañamiento y apoyo en el proceso de colecta de las muestras. A Silvana Pugine y las Dras. Mariza Pires de Melo y Catarina Abdalla Gomide de los departamentos de Ciencias Básicas y Zootecnia, de la Facultad de Zootecnia e Ingeniería de Alimentos de la Universidade de Sao Paulo (Pirassununga, Brasil), por la acogida y asesoría en el proceso de evaluación de los parámetros analíticos. A Marisol Campuzano

Castellanos, Luis Carlos Casas Restrepo, por su apoyo en la fase de caracterizaciones cromáticas y análisis polínico. A la Universidad del Quindío por el apoyo económico para la estancia en Brasil. A Colciencia por el apoyo económico a través del programa de Jóvenes investigadores e Innovadores. Finalmente expresamos toda nuestra gratitud a los evaluadores del artículo y los colaboradores permanentes de la Revista Zootecnia Tropical, por las observaciones, sugerencias y recomendaciones al documento final durante el proceso de arbitraje.

## LITERATURA CITADA

- Alencar, S. M., T. L. C. Oldoni, M. L. Castro, I. S. R. Cabral, C. M. Costa-Neto, J. A. Cury, P. L. Rosalen, M. Ikegaki. 2007. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *J. Ethnopharmacol.*, 113(2): 278-283.
- Aličić, D., D. Šubarić, M. Jašić, H. Pašalić, D. Ačkar. 2014. Antioxidant properties of pollen. *Hrana u zdravlju i bolesti, znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 3(1):6-12.
- Almaraz-Abarca, N., M. Campos, A. Delgado-Alvarado, J. A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera-Corral, A. F. Tomatas, A. J. Almeida, A. Vieira. 2007a. Fenoles del polen de *Stenocactus*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Cactaceae). *Polibotánica*, 23:37-55.
- Almaraz-Abarca, N., M. Campos, J. A. Ávila-Reyes. 2007b. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(2): 119-124.
- Almaraz-Abarca, N., M. G. Campos, J. A. Ávila-Reyes, N. Naranjo-Jiménez, J. Herrera, L. S. González-Valdés. 2004. Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *Interciencia* 29(10): 574-578.
- Almeida-Muradian, L. B., L. C. Pamplona, S. Coimbra, M. O. Barth. 2005. Chemical composition and botanical evaluation

- of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, Rome, 18(1):105-111.
- Aloisi y Ruppel, 2014. Propiedades bioactivas y nutricionales del polen apícola de la provincia del Chubut, Argentina. *Revista de investigaciones agropecuarias. RIA* (14):3, 296-302.
- Ângelo, P. M., N. Jorge. 2007. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. *Instituto Adolfo Lutz*, 66:1-9.
- Araujo, P. W. B., L. J. Q. Junior, H. D. Vasconcelos, J. R. G. S. Almeida. 2005. Flavonóides e hipertensão. *Revista Brasileira de Hipertensão*, 12(3): 188-189.
- Álvarez, L. H. R., G. G. Salamanca. 2009. Metodología de análisis sensorial de alimentos multivariado utilizando regresión partial least squares (RPLS) y el análisis factorial múltiple robusto (AFMROB). *Revista De La Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos: Alimentos Hoy. Rev. Asociación Colombiana De Ciencia y Tecnología de Alimentos Acta*, 17: 5D1.
- Álvarez, L. H. R., G. G. Salamanca. 2007. Caracterización de mieles a través del análisis factorial múltiple y el modelamiento PLS PATH". **En:** Ecuador In: *Alimentos ciencia e Ingeniería*, 16(1): 311-314.
- Aksoy, L., E. Kolay, Y. Agilönü, Z. Aslan, M. Kargiooglu. 2013. Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(3):235-239.
- Basim, E., H. Basim, M. Özcan. 2006. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77: 992-996.
- Bogdanov, S. 2011. Pollen: Production, nutrition and health: A Review, (November). pp. 1-29.
- Bogdanov, S. 2004. Quality and standards of pollen and beeswax. *Apiacta*, 38: 334-34.
- Borja, P. F., G. G. Salamanca, S. Guzmán, M. Osorio. 2011. Validación de especies Botánicas de interés apícola a partir de Colección de referencia. *Memorias de 46 Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. ACCB. Medellín. Colombia.*
- Cabral, I.S.R., T. L. C. Oldoni, S. M. Alencar, P. L. Rosalen, M. Ikegaki. 2012. The correlation between the phenolic composition and biological activities of two varieties of Brazilian propolis (G6 and G12). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3): 557-564.
- Campos, M. G., R. F. Webby, K. R. Markham, K. A. Mitchall, A. P. Cunha. 2003. Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3): 742-745.
- Carpes, S. T., R. Begnini, S. M. Alencar. 2007. Study of preparations of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(6): 1818-1825.
- Carpes, S. T. 2008. Estudo das características Físico-Químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis mellifera* L. da região Sul do Brasil. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Sector de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.
- Carpes, S. T., B. G. Mourão, M. S. Alencar, L. M. Mansson. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 47(2): 154-161.
- Cartaya, O., I. Reynaldo. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2): 5-14.
- Chantarudee, A., P. Phuwapraisirisan, K. Kimura, M. Okuyama, H. Mori, A. Kimura, C. Chanchao. 2012. Chemical constituents and free radical scavenging activity of corn pollen collected from *Apis mellifera* hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 45.

- Chu, Q., X. Tian, L. Jiang, J. Ye. 2007. Application of capillary electrophoresis to study phenolic profiles of honeybee-collected pollen. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 31: 8864-8869.
- Ciappinni, M. C., F. Stoppani, R. Martinez, M. Álvarez. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 19: 45-51.
- Cimpoi, C., A. Hosu, V. Miclaus, A. Puscas. 2013. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta A, Mol Biomol Spectrosc*, 100:149-154.
- Crozier, A., I. B. Jaganath, M. N. Clifford. 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports*, 26:1001-1043.
- Cushnie, T. P. T., A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26:343-356.
- Del Risco, R. C. 2004. Polen-pan de abejas: Composición, nutrición, acción en la salud humanaymicrobiología, Cuba. Disponible en: <http://www.agroparlamento.com/agroparlamento/notas.asp?n=2308>. [Jun. 10, 2015].
- Dornas, W. C., T. T. Oliveira, R. G. Rodrigues-das-dores, A. F. Santos, T. J. Nagem. 2007. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 28: 241-249.
- Dudonné, S. X., P. Vitarc, Coutière, M. Willez, J. Mérillon. 2009. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 57: 1768-1774.
- Duthie, G. G. 2003. Antioxidants. *Medicine*, 31: 25-26.
- Fatrocová-Šramková, K., J. Nozková, M. Kačániová, M. Máriássyová, K. Rovná, M. Stričík. 2013. Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48:133-138.
- Feás, X., M. P. Vázquez-Tato, L. Estevinho, J. A. Seijas, A. Iglesias. 2012. Organic bee pollen: Bioactive compounds, antioxidante activity and microbiological quality. *Molecules*, 17: 8359-8377.
- Freire, K. R. L., C. S. Lins, M. C. Dórea, A. R. Santos, A. C. Camara, M. S. Silva. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17: 1652-1664.
- Gao, W., D. Schmoltdt, J. R. Slusser. 2010. UV radiation in global climate change. Tsinghua University Press, Beijing. 544 p.
- Gobert, M., M. Damon, D. Durand. 2013. Stress oxydant et qualités nutritionnelles des produits animaux. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 48(5): 225-232.
- Guo, J., P. Zhang, Z. Zhang. 2009. Studies on chemical constituents from bee-collected rape pollen. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 34(10): 1235-1237.
- Graikou, K., S. Kapeta, N. Aligiannis, G. Sotiroidis, N. Chondrogianni, E. Gonos, I. Chinoul. 2011. Chemical analysis of greek pollen-Antioxidant, antimicrobial and proteosome activation properties. *Chemical Central Journal*, 5(33): 2-9
- Hernández, L. J., V. C. Reyes. 2012. Origen botánico, propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de polen corbicular colectado por *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) en la zona de bosque altoandino de Boyacá. Trabajo de grado. Programa de Licenciatura en Educación Básica con énfasis en Ciencias Naturales y Educación Ambiental. Facultad de Ciencias de la Educación. Universidad del Tolima. Colombia.
- Hossain, M. A., S. M. Rahman. 2011. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International*, 44(3): 672-676.

- Hung-Ju, C., B. S. Baskaran Inbaraj, C. Bing-Huei. 2012. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. *International Journal of Molecular Science*, 13(1): 260-285.
- Kao, Y. T., M. J. Lu, C. Chen. 2011. Preliminary analyses of phenolic compounds and antioxidant activities in tea pollen extracts. *Journal of Food Drug Analysis* 19: 470-477.
- Kacániová, M.; N. V. Chlebo, P. Hascík, K. Rovná, J. Cubon, M. Dzukan, A. Pasternakiewicz. 2012. The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Archives of Biological Science*, 64(3): 927-934.
- Ketkar, S., A. Rathore, S. Lohidasan, L. Rao, A. Paradkar, K. Mahadik. 2014. Investigation of the nutraceutical potential of monofloral Indian mustard bee pollen. *Journal of Integrative Medicine*, 12(4): 379-389.
- Kosalec, M., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., Kne. S.V. 2004. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica-Zagreb*, 54(1): 65-72.
- Kostic, A. Z., B. B. Miroljub, S. P. Stanojevic, D. M. Milojkovic-Opsenica, Z. Tesic, B. Sikoparija, P. Radisic, M. Prentovic, M. Pesic. 2015. Physicochemical composition and techno-functional properties of beepollen collected in Serbia. *LWT - Food Science and Technology*, 62: 301-309.
- Kroyer, G., N. Hegedus. 2001. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2:171-174.
- Kristerson, R. L., A. Freire, C. S. Lins, M. C. Dórea, A. R. Santos, C. A. Camara, T. S. M. Silva. 2012. Palynological Origin, Phenolic Content, and Antioxidant Properties of Honeybee-Collected Pollen from Bahia, Brazil. *Molecules*, 17(2): 1652-1664.
- LeBlanc, B. W., O. K. Davis, S. Boue, A. DeLucca, T. Deeby. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4): 1299-1305.
- Leja, M., A. Mareczek, G. Wyzgolik, J. Klepacz-Baniak, K. Czekonska. 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry*, 100(1): 237-240.
- Louveaux, J., A. Maurizio, G. Vorwohl. 1978. Methods of melisopalynology. *Bee world*, 59:139-157.
- Marchini, C. L., D. V. Acassio dos Reis, C. A. Carmelo. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência rural*, 36(3): 949-953.
- Miliauskas, G., P. R. Venskutonisa, T. A. Beek. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2): 231-237.
- Mohdaly, A del A. A., A. A. Mahmoud, M. H. H. Roby, I. Smetanska, M. F. Ramadan. 2015. Phenolic Extract from Propolis and Bee Pollen: Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39: 538-547.
- Montenegro, G., R. Pizarro, E. Mejias, S. Rodríguez. 2013. Evaluación biológica de polen apícola de plantas nativas de Chile. *Phyton (B. Aires)*, 82(1): 7-14.
- Morais, M., L. Moreira, X. Feás, L. M. Estevinho. 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: palynological origin, phenolic content, antioxidante properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5): 1096-1101.
- Nagai, T., R. Inoue, H. Inoue, N. Suzuki. 2002. Scavenging capacities of pollen extracts from *Cistus ladaniferus* on autoxidation, superoxide radicais, hydroxyl radicais, and DPPH radicais. *Nutrition Research*, 22: 519-526.
- Nogueira, C., Iglesias, A., Feás, X., Estevinho, L. M. 2012. Commercial bee pollen with different geographical origins: A

- comprehensive approach. *International Journal of Molecular Science*, 13(9): 11173-11187.
- Stanciu, O., L. Mârghitaş, D. Dezmirean, M. Campos. 2009. Macro- and oligomineral elements from honey bee collected pollen and beebreak harvested from Transylvania (Romania). *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary*, 66 (1/2):276-283.
- Pages, J., M. Tenenhaus. 2001. Multiple factor analysis combined with PLS path modelling. Application to the analysis of relationships between physicochemical variables, sensory profiles and hedonic judgements. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 58: 261-273.
- Pal, D., S. Sannigrahi, U. Mazumder. 2009. Analgesic and anticonvulsant effects of saponin isolated from the leaves of *Clerodendrum infortunatum* Linn. in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47: 743-747.
- Pascoal, A., S. Rodrigues, A. Teixeira, X. Feás, L. M. Estevinho. 2013. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63: 233-239.
- Pallab, K., B. K. Tapan, P. K. Tapas, K. Ramen. 2013. Estimation of total flavonoids content (tfc) and anti oxidant activities of methanolic whole plant extract of *biophytum sensitivum* linn. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 3(4): 33-37.
- Pérez-Pérez, E. M., P. Vit, E. Rivas, R. Sciortino, A. Sosa, D. Tejada, A. J. Rodríguez-Malaver. 2012. Antioxidant activity of four color fractions of bee pollen from Mérida, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 62(4): 375-380.
- Pinheiro, P. F., G. C. Justino. 2012. Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. Chapter 2. Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds – A Review of Spectroscopic Applications. INTECH Open Access Publisher, ISBN9535102966. pp. 33-51.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Min Yang, C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Rzepecka-Stojko, A., J. Stojko, A. Kurek-Górecka, M. Górecki, R. Kubina, A. Mozdzierz, E. Buszman. 2015. Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20(12): 21732-21749.
- Salamanca, G., T. M. Osorio, R. L. Casas. 2014. Origen botánico y dominancia cromática de las cargas de polen corbicular colectado por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en cuatro Zonas biogeográficas colombianas. *Zootecnia Tropical*, 32(4): 377-390.
- Salamanca, G., T. M. Osorio O. M. Gutiérrez. 2011. Sistema trazable en el proceso de extracción y beneficio del polen corbicular colectado por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en la zona Altoandina de Boyacá. *Zootecnia Tropical*, 29(1): 127-138.
- Salamanca, G. G., C. I. Correa, J. Principal. 2007. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Tropical*, 25(2): 95-102.
- Sarmiento, T., C. Amorin, A. da Silva, J. Barbosa-Filho, E. Samento, B. Magalhães, F. Ribeiro. 2006. Chemical composition and free scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Duke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 507-511.
- Saxena, M., J. Saxena, A. Pradhan. 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 16(2) No. 28: 130-134.
- Sayas, R. R., M. L. Huamán. 2009. Determinación de la flora polinífera del Valle de Oxapampa (Pasco – Perú) en base

- a estudios palinológicos. *Ecología aplicada*, 8(2): 53-59.
- Serra-Bonvehí, J., M. Soliva Torrentó, E. Centelles Lorente. 2001. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1848-1853.
- Silva, T. M., C. A. Camara, A. C. Lins, M. F. Agra, E. M. Silva, T. Reis, B. M. Freitas. 2009. Chemical composition, botanical evaluation and screening of radical scavenging activity of collected pollen by the stingless bees *Melipona rufiventris* (Uruçu-amarela). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81(2): 173-178.
- Surveswaran, S., Y. Z. Cai, H. Corke, M. Sun. 2007. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3): 938-953.
- Thaiponga, K., U. Boonprakoba, K. Crosbyb, L. Cisneros-Zevallosc, D. Byrned. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC essays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7): 669-675.
- Vit, P. 2009. Origen botánico y propiedades medicinales del polen apícola. *Revista médica de la Extensión Portuguesa. ULA*, 3(1): 27-34.

## Nota Técnica

# Utilización del NIM para el control biológico de la garrapata en ganado vacuno

## Using NIM for the biological control of ticks in cattle

Fátima Arteaga<sup>1</sup>, Ernesto Hurtado<sup>1\*</sup>, Nadia Mendoza<sup>1</sup> y Julio Velásquez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López, Área Agropecuaria, Carrera Pecuaria, Calceta, Ecuador. \*Correo electrónico: ernestohurta@gmail.com.

### RESUMEN

Con el objeto de evaluar el uso de NIM en el control biológico de la garrapata en ganado vacuno, fueron analizados 48 animales mestizos de pesos similares. Los componentes de la planta de Nim (semilla y hoja) se recolectaron en los alrededores de la hacienda La Palizada, ubicada en el cantón Bolívar, Ecuador; estos componentes fueron secados y molidos para la obtención del preparado. Utilizando un diseño en bloques al azar con un arreglo de tratamiento factorial (4x3) y de acuerdo a la combinación de los niveles de los factores involucrados se obtuvo el factor A: partes de la planta de Nim (hoja, semilla, hoja + semilla), niveles de testigo (productos químicos comerciales: Amitraz, Piretroide y Clorpirifos) así como un factor B: dosis utilizadas del biopreparado (50, 100 y 150 g/l). La variable de respuesta evaluada fue el número de garrapatas muertas encontradas por región anatómica del animal: cuello, dorso, miembros anteriores y posteriores, laterales torácicos abdominales y vientre; realizando una prueba de medias en los factores con diferencias estadísticas (Tukey al 5%). Igualmente se obtuvo la relación costo-beneficio. Los resultados arrojaron que la mezcla hoja + semilla con dosis de 150 g/l fue de mayor efectividad en comparación a las partes individuales (hojas y semillas) a un 5% de significancia; mientras el control que empleó el uso de acaricidas comerciales, fue superior. Se concluye que la eficacia de la mezcla y su bajo costo representan una alternativa en el control biológico de la garrapata.

**Palabras Clave:** *Azadirachta indica* A, *Boophilus microplus*, ectoparásitos, bovino, región anatómica, acaricidas.

Recibido: 18/08/15 Aprobado: 09/10/16

### ABSTRACT

In order to evaluate the use of Nim in the biological control of ticks in cattle, crossbreed 48 animals of similar weights were used. The components of the plant Nim (seeds and leaves) were collected around the hacienda Palisade, located in the canton Bolivar, Ecuador; which they were dried and ground to obtain the preparation. Using a randomized block design with factorial arrangement of (4x3) the treatments was used according to the combination of the levels of the factors involved. The factor A: parts of the plant Nim (leaf, seed, leaf + seed), witness levels (chemicals commercial: Amitraz, pyrethroid and chlorpyrifos), as well as a factor B: dose used of bioproduct (50, 100 and 150g/l), the response variable was assessed number of dead ticks by anatomical region of the animal: neck, back, front and hind legs, abdominal thoracic side and belly. Average test was performed on the factors with statistical differences (Tukey 5%). The cost-benefit was obtained. The results showed that the mixture sheet + seed dose of 150g/l, was more effective that compare leaves and seeds to 5% significance; while the control that employed the use of commercial pesticide, was higher. It is concluded that the effectiveness of the mixture and its low cost represent an alternative for the biological control of the ticks.

**Key words:** *Azadirachta indica* A, *Boophilus microplus*, ectoparasites, cattle, anatomical region, acaricides.

## INTRODUCCIÓN

El extracto botánico o componente químico Azadirachtin proveniente del Nim (*Azadirachta indica*), árbol perteneciente a la familia Meliaceae y originario de los países tropicales del sudeste asiático (CATIE, 1993), presentan propiedades insecticidas y farmacológicas ampliamente documentadas con gran potencial de sostenibilidad en los sistemas de producción de las regiones tropicales. Los compuestos activos de esta planta se encuentran con mayor concentración en las semillas y son la base para la preparación de una amplia variedad de insecticidas orgánicos, incluyendo garrapaticidas (FIA, 2009).

Las propiedades cicatrizantes de la planta fueron reportadas por García y Dublín (2007), quienes encontraron un efecto positivo del Nim sobre el proceso de cauterización de las heridas, al observar 100% de granulación luego de las 72 horas post tratamiento.

El Nim no genera resistencia en los insectos, ya que la mezcla compleja de ingredientes activos, impide que estos adquieran inmunidad (López y Estrada, 2005); las sustancias activas del Nim en el control de plagas no son venenosas para el hombre, otros mamíferos, aves y fauna benéfica del campo; no tiene persistencia por más de dos días y no deja residualidad en el suelo o en el medio ambiente. Las sustancias en conjunto tienen efectos repelentes en los insectos e inhiben el crecimiento y la fecundidad normal de estos (Hoja Técnica, 1987).

Ante ese potencial insecticida que el árbol de Nim ha presentado, su extracto podría utilizarse para el control de las principales parasitosis que atacan al ganado bovino, principalmente la garrapata (*Boophilus microplus*). De esta última, se conoce su amplia propagación en el ganado bovino en regiones tropicales y subtropicales. La consecuencia de su parasitismo es abordada por Ortiz *et al.* (2012), quienes mencionan pérdidas directas que incluyen morbilidad y mortalidad de animales, reducción en la producción de carne y leche, así como pérdidas indirectas representadas por la aplicación de tratamientos y el establecimiento de medidas de control, además de las restricciones para la comercialización de productos.

Por otra parte, en los últimos años se ha señalado el grado de tolerancia que crean los animales contra la eficiencia de los pesticidas de origen químico, como consecuencia de su alto uso (Fiel, 2005). Así como, el riesgo que enfrentan los consumidores de productos de origen animal, al estar potencialmente expuestos a consumir residuos de sustancias con cierto grado de toxicidad (Restrepo, 2015).

Debido a los problemas relacionados con el uso de garrapaticidas de origen químico, se han realizado estudios en los que se ha comprobado el efecto repelente del extracto de Nim sobre garrapatas y moscas (García *et al.*, 1994). Rice (1993) del mismo modo señala la eficacia de los extractos etanólicos y acuosos del Nim, para controlar *Boophilus microplus*.

De acuerdo a lo anterior, es evidente la necesidad de alternativas efectivas, económicamente accesibles y capaces de preservar los principios agroecológicos con el fin de evitar el acúmulo de residuos tóxicos en los alimentos y en el medio ambiente. Por esto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el uso de Nim (*Azadirachta indica* A.) en el control biológico de la garrapata (*Boophilus microplus*) en el ganado bovino de doble propósito.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la Hacienda "LA PALIZADA" ubicada en el cantón Bolívar, de la provincia de Manabí, Ecuador; con temperaturas promedios de 25,5°C, 78% de humedad relativa y 1.300mm de precipitación media anual (Estación Meteorológica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López).

### Material experimental

Se recolectaron las semillas y hojas del árbol de Nim (*Azadirachta indica*) con condiciones homogéneas, en los alrededores de la hacienda La Palizada.

El proceso del biopreparado de las distintas partes consistió en un secado al sol, durante tres a cuatro horas por la mañana en un lapso de cuatro días. Posteriormente se mantuvo a la sombra una semana; a continuación se realizó la molienda hasta obtener partículas pequeñas

de aproximadamente 1-2mm. Cada una de las dosis fue almacenada en paños finos con su respectivo peso, colocados luego en envases de 20 litros con agua, dejándolo reposar por 12 horas. Seguidamente se procedió a colocar en la bomba manual para su respectiva aplicación.

### Manejo de los animales

48 machos mestizos de doble propósito con pesos similares, fueron sometidos a un conteo previo de garrapatas en las zonas anatómicas: cuello, dorso, miembros anteriores y posteriores, laterales torácicos abdominales y vientre. Estos animales fueron identificados con pintura en spray según el tratamiento aplicado. Nuevamente y después de la aplicación del tratamiento fueron sometidos a un conteo de garrapatas, en las regiones anatómicas arriba descritas. Este procedimiento fue realizado cada siete días durante un mes, determinándose así la cantidad respectiva de garrapatas, en cada caso.

### Diseño experimental

Bajo un diseño en bloques al azar se arreglaron los tratamientos de acuerdo a la combinación de los niveles de los factores involucrados. El factor A: partes de la planta de Nim (hoja, semilla, hoja + semilla), niveles de testigo (productos químicos comerciales: Amitraz, Piretroide y Clorpirifo) y factor B: dosis utilizadas del biopreparado (50, 100 y 150 g/l), con un total de 12 tratamientos (animal x tratamiento) y 4 replicas, la variable de respuesta medida fue: número de garrapatas vivas por región anatómica del animal (lateral izquierdo y derecho del cuello, área dorsal, miembros anteriores, miembros posteriores, laterales torácico-abdominal y área ventral). Luego de esto, fue determinado el porcentaje de efectividad de los tratamientos, por medio de la relación entre número de garrapatas vivas y muertas. Cuyo modelo lineal aditivo se describe a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \delta_k + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$ : Observación i-ésimo tratamiento en el del j-ésimo bloque

$\mu$ : Media general

$\alpha_i$ : Efecto del i-ésimo tratamiento.  $i = 1, 2, 3 \dots 12$

$\beta_j$ : Efecto del j-ésimo bloque.  $J = 1, 2, 3, 4$

$\alpha\beta_{ij}$ : Efecto de la interacción de primer orden del i-ésimo nivel del factor A con el j-ésimo nivel del factor B.

$\delta_k$ : Efecto del k-ésimo bloque

$\varepsilon_{ijk}$ : Efecto aleatorio o error experimental

La prueba de medias de rango múltiple de Tukey al 5% fue realizada como consecuencia de la significancia de los tratamientos.

### Relación Costo-Beneficio

Para estudiar la factibilidad económica de los tratamientos utilizados se evaluó la relación costo beneficio, determinando los costos generados por el procesamiento de las distintas partes de la planta de Nim.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Número de garrapatas vivas y porcentaje de garrapatas muertas por región anatómica

#### Laterales del cuello (Derecho e izquierdo)

Se observó un efecto altamente significativo del tratamiento ( $P \leq 0,01$ ) sobre la variable número de garrapatas del cuello. En el Cuadro 1 se observan las medias y el error estándar del número de garrapatas y el porcentaje de efectividad por tratamiento, con la comparación respectiva. Se observó una mayor eficacia de los productos comerciales en comparación a los componentes del árbol de Nim, con porcentajes de efectividad mayores al 98% ( $P \leq 0,05$ ). Esto refleja el poder de los productos químicos en el combate de los ectoparásitos. Sin embargo, de los tratamientos compuestos por el árbol de Nim, el correspondiente a la combinación hoja+semilla, destacó por ser superior en todas las dosis utilizadas, al compararlo con los tratamientos formados por componentes simples, siendo la aplicación de 150ml la de mayor efectividad con un porcentaje de mortalidad del 96,9%.

Estos resultados son superiores a los reportados por Srivastava *et al.* (2008) quienes a los 5 días posteriores a la aplicación del extracto de semilla obtuvieron 70,5% de mortalidad. Los resultados

Cuadro 1. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento en la región del cuello.

Tratamientos	Región Cuello	%
T12 (CLORPIRIFO)	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	99,507
T10 (AMITRAZ)	1,03 ± 0,01 <sup>ab</sup>	98,930
T11 (PIRETROIDE)	1,07 ± 0,02 <sup>b</sup>	98,108
T9 (H+S 150)	1,96 ± 0,035 <sup>c</sup>	96,897
T8 (H+S 100)	2,15 ± 0,02 <sup>d</sup>	93,327
T7 (H+S 50)	2,18 ± 0,01 <sup>d</sup>	92,913
T6 (S 150)	2,98 ± 0,01 <sup>e</sup>	84,240
T5 (S 100)	2,87 ± 0,01 <sup>e</sup>	82,250
T4 (S 50)	2,65 ± 0,02 <sup>e</sup>	79,575
T3 (H 150)	2,69 ± 0,01 <sup>e</sup>	77,888
T2 (H 100)	3,13 ± 0,02 <sup>f</sup>	74,295
T1 (H 50)	3,35 ± 0,03 <sup>f</sup>	72,220

<sup>a,b,c,d,e,f</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

obtenidos indican la eficacia en el control de garrapatas para el extracto de Nim en forma combinada (hoja + semilla).

### Región dorsal

El análisis de varianza arrojó un efecto altamente significativo para esta región corporal (Cuadro 2), siendo el producto comercial Amitraz el de mayor control con un 99,5% de efectividad. La eficiencia de los productos comerciales en las regiones anatómicas, podría estar asociada a la composición química de estos. Sin embargo, de los tratamientos compuestos con partes del Nim, resultó más efectiva la combinación hoja + semilla, donde la aplicación de 150ml fue 3,8% superior a 100ml y 4,2% a 50ml.

Las medias del número de garrapatas posterior a la aplicación de los distintos tratamientos en la región dorsal (Cuadro 2) muestran que la combinación hoja + semilla con dosis de 150ml presentó un efecto similar al control Piretroide, con porcentaje de efectividad superior al 98%. Oliveira *et al.* (2007) señalan mayor efectividad del extracto de semilla cuando se encuentra en

proporciones mayores a 25%. Los resultados obtenidos muestran la eficiencia que tiene la combinación de Nim (hoja + semilla) en el control de las garrapatas, posiblemente a la composición química del extracto.

### Miembros anteriores

El análisis de varianza para esta variable en estudio resultó ser significativo para el factor tratamientos ( $P \leq 0,05$ ). Se observaron menores cantidades de garrapatas vivas posterior a la aplicación de los productos comerciales; el porcentaje de efectividad de estos productos fue mayor al 99%. En cuanto a los tratamientos constituidos con partes de la planta Nim, se observó nuevamente que la combinación hoja + semilla mostró ser más efectiva comparada al resto, alcanzando un porcentaje de efectividad del 96,3%, siendo la dosis de 150ml la más efectiva a un nivel de significancia del 5% (Cuadro 3).

### Miembros posteriores

Al evaluar la efectividad de los tratamientos en los miembros posteriores, se pudo observar

Cuadro 2. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento en la región dorsal.

Tratamientos	Región Dorsal	%
T12 (CLORPIRIFO)	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100
T10 (AMITRAZ)	0,03 ± 0,01 <sup>ab</sup>	99,520
T11 (PIRETROIDE)	0,09 ± 0,02 <sup>b</sup>	98,755
T9 (H+S 150)	1,08 ± 0,02 <sup>bc</sup>	98,165
T8 (H+S 100)	1,36 ± 0,01 <sup>d</sup>	94,365
T7 (H+S 50)	1,42 ± 0,02 <sup>d</sup>	94,000
T6 (S 150)	1,98 ± 0,01 <sup>e</sup>	85,662
T5 (S 100)	1,57 ± 0,03 <sup>e</sup>	83,225
T4 (S 50)	1,85 ± 0,02 <sup>e</sup>	79,930
T3 (H 150)	2,01 ± 0,01 <sup>e</sup>	77,250
T2 (H 100)	2,33 ± 0,02 <sup>f</sup>	74,952
T1 (H 50)	2,55 ± 0,01 <sup>f</sup>	72,938

<sup>a,b,c,d,e,f</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

Cuadro 3. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento en los miembros anteriores.

Tratamientos	Región Miembros Anteriores	%
T12 (CLORPIRIFO)	0,02 ± 0,00 <sup>a</sup>	99,145
T10 (AMITRAZ)	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	99,135
T11 (PIRETROIDE)	0,06 ± 0,02 <sup>a</sup>	98,587
T9 (H+S 150)	0,08 ± 0,02 <sup>a</sup>	98,385
T8 (H+S 100)	1,26 ± 0,01 <sup>b</sup>	95,205
T7 (H+S 50)	1,32 ± 0,02 <sup>b</sup>	95,147
T6 (S 150)	1,68 ± 0,01 <sup>c</sup>	85,478
T5 (S 100)	1,87 ± 0,03 <sup>d</sup>	82,253
T4 (S 50)	1,99 ± 0,02 <sup>e</sup>	79,972
T3 (H 150)	2,01 ± 0,01 <sup>ef</sup>	77,023
T2 (H 100)	2,13 ± 0,01 <sup>f</sup>	75,327
T1 (H 50)	2,67 ± 0,03 <sup>g</sup>	73,105

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

un efecto altamente significativo ( $P \leq 0,01$ ) para el factor tratamiento, siendo el testigo en sus distintas presentaciones comerciales, el que alcanzó los mayores porcentajes de efectividad, superando el 99%.

Del mismo modo, predominó con mayor efectividad la combinación hoja + semilla con respecto a las otras partes (semilla y hoja), siendo la hoja la que presenta los menores valores, específicamente para la dosis de 50ml (73,8%). Estos resultados muestran la efectividad de la combinación de los componentes del Nim en el control de las garrapatas a nivel de los miembros posteriores. (Cuadro 4).

### Laterales del tórax y abdomen

La variable número de garrapatas, posterior a la aplicación de los tratamientos en los laterales de la región torácica y abdominal, mostró diferencias altamente significativas ( $P \leq 0,01$ ). En esta región anatómica, los mayores porcentajes de efectividad se alcanzaron con los tratamientos controles en sus distintas presentaciones comerciales. Sin embargo, la combinación hoja

+ semilla presenta un efecto similar al del control Piretroide, cuando se aplica en dosis de 150ml. (Cuadro 5).

Estos resultados posiblemente sean debido al efecto del componente químico Azadirachtina, presente en la semilla y señalado por investigadores del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE 1993), como el principal componente. Según Ceiba (1992), este componente actúa al ser ingerido por los insectos y nemátodos, interviniendo en el sistema hormonal, cerebro y corazón.

### Región Ventral

En cuanto al efecto de los productos aplicados sobre el número de garrapatas en la región ventral, se observaron diferencias altamente significativas entre tratamientos. El testigo en sus distintas presentaciones comerciales fueron los de mayor efectividad, siendo su valor máximo 99,737%. Nuevamente se observa un efecto similar entre el Piretroide y la combinación hoja + semilla, cuando se aplica en dosis de 150ml (Cuadro 6).

Cuadro 4. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento, miembros posteriores.

Tratamientos	Región Miembros Posteriores	%
T12 (CLORPIRIFO)	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100
T10 (AMITRAZ)	0,01 ± 0,03 <sup>a</sup>	99,675
T11 (PIRETROIDE)	0,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	99,132
T9 (H+S 150)	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	98,833
T8 (H+S 100)	1,14 ± 0,02 <sup>b</sup>	97,640
T7 (H+S 50)	1,18 ± 0,02 <sup>b</sup>	96,480
T6 (S 150)	1,61 ± 0,01 <sup>c</sup>	86,675
T5 (S 100)	1,77 ± 0,03 <sup>c</sup>	83,927
T4 (S 50)	1,79 ± 0,021 <sup>c</sup>	80,897
T3 (H 150)	1,99 ± 0,01 <sup>d</sup>	77,890
T2 (H 100)	2,02 ± 0,01 <sup>d</sup>	75,222
T1 (H 50)	2,03 ± 0,01 <sup>d</sup>	73,820

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

Cuadro 5. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento en los laterales torácico abdominal.

Tratamientos	Región Torácico Abdominal	%
T12 (CLORPIRIFO)	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	100,000
T10 (AMITRAZ)	0,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	99,862
T11 (PIRETROIDE)	0,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	99,885
T9 (H+S 150)	0,04 ± 0,03 <sup>ab</sup>	99,115
T8 (H+S 100)	0,08 ± 0,03 <sup>b</sup>	98,510
T7 (H+S 50)	0,11 ± 0,02 <sup>b</sup>	97,125
T6 (S 150)	1,38 ± 0,01 <sup>c</sup>	88,770
T5 (S 100)	1,67 ± 0,03 <sup>d</sup>	88,600
T4 (S 50)	1,98 ± 0,02 <sup>e</sup>	81,472
T3 (H 150)	1,99 ± 0,01 <sup>ef</sup>	80,147
T2 (H 100)	2,01 ± 0,01 <sup>f</sup>	78,997
T1 (H 50)	2,22 ± 0,03 <sup>g</sup>	75,125

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

Cuadro 6. Número de garrapatas vivas y porcentaje de efectividad por tratamiento en la región ventral

Tratamientos	Región Ventral	%
T12 (CLORPIRIFO)	2,28 ± 0,03 <sup>a</sup>	99,737
T10 (AMITRAZ)	2,36 ± 0,03 <sup>a</sup>	99,520
T11 (PIRETROIDE)	2,67 ± 0,01 <sup>ab</sup>	99,145
T9 (H+S 150)	3,09 ± 0,01 <sup>b</sup>	98,038
T8 (H+S 100)	3,22 ± 0,01 <sup>b</sup>	97,840
T7 (H+S 50)	3,65 ± 0,02 <sup>b</sup>	97,222
T6 (S 150)	3,88 ± 0,01 <sup>c</sup>	91,147
T5 (S 100)	3,92 ± 0,03 <sup>c</sup>	89,00
T4 (S 50)	4,35± 0,02 <sup>d</sup>	81,060
T3 (H 150)	4,61 ± 0,01 <sup>d</sup>	80,862
T2 (H 100)	4,70 ± 0,01 <sup>d</sup>	79,722
T1 (H 50)	5,01 ± 0,04 <sup>e</sup>	75,267

<sup>a,b,c,d,e,f,g</sup> Letras distintas en la misma columna difieren estadísticamente al 5%

La respuesta observada en las diferentes regiones anatómicas probablemente se deba a la mayor cantidad de *Azadirachtina* presente en la combinación hojas + semillas reportada por Schmutter (1990) y García (1994). Se conoce que este componente se encuentra principalmente en la semilla de Nim y en menor proporción en las hojas. Así mismo, se ha reportado que este compuesto es efectivo en el control de ectoparásitos, principalmente la garrapata, debido a su acción sistémica (Schmutter 1990; García 1994); este efecto puede alcanzar hasta un 65% de eficiencia acaricida cuando se utiliza el extracto acuoso de la semilla de Nim como control de *Boophilus microplus* a nivel de laboratorio (Broglia *et al.*, 2009); sin embargo, este valor es inferior a los encontrados en la presente investigación.

El mecanismo de acción de este compuesto está asociado al bloqueo de procesos metabólicos que inhibe el desarrollo normal de los insectos y su ciclo de vida, causando finalmente la muerte (Navarro *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos en esta investigación han permitido inferir que el uso del extracto de Nim puede ser una alternativa para el control de *Boophilus microplus*; cuyas propiedades, conjuntamente con un posible efecto repelente a las moscas, además de un efecto residual (Polanco, 2015), convierten al extracto (hojas + semillas) una opción viable para el control de ectoparásitos en el bovino.

### Relación costo beneficio

Una vez analizados los gastos en la recolección y procesamiento del material vegetativo (hoja y semilla) de Nim, se evidenció que estos alcanzaron durante la investigación un máximo de \$1,50 por animal, mientras que el control con plaguicidas en sus distintas presentaciones comerciales, promediaron un valor por animal de \$3,04 existiendo así una diferencia superior al 100% (\$1,54). Estas diferencias en la relación costo beneficio, conjuntamente al hecho de que este biopreparado orgánico no es tóxico para los animales y el hombre, además de no causar contaminación al medio ambiente, hacen viable el uso de las partes de la planta de Nim para el control de ectoparásitos en animales.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que la utilización de la planta de Nim en acción combinada hoja + semilla con dosis de 150ml, produce un porcentaje de mortalidad comparable a los productos comerciales. Lo anterior lo convierte en una alternativa para el control de la garrapata (*Boophilus microplus*) por su eficacia y bajo costo. Siendo posible su aplicación intercalada como parte de la estrategia de rotación de productos comerciales.

## LITERATURA CITADA

- Broglia, S., E. Neves, L. Souza, N. Silva, K. Girón y R. Prédés. 2009. Control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales. *Rev. Colombiana Entomol*, 35; pp. 145-149.
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 1993. *Neem. Un árbol de uso múltiple*, colección Material de Extensión. Turrialba, CR. 32 p.
- CEIBA. 1992. Memoria del IV Congreso Internacional de manejo integrado de plaga. Jornada científica por la escuela Agrícola Panamericana Vol.33 (1). Tegucigalpa, Honduras. pp. 252-254.
- Fiel, C. 2005. Manual Técnico: Antiparasitarios internos y endectocidas de bovinos y ovinos. (Monografía en internet). Buenos Aires. Disponible en: <http://www.produccionanimal.com.ar/>. [Feb. 21, 2015].
- García, V., M. Del Moral y L. Ruiz. 1994. Uso Veterinario del Nim. Taller Internacional "El árbol Nim en Venezuela". Coro. Caracas, Venezuela. pp. 51- 57.
- García, L. y Dublín, D. 2007. El uso del aceite de la semilla neem (*Azadirachta indica*) y del ajo (*Allium sativum*) como medicamento tópico en el tratamiento de heridas en bovino. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 8(1) 1-5.
- Hoja Técnica. 1987. Proyecto Insecticida Nim. Managua, Nicaragua. pp. 1-7.
- López, M. y J. Estrada J. 2005. Los bioinsecticidas de Nim en el control de plagas de insectos

- en cultivos económicos. La Habana (Cuba). Rev. FCA UNCuyo. Tomo XXXVII. N° 2. Año 2005. pp. 41-49
- Fundación para la Innovación Agraria (FIA), 2009. Resultados y lecciones en control biológico de la mosca de los cuernos en bovinos con extracto de neem. Ministerio de Agricultura del Gobierno de Chile. Serie Experiencias de Innovación para el Emprendimiento Agrario. 36. p.
- Navarro, R; S. Lara y F. Bórquez. 2009. Control Biológico de la Mosca de los Cuernos en Bovinos con Extracto de Neem: El Extracto Vegetal Utilizado. Chile, Ministerio de Agricultura. pp. 12-14.
- Oliveira, M., A. Chagas, M. Forim, M. Silva, A. Freitas, R. Giglioti and C. Carvalho. 2007. Action of extract of Neem against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with azadirachtin-A quantified by HPLC. Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15 (Supl. 1).
- Ortiz, E., N. Palencia, O. Gerdtz y Ó Hurtado. 2012. Criterios y protocolos para el diagnóstico de hemoparásitos en bovinos. Revista Ciencia Animal, (5). 31-49.
- Polanco, A. 2015. Comparación del efecto larvicida del extracto de semilla de Nim (*azadirachta indica*) administrado en forma tópica, comparado con ivermectina al 1% administrada por vía subcutánea para el control de *dermatobia hominisen* bovinos de la Aldea la ceiba, municipio de San Juan Ermita, Chiquimula, Guatemala. Tesis Lic. Guatemala. República de Guatemala. Universidad de San Carlos. 48 p.
- Restrepo, J. 2015. Antibióticos y su importancia como residuo en los alimentos de origen animal. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias (Colombian Journal of Animal Science and Veterinary Medicine), 11(1), pp. 28 - 36.
- Rice, M. 1993. Development of Neem Research and industry in Australia. World Neem Conference. Bangalore, India. pp. 8-24.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual review of entomology, 35(1) 271-297.
- Srivastava, R., S. Ghosh, D. Mandal, P. Azhahianambi, P. Singhal, N. Pandey and D. Swarup. 2008. Efficacy of *Azadirachta indica* extracts against *Boophilus microplus*. Parasitology research, 104(1) 149-153.

## NORMAS DE PUBLICACIÓN (Instrucción a los Autores)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- *Revista (ya publicada)*

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

- *Revista (aceptado, pero no publicado)*

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

- *Suplemento de revista*

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

- *Libros*

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

- *Capítulos de libros*

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

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

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

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

- *Tesis y Trabajos de Ascenso*

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

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

- *Revistas y otras fuentes electrónicas:*

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

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

- *Publicaciones Misceláneas*

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

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

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

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

Zoo|ecnia  
ropical

ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical

Zoo|ecnia  
ropical