



**Gobierno
Bolivariano
de Venezuela**

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

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia
tropical

Zootecnia tropical

Depósito Legal: AR2017000076

ISSN: 2542-3436

AÑO 34 VOL 34 No. 4 2016

ZOOTECNIA TROPICAL Es publicada para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción animal: bovinos, suinos, caprinos, ovinos, aves, especies piscícolas y otras, con el propósito de garantizar la producción de proteína de origen animal con fines alimentarios.

Correo electrónico: zootrop@inia.gob.ve
zootrop@gmail.com

Miembros Fundadores:

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

Comite Editorial

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

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

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

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Giomar Blanco
Daniel Martins
Nohelia Rodríguez

Yenry Urrea
María Fernanda Sandoval

Presidente
Gerente General
Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica
Gerente de Producción Social
Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editores Asociados

Juan Vergara	Sección Alimentación Animal
Luis Dickson (INIA)	Sección Genética
Débora Martins Paxiao (PECEGE)	Sección Genética Molecular
Oziel Montañez (UASLP)	Sección Nutrición
José Alió (ULEAM-Ecuador)	Sección Piscicultura y Acuicultura

Consejo Asesor

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

Indización

C.A.B. Internacional	(U.K.)
Biosis Zoological Records	(USA)
Agroforestry Abstracts	(USA)
IICA- CIDIA	(Costa Rica)
Royal Tropic Institute	(Tropag & Rural, Holanda)
AGRIS	(FAO, Roma)
LATINDEX	(México)
IAMSLIC	(USA)
Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias	(México)
MEDIATHEK	(Alemania)
Periodica	(México)
REVENCYT	(Venezuela)
Base de Datos REVIS	(CATIE, Costa Rica)
Base de Datos RISPAL	(CATIE, Costa Rica)
Base Agrícola Venezolana	(INIA, Venezuela)
Bioline	(Canadá)
Scielo	(Venezuela)
Scopus	(EUA)
HINARI	(FAO Italia)
Org. de Estados Iberoamericanos	(Colombia)
Citefactor	(Canadá)

Se acepta el intercambio con otras revistas

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

ZOOTECNIA TROPICAL

Zootecnia Trop.

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

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 34 del año 2016.

Adriana Fernández. UCV Edo. Aragua. Venezuela.

Alexander Sánchez. INIA Edo. Falcón. Venezuela.

Alfonso Llobet. World Wildlife Fund INC. Bolivia.

Álvaro Velasco. Fauna Silvestre productos y servicios Edo. Miranda. Venezuela.

Ana Herrera. Universidad Nacional Experimental del Táchira. Venezuela.

Andrea Lafisca. Policía Civil Brasileira. Brasil

Ángel González. Universidad de Oriente Edo. Sucre. Venezuela

Ángel Muriel. Junta de Extremadura de España.

Ángel Valdespino. INIA-CENIAP Edo. Aragua. Venezuela.

Aniello Barbarino. INIA Edo. Apure. Venezuela.

Antonio Manrique. UNERG Edo. Miranda. Venezuela.

Carlos Moreno. INIA Edo. Delta Amacuro. Venezuela.

Carolina Pulido. INSAI Edo. Aragua. Venezuela.

Cesar Lodeiro. Universidad de Oriente. Edo. Sucre. Venezuela.

Daniel Godínez. Universidad de Guadalajara. México.

Francisco Vargas. UCLA Edo. Lara. Venezuela.

Freddy Espinoza. INIA-CENIAP. Edo. Aragua. Venezuela

Germán Poleo. Universidad "Lisandro Alvarado", Edo. Yaracuy. Venezuela.

Glenn Hernández. INIA-CENIAP Edo. Aragua. Venezuela.

Glenys Andrade. INIA Edo. Zulia. Venezuela.

Gustavo Nouel. UCLA Edo. Lara. Venezuela.

Hernán Andrade. Universidad del Tolima. Colombia.

Humberto Gil. INIA Edo. Sucre. Venezuela.

Iraida Rodríguez. INIA Edo. Anzoátegui. Venezuela.

Jesús Maldonado. UCLA Edo. Lara. Venezuela.

Jesús Ponce. Universidad Autónoma de Nayarit. México.

José Alió. INIA Edo. Sucre. Venezuela.

José Fariñas. INIA Edo. Monagas. Venezuela.

José Salas. INIA Edo. Mérida. Venezuela

Judith Principal. UCLA Edo Lara. Venezuela.

Luis Chaparro. UCLA Edo. Lara. Venezuela.

Luis Gabriel González. Universidad Nacional de Colombia.

Oscar De La Rosa. INIA-CENIAP edo. Aragua. Venezuela.

Oscar García. UCLA Edo. Lara. Venezuela.

Otto Castillo. UNELLEZ Edo. Portuguesa. Venezuela.

Oziel Montañés. Universidad de Guadalajara. México.

Pedro Betancourt. INIA Edo. Lara. Venezuela.

Rafael Galindez. UCV Edo. Aragua. Venezuela.

Ramón D'Aubeterre. INIA Edo. Lara. Venezuela.

Raúl Jiménez. INIA-CENIAP Edo. Aragua. Venezuela.

René Pinto Universidad Autónoma de Chiapas. México.

Severiano Rodríguez. Universidad Rómulo Gallegos Edo. Guárico. Venezuela.

Thais Díaz. UCV-Facultad Ciencias Veterinarias Edo. Aragua. Venezuela.

Vanessa Acosta. Universidad de Oriente Edo. Sucre. Venezuela.

Yusmary Espinoza. INIA-CENIAP Edo. Aragua. Venezuela.

De igual manera, agradecemos a todos aquellos investigadores que nos enviaron sus artículos e 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. 34 N° 4**Artículos Científicos**

- Malavé K., Lodeiros C., Lemus M. y Guevara M.
Regeneración de la concha en juveniles de la ostra perla *Pinctada imbricata* (Röding, 1798) como índice fisiológico del efecto subletal del cadmio 277
- Romero C. y Sánchez A.
Rendimiento, composición química y digestibilidad de dos cultivares de pasto Guinea, sometidos a diferentes edades de corte..... 287
- Villatoro Salinas R. J., Rosendo Ponce A., Canseco Sedano R., Cortez Romero C., Torres Hernández G., Rosales Martínez F. y Becerril Pérez C. M.
Características seminales de la raza Lechero Tropical evaluadas durante dos temporadas en el estado de Veracruz, México 301
- de Mello J. L. M., de Souza R. A., Paschoalin G. C., de Souza P. A. y Borba H.
Fabricación de productos cárnicos (hamburguesas) con carne de gallos y gallinas reproductoras sacrificados en la edad de descarte 309
Fabricação de produto cárneo tipo hambúrguer com carne de galos e galinhas matrizes abatidos em idade de descarte 309
- Severino Lendecky V. H., Pozo Santiago C. O., Muñoz González J. C. y Vilaboa Arroniz J.
Efecto de la suplementación alimenticia sobre el crecimiento folicular ovárico, peso y edad a la pubertad en vaquillas Romosinuano 321
- Molina Hidrovo C. A., Cañadas López Á. G., Rade Looor D. Y. y Zambrano Mendoza J. L.
Influencia de la época y densidad de siembra sobre la calidad nutricional de genotipos de maíz en la Región Costa del Ecuador 331
- Abad D., Parada J., Mendoza F., Torrealba E. y Peraza Y.
Harina de frijol como fuente de proteína de la dieta y su efecto sobre parámetros biométricos de Morocoto y Tilapia 341

Nota Técnica

- Ikeda N. Y., Zaluski R., Souza E. A., Silva A. C. S., Veiga N. y Orsi R. O.
Influencia del método de colecta de propóleos sobre la producción de miel en abejas africanizadas en el municipio de Botucatu, São Paulo, Brasil 351
Influência do método de coleta de própolis na produção de mel em abelhas africanizadas no município de Botucatu, São Paulo, Brasil 351
- Instrucciones al autor 357

TABLE OF CONTENTS Vol. 34 N° 4

Scientific Articles

Malavé K., Lodeiros C., Lemus M. and Guevara M. Shell regeneration in juveniles pearl oyster <i>Pinctada imbricata</i> (Röding, 1798) as a physiological index of the sublethal effect of cadmium	277
Romero C. and Sánchez A. Yield, chemical composition and digestibility of two cultivars of Guinea grass, subjected to different cutting ages	287
Villatoro Salinas R. J., Rosendo Ponce A., Canseco Sedano R., Cortez Romero C., Torres Hernández G., Rosales Martínez F. and Becerril Pérez C. M. Seminal characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons in Veracruz, Mexico	301
de Mello J. L. M., de Souza R. A., Paschoalin G. C., de Souza P. A. and Borba H. Manufacturing of hamburger with meat from rooster and broiler hens slaughtered at spent age.....	309
Severino Lendechy V. H., Pozo Santiago C. O., Muñoz González J. C. and Vilaboa Arroniz J. Effect of feed supplementation on ovarian follicular growth, weight and age at puberty in Romosinuano heifers.....	321
Molina Hidrovo C. A., Cañadas López Á. G., Rade Looor D. Y. and Zambrano Mendoza J. L. Influence of period and planting density on the nutritional quality of corn genotypes in Cost Region Ecuador.....	331
Abad D., Parada J., Mendoza F., Torrealba E. and Peraza Y. Bean flour as source of dietary protein and its effect on biometrics parameters of Morocoto and Tilapia	341
Technical Note	
Ikeda N. Y., Zaluski R., Souza E. A., Silva A. C. S., Veiga N. and Orsi R. O. Influence of the collecting propolis method on the honey production in africanized bees in the Botucatu municipality, São Paulo, Brazil	351
Instructions to the author	357

Shell regeneration in juveniles pearl oyster *Pinctada imbricata* (Röding, 1798) as a physiological index of the sublethal effect of cadmium

Regeneración de la concha en juveniles de la ostra perla *Pinctada imbricata* (Röding, 1798) como índice fisiológico del efecto subletal del cadmio

Katherine Malavé¹, César Lodeiros^{1,2*}, Mairin Lemus^{1,3} and Miguel Guevara¹

¹Grupo de Investigación en Biología de Moluscos, Universidad de Oriente, Cumaná 6101, Venezuela. ²Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas, Guayaquil, Ecuador. ³Universidad Técnica de Machala, Machala, provincia del Oro, Ecuador *Correo electrónico: cesarlodeirosseijo@yahoo.es

ABSTRACT

The shell regeneration of juveniles pearl oyster *Pinctada imbricata* exposed to sublethal levels of Cadmium (Cd), was analyzed as a physiological index. Two bioassays were performed; the first to select the time and effectiveness of shell regeneration according to the zone (posterior, ventral, anterior) after removing pieces of 3-4 mm of shell. The second was carried out to determine the effect of Cd on shell regeneration, RNA / DNA index, respiration rate and mass of body tissues. Exposure to Cd was carried out during 96 h, in sublethal concentrations (0, 0.2, 0.4, 0.8 ppm) or lethal (1.6 ppm). No regeneration was observed in the anterior zone of the shell. At 72 h, the regeneration of the shell in the ventral area (0.78 ± 0.083 mm) was significantly greater compared to the posterior one (0.51 ± 0.044 mm); at 96 h, this difference was not significant. At the first trial, the percentage of individuals involved in shell regeneration was not significantly different at both 72 and 96 h. The second assay showed a clear negative trend in shell regeneration with the increase in Cd concentration. However, no significant relationship was found with the other indices studied. The results show the feasibility of using the regeneration of the ventral zone of the shell as a physiological index to evaluate the effect of Cd on juveniles of the pearl oyster *Pinctada imbricata*.

Key words: Median lethal dose, sea pollution, ecotoxicity.

RESUMEN

Se analizó la regeneración de la concha como índice fisiológico, en juveniles de la ostra perla *Pinctada imbricata* expuestos a niveles subletales de Cadmio (Cd). Se realizaron dos bioensayos; el primero para seleccionar el tiempo y la efectividad de regeneración de concha según la zona (posterior, ventral, anterior) luego de remover trozos de 3-4 mm de la misma. El segundo se realizó para determinar el efecto del Cd sobre la regeneración de la concha, índice de ARN/ADN, tasa de respiración y masa de los tejidos corporales. La exposición al Cd se realizó durante 96 h, en concentraciones subletales (0; 0,2; 0,4; 0,8 ppm) o letales (1,6 ppm). No se observó regeneración en la zona anterior de la concha. A las 72 h, la regeneración de la concha en la zona ventral ($0,78 \pm 0,083$ mm) fue significativamente mayor comparada a la posterior ($0,51 \pm 0,044$ mm); a las 96 h, esta diferencia no fue significativa. En el primer experimento, el porcentaje de individuos involucrados en la regeneración de concha no fue significativamente diferente tanto a las 72 como 96 h. En el segundo ensayo, se observó una clara tendencia negativa en la regeneración de concha con el incremento en la concentración de Cd. Sin embargo, no se encontró relación significativa con los demás índices estudiados. Los resultados muestran la factibilidad de usar la regeneración de la zona ventral de la concha como índice fisiológico para evaluar el efecto del Cd en juveniles de la ostra perla *Pinctada imbricata*.

Palabras Clave: Dosis letal media, contaminación marina, ecotoxicidad.

Recibido: 22/09/15 Aprobado: 18/06/18

INTRODUCTION

Pollution of aquatic ecosystems has mainly originated by the exacerbated industrial development and rapid growth of the regions in their vicinity, with the consequence that some chemical products, like polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated compounds and heavy metals, are drained daily at different coastal areas. Due to this phenomenon, interest has increased in recent years to study the effect of pollution in the marine environment, being the heavy metals some of the most important and better studied pollutants (Dahms, 2014), among them Cadmium, since it is one of the most toxic metals that shows a high incidence in marine-coastal zones and estuaries (Yuan *et al.*, 2004; Meng *et al.*, 2008; Yu and Chu, 2006).

Bivalves have been widely used to evaluate environmental quality of aquatic ecosystems. Due to their filtering capacity of the surrounding environment, they can bioaccumulate contaminants; furthermore, their sessile condition makes them useful as evidence of events that occurred in the inhabited areas (Tynan *et al.*, 2005). The pearl oyster, *Pinctada imbricata*, is a bivalve of the family *Pteriidae* with a broad distribution along the Venezuelan and the Caribbean Sea coasts, forming oyster banks with economic importance. It is a cosmopolitan species of tropical and subtropical seas; hence, it has been suggested as a model species in toxicity tests (Lodeiros, 2011).

The measurement of shell regeneration after its traumatism, evaluated in short periods of time (4 days), is shown as an index for an easy determination of the effect of xenobiotics, which gives it a character of universal application, being already a standard test used with *Crassostrea virginica* (US-EPA, 1996). Villegas *et al.* (2015), in a study of the effect of Cd on the ontogeny of *P. imbricata* (adults of different sizes since early reproductive stages) concluded that the shell regeneration could be a suitable index to evaluate the Cd effect in a short period of time in juveniles, however, due to the discontinuity of shell regeneration in their results, he recommends studies to select the zone of shell more suitable for its regeneration.

The purposes of the current study were to select the best zone of shell regeneration and later to

evaluate the regeneration of the shell in juveniles of the pearl oyster, *P. imbricata*, exposed to sublethal or lethal doses of Cadmium in order to validate the shell regeneration as an evaluative parameter in toxicity assays.

MATERIALS AND METHODS

Bioassays

Bioassays were performed in plastic containers of 2 L capacity, with 1.5 L filtered sea water (36 UPS), treated with UV light and continuously aerated with an air flow of 100 ml/min. Juveniles of *P. imbricata* (20-25 mm dorso-ventral length) came from culture baskets and were acclimated during seven days at laboratory conditions (22°C, luminosity of 200 lux with a 12:12 h photoperiod) and fed daily with 10.000 cel/mL of the microalga *Tetraselmis chuii*.

A first trial was conducted in order to select the best zone of shell regeneration; for this, 3-4 mm shell pieces were removed in *P. imbricata* juveniles with an electric saw (Dremel) in three different zones (anterior, posterior and ventral). The individuals (two replicates of 20 juveniles for each treatment) were placed under the laboratory conditions mentioned before, during 96 h, without feed. Five individuals from each replicate were removed daily and the shell regeneration of each one was determined (generated lamellae), by measuring the recently formed lamellae using an image analyzer incorporated to a stereoscopic microscope.

A second bioassay was carried out in order to evaluating the effect of Cd on regeneration of the shell. To select the sublethal dose of Cd in juveniles of *P. imbricata*, it was determined the Median Lethal Dose (DL₅₀), following the criteria suggested by international organizations like ASTM and FAO (Nascimento *et al.* 2002). In this sense, 1.791 g CdCl₂.H₂O (Sigma-Aldrich, 98%) was dissolved in 1000 mL of deionized water to prepare a stock solution (1000 ppm). From this solution, the required metal concentrations were prepared. The organisms (15 per replicate), previously acclimated to the laboratory conditions described before, were exposed, by triplicate, to 0.0, 0.6, 1.2, 1.8 and 2.0 ppm of cadmium. Exposure to the toxic metal lasted for 96 h, with a renovation of the medium

at 48 h and counting the dead animals every 24 h. For the determination of death, the criterion of valve post-relaxation of adductor muscle was used, stimulating the reaction with a glass bar. The $DL_{50\%}$ and its 95% confidence intervals were determined from data on mortality.

Taking the $DL_{50\%}$ of Cd as starting point, and the time and zone of shell regeneration obtained in previous tests, 3-4 mm shell pieces were removed in *P. imbricata* juveniles and exposed, by triplicate (25 juveniles) during 96 h, to 3 sublethal concentration of Cd (0.2; 0.4; 0.8) with a control lethal concentration (1.6 ppm) and a control non-lethal concentration (without Cd).

Determination of oxygen consumption, dry biomass of soft tissues and ratio RNA/DNA

At the end of the experiment, the oxygen consumption of all organisms in each replicate was determined using a hermetic chamber with seawater saturated with oxygen, after 20 min of respiration, using oxygen meter YSI 20. The oxygen consumption was expressed in ml/L/g of dry mass of soft tissues.

The determination of dry biomass of soft tissues at the end of the test was evaluated in groups of 10 individuals from each replicate, using an analytical balance with precision 0.0001 g, after a dehydration process of the animals in an oven at 60 °C during 48 h, following Lucas and Beninger (1985). The analyses of nucleic acids were made in groups of 5 individuals from

each replicate, following Canino and Calderone (1995) and using 10-20 mg biomass of adductor muscle. With the data on concentrations of RNA and DNA the ratio RNA/DNA was calculated.

Data analysis

The shell regeneration results were analyzed through a two-way analysis of variance (ANOVA II) using as factors time and the place of shell regeneration. The Probit test was used in the bioassay of the lethal effect of Cd to determine the Mean Lethal Dose ($DL_{50\%}$) and its confidence interval (US-EPA, 1993).

The differences in oxygen consumption and dry biomass of the soft tissues were contrasted using a one-way analysis of variance (ANOVA I), using the concentration of Cd as factor and Duncan *a posteriori* test. To estimate the ratio RNA/DNA, the data was transformed calculating the arc cosine. Since the data distribution still deviated from normal, the differences were analyzed through a Kruskal-Wallis test. All tests used a significance level of $P=0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The shell of *P. imbricata* did not regenerate in the anterior zone, in contrast with the ventral and posterior zones where regenerative growth was observed after 72 h (Figure 1a). The largest growth was recorded in the ventral zone (0.68 ± 0.19 mm), although at the end of the bioassay there were

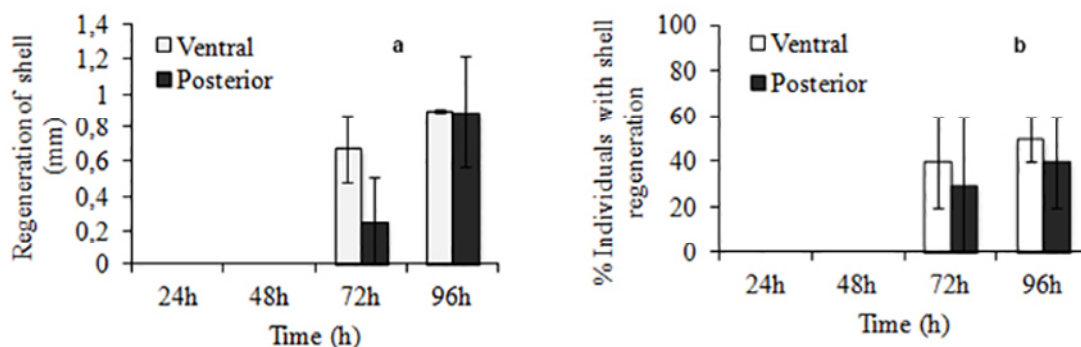


Figure 1. a) Amount of shell regeneration (mm) and b) % individuals that regenerated the shell, by time after breakage of shell and zone of regeneration in juveniles of *Pinctada imbricata*. Bars show the standard error.

not significant differences ($P>0.05$) between the ventral and posterior zones, reaching average values 0.91 ± 0.011 and 0.89 ± 0.323 mm of shell regeneration, respectively (Figure 1a).

The percentage of individuals that regenerated the shell did not show significant differences between regeneration zones and time after breakage of shell ($P>0.05$). In average, 50% of the individuals regenerated the ventral zone of the shell at 96 h (Fig. 1b). The dispersal indices in the treatments of this experiment were high, with greater variability in the posterior zone. These results allowed the choosing of the ventral zone and an experimental time of 96 h for further bioassays. The time of exposure to a toxic agent and the zone of the shell where the measurements are made, are important factors to consider when setting up a toxicity assay using juveniles of *P. imbricata*.

During the first 48 h of the control assay, with no toxic agent in the environment, no shell formation was observed. However, after 72 h the growth of the shell was evident and at 96 h there was a greater growth as well as a larger percentage of individuals regenerating the shell (50% in the ventral zone; 40% in the posterior zone). There were no significant differences between the zones where regeneration was actually observed, but there were high levels of dispersion in the replicate samples of the posterior zone; hence, the ventral zone was chosen for further bioassays.

Considering that only 50% of the tested individuals regenerated the shell 96 h after the initiation of the assay, it is suggested that this period should be the minimum duration of assays for protocols that use shell regeneration as an index.

The only published reference found about the selection of the regeneration zone of the shell in bivalve mollusks for toxicity assays, is the one performed by the Environmental Protection Agency of the USA (US-EPA, 1996), in which the ventral zone of the American oyster, *Crassostrea virginica*, was used, which supports the observations made in the present study.

None of the individuals with the shell broken in the anterior section regenerated the shell during the experiment, so this section was discarded for further testing. There are not reported evidences to support this difference with the other sections

of the shell, but it may be related to the anatomy and function of this zone. The anterior zone is close to the gland that segregates the byssus, where there is an invagination of the shell with little evidence of lamellae or growth border, in comparison with the ventral and posterior zones. Thus, the anterior zone of the shell would have a smaller ability of segregating shell since in the surrounding areas to the byssus gland there is no mantle, which is the tissue in charge of producing the shell.

During the determination of the Cd concentrations that would be used, it was observed that after exposing juveniles of *P. imbricata* to several concentrations of Cd (0, 0.6, 1.2, 1.8 and 2 ppm), no mortality was observed at 0 ppm and 0.6 ppm, but this parameter increased proportionally as concentration of Cd raised in the environment, reaching a demise of 86.7% at a concentration of 2 ppm. The $DL_{50\%}$ was established at 1.68 ppm (95% C.I.: 1.49-1.85). These results suggested that for to determine the sublethal effect of Cd, the concentrations 0; 0.2; 0.4; 0.8 should be used. Low values were also obtained by Villegas *et al.* (2000) in juveniles of the same species (0.63 mg L^{-1}). The effect of Cd in other species has been observed at higher concentrations, for example in *C. virginica*, the value of $DL_{50\%}$ (at 72 h) is 24.87 mg L^{-1} (Barrera, 2006). These differences suggest a high sensibility of the pearl oyster to Cd and possibly to other xenobiotics, supporting its selection as a model species for toxicological studies (Lodeiros, 2011).

The amount of shell regeneration showed significant differences ($P<0.05$) among the different concentrations of Cd, with a trend inversely proportional to the concentration of the metal. No shell formation was observed in the highest Cd concentration (1.6 ppm; Figure 2a). Individuals in the control group (with no Cd) showed a shell growth significantly higher (2.47 ± 0.678 mm, $P<0.05$) than oysters in the other treatments. Shell growth in the treatment of 0.8 ppm of Cd (0.47 ± 0.327 mm) did not show significant differences with that of the treatment of 0.4 ppm Cd (0.59 ± 0.485 mm), but they were significantly different to the one observed in the treatment of 0.2 ppm Cd (1.11 ± 0.820 mm).

Likewise, significant differences were observed with the percentage of individuals that regenerated the shell, forming the same groups

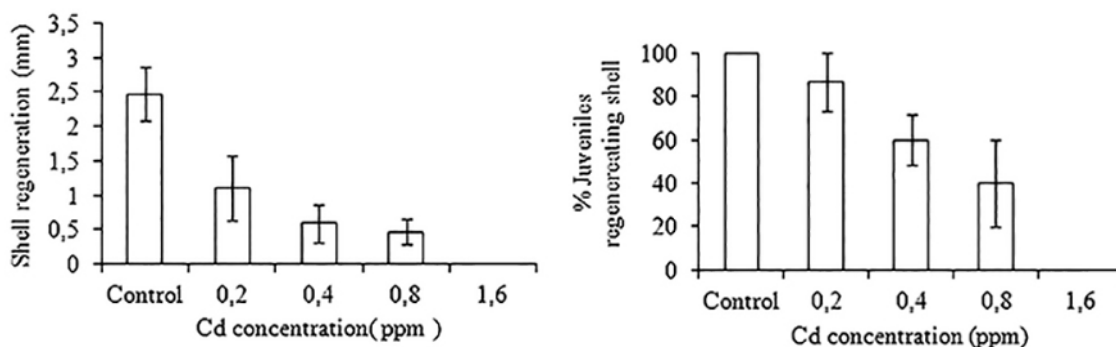


Figure 2. a) Amount of shell regeneration (mm) and b) % individuals that regenerated the shell, among juveniles of *Pinctada imbricata* exposed during 96 h to sublethal doses of Cd. Bars show the standard error.

of significance described for the amount of shell regenerated. All individuals in the control group regenerated the shell while those in the group exposed to 0.2 ppm Cd responded in 86.7%; those exposed to 0.4 ppm Cd in 60% and those exposed to 0.8 ppm Cd in 40%. None of the individuals in the group exposed to 1.6 ppm Cd showed any regeneration of the shell (Figure 2b).

The shell regeneration and the percentage of individuals that regenerated the shell was affected by the amount of metal in the environment; thus, 100% of the individuals in the control group without Cd regenerated the shell while the most affected group was the one exposed to the highest dose of Cd, which did not regenerate the shell and had a mortality rate of 6.7%. It has been shown that Cd can replace calcium in cell processes and it is possible that it affects the mechanism of incorporation calcium in the shell. In the other hand, it has been established that Cd induces a general internal acidosis, a release of calcium and inhibition of reabsorption of calcium affecting the biomineralization of the shell (Faubel *et al.*, 2008).

These results agree with those obtained by Villegas *et al.* (2015) who argued that such differences were due to the response of shell reconstruction, where the processes of antitoxic protection lead to a reduction of the speed of shell deposition, assuring the distribution of the accumulated energy for the basic physiological processes. Borthwick and Patrick (1982) obtained shell deposition in 50% of the individuals of the American oyster *C. virginica* exposed to a concentration of creosote of 0.7 mg/L (96 h)

and Steven *et al.* (1977) found an inhibition in the deposition of shell by the American oyster exposed to 3.1 µg/L of the insecticide toxaphene. In the other hand, Lowe *et al.* (1971) also obtained a smaller growth of the American oyster when exposed to toxaphene (1 µg/L) during 12 weeks. Finally, the shell deposition was slower when the American oyster was exposed to concentrations of the chlorinated organic insecticides chlordane of 4.7 µg/L and 4.9 µg/L of endrin (Parrish *et al.*, 1976; Schimmel *et al.*, 1975).

There were no significant differences ($P > 0.05$) in the oxygen consumption, ratio RNA/DNA or total dry biomass among the sublethal concentrations of Cd to which the juveniles of *P. imbricata* were exposed, in spite of the observed increasing trend in the oxygen consumption and decreasing trend of the ratio RNA/DNA as Cd concentration raised (Figure 3).

Even though the differences in oxygen consumption in the individuals exposed to the different concentrations of Cd were non-significant, an increasing trend was observed in the consumption of oxygen directly proportional to the concentration of the contaminant in the environment. This can be associated to the stress generated by the contaminant, which induces a greater antitoxic metabolism. The results of Villegas *et al.* (2015) in a study made with *P. imbricata* agree with those obtained in the present study. In a similar way, Barrera (2006) reported for the American oyster *C. virginica*, that exposure to Cd significantly altered the respiratory rate, depending on time and magnitude of exposure to the metal. In the

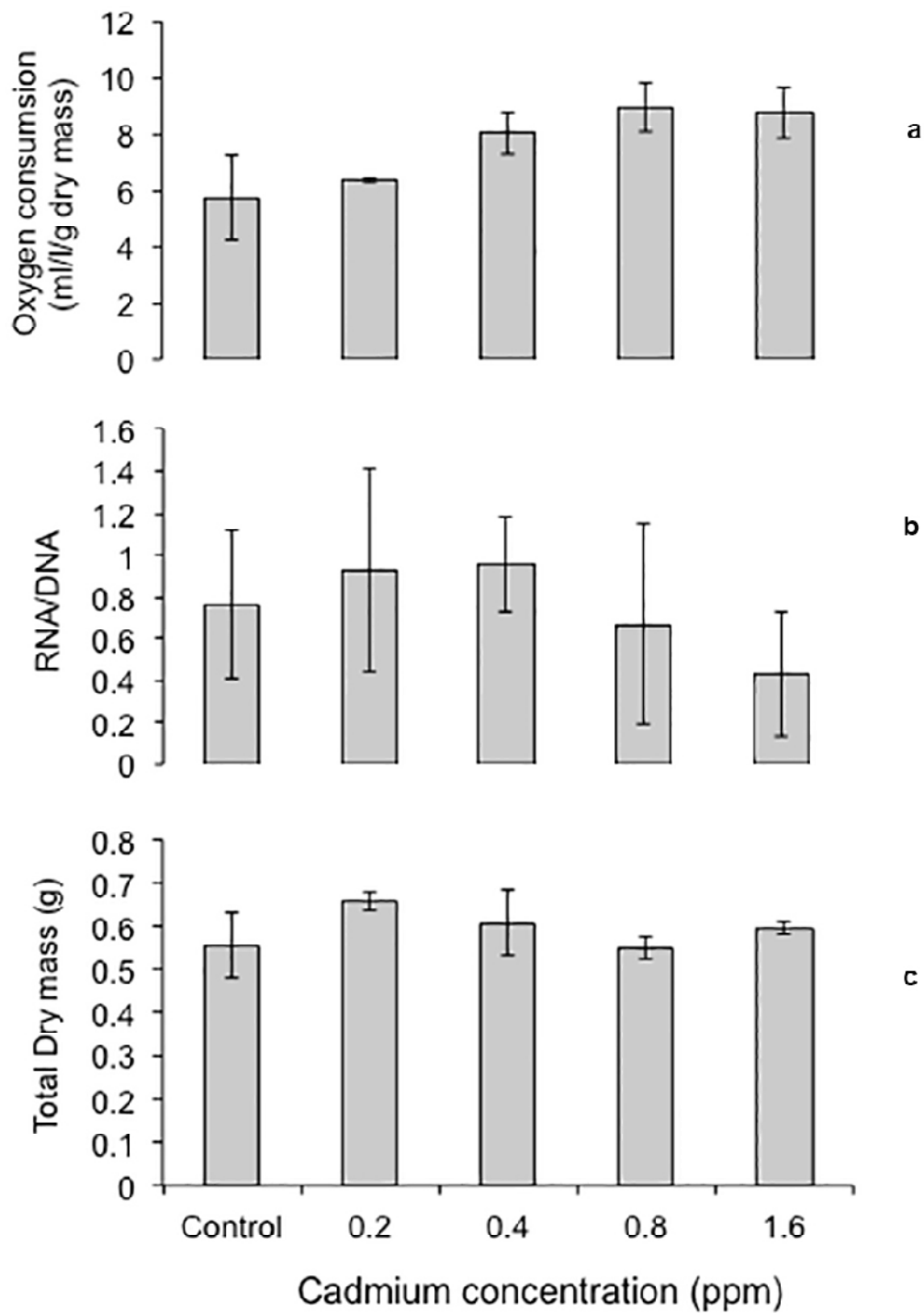


Figure 3. a) Oxygen consumption, b) Ratio RNA/DNA and c) Total dry mass of juveniles of *Pinctada imbricata* exposed to different concentrations of Cd. Bars show the standard error.

case of mollusks, the increase in the respiratory rate has been related to the deterioration of the osmoregulatory processes and the inhibition of Ca transport (Sadiq, 1992). However, it cannot be discarded that there are also energetic requirements that favor its increment. Thus, the increase of the respiratory rate of individuals of *P. imbricata* when exposed to Cd can be due to the energetic costs associated to the detoxification mechanisms and cell protection produced by the toxic effect of the metal, both in the synthesis of metallothioneins (MTs) and the oxidative stress registered in short time exposures (Lemus *et al.*, 2012).

Glutathione (GSH) seems to play an important role in the mantle, increasing as a function of Cd concentration. This tissue has as main functions to segregate the shell and participate in respiratory activities. The perturbing effect of Cd in the electron transport chain has been clearly evidenced (Faubel *et al.* 2008); the toxic effect of this metal produces the release of cytochrome c and the formation of free radicals, which will also promote an increase of MTs (Chelomin *et al.* 2005; Buico *et al.* 2008). Since mantle is a tissue with high vascularization, it possibly plays an active metabolic role synthesizing MTs and other proteins in the presence of Cd, as is also found in the hepatopancreas (Faubel *et al.*, 2008). In order to study the effect of Cd and other xenobiotics on MTs of *P. imbricata* it would be necessary to verify the aforementioned hypothesis.

The results did not show significant differences in the index RNA/DNA in individuals exposed to different concentrations of Cd. The great variability and high dispersal indices in each treatment made evident the different responses of enzymatic activation in the metabolism. Lodeiros *et al.* (1996) indicate that such variability limits the usefulness of this index to predict the growth in the scallop *Euvola ziczac* in sizes where reproduction as a physiological process is implicated; nevertheless, since in the present study juvenile individuals were used, the variability of this index in the pearl oyster could be associated to the influence of metabolic processes other than reproduction. Antón *et al.* (2008) show that the reduction of the index RNA/DNA in *Donax denticulatus* exposed to Cd was associated to a decrease in the levels

of RNA due to a decline in the synthesis of these biomolecules. Many biomolecules such as glutathione, metallothionein and proteins with capacity to inactivate the metal requires energy for their synthesis. Likewise, those proteins related to the antioxidant activity of the body could be activated as a consequence of the capacity of Cd and other metals to induce oxidative stress in the organisms (Nusetti *et al.*, 2001; Risso *et al.*, 2004).

In the experiment of sublethal effects of Cd, the dry mass of the pearl oyster did not show significant differences among the tested concentrations of the metal. It is possible that, regardless of the starvation stage of the individuals, the time of exposure was not long enough for a detrimental effect on the dry mass of the tissues to become evident. These results agree with those of Villegas *et al.* (2015) in the exposure to Cd in three sizes of *P. imbricata* (including juveniles). Likewise, in a study on exposure and accumulation of Cd in the Green mussel, *Perna viridis*, during a longer period (7 days), the dry mass of the tissues was not an adequate index to detect effects of the xenobiotic agent on these species (Narváez *et al.*, 2005).

CONCLUSION

Shell regeneration in the ventral zone can be an adequate index to observe sublethal effects of Cd in *P. imbricata*. The use of shell regeneration could be suggested as a simple index in toxicological tests with bivalve mollusks, although feasibility tests should be made with other xenobiotics and others species.

CITED LITERATURE

- Antón, Y., M. Lemus y K. Chung. 2008. Índice ARN/ADN como indicador de la condición fisiológica en ejemplares de *Donax denticulatus* expuestos a dosis subletales de cadmio. *Saber*, 20(2):149-154.
- Barrera, G. 2006. Toxicidad del cromo y cadmio en ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin) de la Laguna de Mandinga, Veracruz. Trabajo de Postgrado. Postgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, DF. 228 p.

- Borthwick, P. and J. Patrick. 1982. Use of aquatic toxicology and quantitative chemistry to estimate environmental deactivation of marine-grade creosote in seawater. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1:281-288.
- Buico, A., C. Cassino, F. Dondero, L. Vergani and D. Osella. 2008. Radical scavenging abilities of fish Mt-A and mussel Mt-10 metallothionein isoforms: An ESR study. *J. Inorg. Biochem.* 102(4):921-92.
- Canino, M. and E. Caldarone. 1995. Modification and comparison of two fluorometric techniques for determining nucleic acid contents of fish larvae. *Fish. Bull.* 93:158-165.
- Chelomin, V. M. Zakhartsev, A. Kurilenko and N. Belcheva. 2005. An *in vitro* study of the effect of reactive oxygen species on subcellular distribution of deposited cadmium in digestive gland of mussel *Crenomytilus grayanus*. *Aquat. Toxicol.*, 73(2):181-189.
- Dahms, H. 2014. The grand challenges in marine pollution research. *Front. Mar. Sci.*, 9:1-5.
- Faubel, D., M. Lopes, S. Freitas, L. Pereira, J. Andrade, J. Checa, H. Frank, T. Matsuda and J. Machado. 2008. Effects of the cadmium metabolism and shell mineralization of bivalve *Anodonta cygnea*. *Mar. Freshwat. Behav. Physiol.*, 4:131-146.
- Lemus, M., L. Marín, A. Aponte and K. Chung. 2012. Metalotioneínas, glutatión y consumo de oxígeno en el bivalvo *Perna viridis* expuesto a cadmio. *Rev. Cient. Fac. Cienc. Vet.*, 4:376-382.
- Lodeiros, C., R. Fernández, A. Bonmatí, J.H. Himmelman and K. Chung. 1996. Relation of RNA/DNA ratios to growth for the scallop *Euvola (Pecten) ziczac* in suspended culture. *Mar. Biol.*, 126:245-251.
- Lodeiros, C. 2011. Selección de especies de moluscos bivalvos en el nororiente de Venezuela para ser utilizados en bioensayos de toxicidad. X Latinoamerican Congress of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 53 (resúmenes).
- Lowe, J. P. Wilson, J. Rick and J. Wilson. 1971. Chronic exposure of oysters to DDT, toxaphene and parathion. *Proc. Natl. Shellfish. Ass.*, 61:71.
- Lucas, A. and P. Beninger. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture.*, 44:187-200.
- Meng, W., Y. Qin, B. Zheng and L. Zhang. 2008. Heavy metal pollution in Tianjin Bohai Bay, China. *J. Environ. Sci. China.*, 20:814-819.
- Narváez, N., C. Lodeiros, O. Nusetti, M. Lemus y A. Maeda. 2005. Incorporación, depuración y efecto del cadmio en el mejillón verde *Perna viridis* (L. 1758) (Mollusca: Bivalvia). *Ciencias Marinas.*, 31:91-102.
- Nascimento, I., C. Sousa e M. Nipper. 2002. Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil. Editorial Artes Gráficas e Indústria Ltda. Salvador, Brasil.
- Nusetti, O., M. Esclapes, M. Salazar, S. Nusetti and S. Pulido. 2001. Biomarkers of oxidative stress in the polichaete *Eurythoe complanata* (Amphinomidae) under short term copper exposure. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 66:576-581.
- Parrish, P., S. Schimmel, J. Hansen, J. Patrick and J. Forester. 1976. Chlordane: Effects on several estuarine organisms. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 1:485.
- Risso, C., N. Orsini, G. De Sousa and R. Rahmani. 2004. Cadmium-induced apoptosis through the mitochondrial pathway in rainbow trout hepatocytes: involvement of oxidative stress. *Aquat. Toxicol.*, 69(3):247-58.
- Sadiq, M. 1992. Toxic metal Chemistry in Marine Environments. Environmental Science and Pollution Control Series. 1. Marcel Dekker, Inc. New York. 390 p.
- Schimmel, S., P. Parrish, D. Hansen, J. Patrick J. and J. Forester. 1975. Endrin: effects on several estuarine organisms. *Proc. 28th Ann. Conf. Southeast Assoc. Game Fish Comm*, pp. 187-194.
- Steven, C., J. Schimmel, J. Patrick and J. Forester. 1977. Uptake and toxicity of

- toxaphene in several estuarine organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 5:353-367.
- Tynan, S., S. Eiggins, L. Kinsley, S. Welch and D. Kirste. 2005. Mussel shells as environmental tracers: an example from the Loveday Basin. In: Roach, I.C. (Ed.), Ten years of CRC LEME. CRC LEME, pp. 314-117.
- US-EPA (Environmental Protection Agency of the United States of America). 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA/600/4-90/027F.
- US-EPA (Environmental Protection Agency of the United States of America). 1996. Oyster acute toxicity test (shell deposition). Prevention, Pesticides and Toxic Substances. EPA 712-C-96-115.
- Villegas, L. 2000. Efectos tóxicos del cadmio en la ostra perla *Pinctada imbricata* Röding, 1798 (Mollusca: Bivalvia). Tesis, maestría. Postgrado en Ciencias Marinas, Universidad de Oriente. 58 p.
- Villegas, L., C. Lodeiros, K. Malavé, J. Revilla y M. Lemus. 2015. Efecto subletal del Cadmio en la ostra perla del Caribe *Pinctada imbricata* Röding, 1798. Saber., 27(1):37-45.
- Yuan, Ch., J. Shi, B. He, J. Liu, L. Liang and G. Jiang. 2004. Speciation of heavy metals in marine sediments from the East China Sea by ICP-MS with sequential extraction. Environ. Inter., 30:769-783.
- Yu, D. and K. Chu. 2006. Low genetic differentiation among widely separated population of the pearl oyster *Pinctada fucata* as revealed by AFLP. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 333:140-146.

Rendimiento, composición química y digestibilidad de dos cultivares de pasto Guinea, sometidos a diferentes edades de corte

Yield, chemical composition and digestibility of two cultivars of Guinea grass, subjected to different cutting ages

Carlos Romero¹ y Alexander Sánchez¹

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). INIA Falcón. Coro. Venezuela.*Correo electrónico: cromero@inia.gov.ve.

RESUMEN

Con el objeto de estudiar el efecto de la edad al corte sobre el rendimiento, la composición química y la digestibilidad de los cultivares de pasto Guinea común y Mombasa, se condujo un ensayo en una finca ubicada en el municipio Federación, estado Falcón, Venezuela, zona con condición climática de bosque seco tropical, con suelos de fertilidad mediana a baja, baja salinidad, pH ligeramente ácido y textura pesada. El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 2x5 (2 cultivares x 5 edades de corte), con tres repeticiones. Se determinó el rendimiento en materia seca (MS) y materia orgánica (MO); las variables de la composición química estudiadas fueron: proteína cruda (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD); igualmente se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO). Las evaluaciones se realizaron a 14, 28, 42, 56 y 70 días de edad al corte para ambos cultivares. Los resultados obtenidos muestran un rendimiento similar entre cultivares. Igualmente un efecto ($P < 0,001$) de la edad de rebrote en todas las variables estudiadas, así MS, MO, FND, FAD y LAD incrementaron a medida que avanzó la edad, mientras que DIVMO y PC disminuyeron. Los contenidos en PC y LAD mostraron diferencias ($P < 0,001$) entre cultivares y una interacción edad*cultivar. Los valores promedios de PC (16,2%); DIVMO (72,6%) y LAD (4,6%) del cultivar mombasa indican su mejor desempeño y calidad frente al cultivar común (PC=14,8%; DIVMO=67,6% y LAD=6,0%).

Palabras clave: *Panicum máximum*, cultivar Mombasa, rendimiento, composición química, edad al corte, digestibilidad.

ABSTRACT

In order to study the effect of cutting age on yield, chemical composition and digestibility of Guinea grass, common and Mombasa cultivars, a trial was conducted on a farm located in the Federation municipality, Falcón state, Venezuela, area with climatic condition of tropical dry forest, with medium to low fertility soils, slightly acidic pH, low salinity and heavy texture. The experimental design was completely randomized with a 2x5 factorial arrangement (2 cultivars x 5 cutting ages), with three repetitions. The dry matter yield (DM) and organic matter (OM) were determined; the chemical composition variables studied were crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and lignin acid detergent (LAD); *in vitro* digestibility of organic matter (IVDOM) was also determined. The evaluations were made at 14, 28, 42, 56 and 70 days of cutting age for both cultivars. The results obtained show a similar performance among cultivars. Likewise, the effect of regrowth age in all the variables studied, DM, OM, NDF, ADF and LAD increased ($P < 0.001$) as the age progressed, while IVDOM and CP decreased. The PC and LAD contents showed differences ($P < 0.001$) between cultivars and an age*cultivar interaction. The mean values of CP (16.2%), IVDOM (72.6%) and LAD (4.6%) for Mombasa cultivar indicate a better performance and quality compared to the common cultivar (PC = 14.8%, IVDOM = 67.6% and LAD = 6.0%).

Key words: *Panicum máximum*, Mombasa cultivar, yield, chemical composition, B cutting age, digestibility.

Recibido: 07/11/14 Aprobado: 21/02/18

INTRODUCCIÓN

La producción animal (carne y leche) establecida en pasturas de gramíneas tropicales, se caracteriza generalmente por bajos rendimientos debido al crecimiento estacional y bajo valor nutritivo del forraje producido. (Ramírez *et al.*, 2009).

A medida que los pastos envejecen su calidad disminuye a causa del aumento de elementos estructurales con la disminución asociada de carbohidratos solubles, proteínas, minerales y digestibilidad. Por tanto el factor más importante que afecta la calidad de los pastos es la edad de rebrote o edad de cosecha o pastoreo, la cual es independiente de la especie. (Ortega-Gómez *et al.*, 2011).

Las variaciones en la producción de materia seca (MS), composición química y digestibilidad de una especie forrajera dada, producto de los cambios estacionales y la edad, son datos esenciales que permiten comprender los procesos involucrados en la utilización del forraje por parte del animal. Las prácticas culturales y de manejo deben ser diseñadas para obtener un balance apropiado entre el rendimiento, la composición química y la digestibilidad, a fin de obtener una producción animal eficiente (Torregrozza *et al.*, 2006).

Los factores que determinan la composición química de los pastos son diversos. Entre ellos se citan factores propios de la planta (especie, edad, morfología, etc.), factores ambientales (temperatura, radiación solar, precipitación, fertilidad y tipo de suelo) y factores de manejo que el hombre ejerce sobre la pastura (Alonso *et al.*, 2009; Coauro *et al.*, 2004).

La ganadería bovina de Venezuela y en particular del estado Falcón, se desarrolla a base de pastizales naturales y cultivados; en la mayoría de los casos en condiciones de secano, razón por la cual, la producción forrajera presenta fluctuaciones según la distribución de las precipitaciones, afectando la disponibilidad y calidad del forraje (Homen *et al.*, 2010). A esta situación se suma el bajo contenido de nutrientes de los suelos, que origina carencias de minerales en las dietas establecidas únicamente en pastizales.

La actividad ganadera bovina en el estado Falcón se ha basado en el uso del pasto Guinea (*P.*

maximum), cv común, siendo considerado como una especie naturalizada. Sin embargo, debido a problemas de mal manejo y/o adaptación a las condiciones agroecológicas que limitan su persistencia en el tiempo, se han introducido otros cultivares y especies de pastos. Este es el caso del cv Mombasa, cuya introducción en la zona es reciente, sin que se hayan adelantado las investigaciones necesarias para obtener referencias técnicas y científicas que permitan a los ganaderos y profesionales regionales, una visión clara sobre las potencialidades y limitaciones de esta especie.

Fundamentado en la situación descrita anteriormente, el presente trabajo tiene como objetivo principal identificar las variaciones en el rendimiento, composición química y digestibilidad del *P. máximo*, cultivares común y mombasa, debidas a los efectos de la edad al corte.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en una finca ubicada en el municipio Federación, estado Falcón, Venezuela, con posición geográfica de 10° 45' latitud N y 69° 31' longitud W, situada a una altura de 700 m.s.n.m, con medias anuales de temperatura de 27 °C. En la Figura 1, se indican los datos de la precipitación promedio de la zona, la observada durante el año del ensayo y los riegos suplementarios realizados para evitar el déficit hídrico (Datos propios, 2006). El análisis de suelo mostró valores de mediana a baja fertilidad, ausencia de problemas de salinidad, pH ligeramente ácido y textura pesada (Cuadro 1).

Diseño: completamente al azar con un arreglo factorial 2x5 (dos cultivares y cinco edades de corte) y tres repeticiones.

Variables: se consideraron variables independientes, los cultivares Mombasa y común de *Panicum máximo* Jacq, y la edad al corte: 14, 28, 42, 56 y 70 días. Como variables dependientes: la biomasa, expresada en MS y MO, la DIVMO y los elementos de la composición química: PC, FND, FAD, LAD y Cenizas.

Muestras: se seleccionaron dos parcelas contiguas, establecidas el año 2005, cada una correspondiente a cada cultivar estudiado y

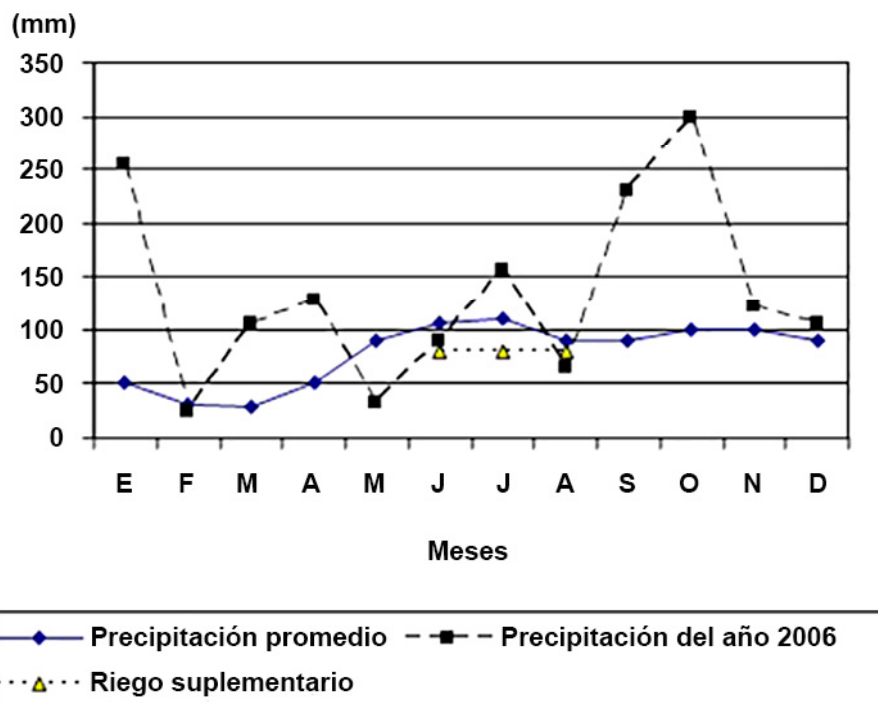


Figura 1. Valores de precipitación y riego suplementario durante el ensayo.

Cuadro 1. Análisis de suelo.

% Arena	% Limo	% Arcilla	Textura	Fósforo mg.kg ⁻¹	Potasio mg.kg ⁻¹	Calcio mg.kg ⁻¹	Materia Orgánica %	pH	C.E: dS.m ⁻¹ a 25°
9,0	32,0	59	A	8	13	411	5,05	5,9	0,07
				Baja	Muy Bajo	Alto	Alto		Bajo

con condiciones agroecológicas homogéneas. En cada una se seleccionó un área con una superficie de 90 m² (9m x 10m), de cobertura uniforme; ésta superficie fue dividida en tres parcelas de 30 m² (3m x 10m c/u) y éstas a su vez, fueron subdivididas en 5 subparcelas de 6 m² (3m x 2 m c/u), a fin de establecer los lotes correspondientes a las diferentes edades de corte. Demarcadas las parcelas y subparcelas se realizó un corte de uniformidad el día 02 de junio, prolongándose los muestreos hasta el 11 de agosto de 2006.

Determinación de la biomasa, composición química y digestibilidad de las muestras: en cada parcela se cortó el pasto a una altura de 10 cm del suelo, se determinó el peso del material cortado y se tomó una sub-muestra de 2 Kg de material verde que fue transportada al laboratorio en sacos de nylon. Esta sub-muestra fue colocada en estufa de ventilación forzada a una temperatura de 50°C durante 72 h, con la finalidad de evaluar el contenido de MS. Luego fueron molidas en un molino tipo Willey, provisto de una criba de 1 mm de diámetro, y guardadas en recipientes de vidrio. En cada cultivar se conformaron muestras por fecha y

parcela (n=15), que fueron sometidas a análisis bromatológico. Se determinó el nitrógeno total de acuerdo al método de Kjeldhal (AOAC, 1994), lo que permitió conocer los contenidos de MO, Cenizas y PC. Se evaluó FND según la metodología de Van Soest (1994), FAD y LAD con la metodología de Van Soest *et al.* (1991). La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), se determinó de acuerdo a la metodología de Tilley y Terry (1963), modificado por Goering y Van Soest (1970) y ajustado por Ankom (2005).

Análisis estadístico: se realizó un análisis de covarianza mediante el procedimiento GLM; se consideró el cultivar como efecto fijo y la edad al corte como covariable. Para el efecto fijo, se separaron sus componentes lineal y cuadrática, mediante contrastes polinomiales, considerando igualmente las interacciones a estos niveles. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SAS versión 6.12 (SAS, 1985).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de los cultivares estudiados

El análisis del rendimiento de los dos cultivares de Guinea, no mostró diferencias significativas para el rango de edades entre 14 y 70 días; siendo los valores promedios de 2.790 y 2.492 Kg MS/ha/corte en materia seca y 1.710y 1.718 Kg MO/ha/corte en materia orgánica, para Guinea común y Mombasa respectivamente.

Al contrastar el rendimiento obtenido para el cultivar Mombasa con lo reportado en la literatura, se evidencia variabilidad de los valores obtenidos en el presente estudio con respecto a las investigaciones previas. En este sentido, se han descrito rendimientos desde 2.470 Kg MS/ha a los 42 días de rebrote (Mesquita y Neres2008); 3.177 Kg MS/ha con acumulación de 49 días (Ramírez *et al.*, 2009); 6400Kg MS/ha a los 90 días de crecimiento (Cruz *et al.*, 2012); y 10.750 Kg MS/ha a los 56 días de crecimiento acumulado (Barillas *et al.*, 2012).

Para la guinea común, Homen *et al.* (2010), han referido comportamientos similares, al describir una biomasa promedio de 2.952 Kg MS/ha en el período de mínima precipitación. Igualmente describe incrementos entre 3.708 y 4.223 Kg MS/ha a los 35 y 42 días de edad, respectivamente, sin presentar diferencias significativas con la biomasa obtenida a los 56 días.

Se infiere que el bajo rendimiento expresado por los dos cultivares del presente estudio, se producen en respuesta a las condiciones de mediana a baja fertilidad que presenta el suelo y la época climática.

En ambas especies se observó un incremento significativo del rendimiento ($P < 0,001$) con el aumento de la edad; los promedios fueron 592, 1043, 2607, 3294 y 5669 Kg MS/ha para las edades de 14, 28, 42, 56 y 70 días, respectivamente Figura 2. Esta tendencia de aumento del rendimiento con el incremento de la

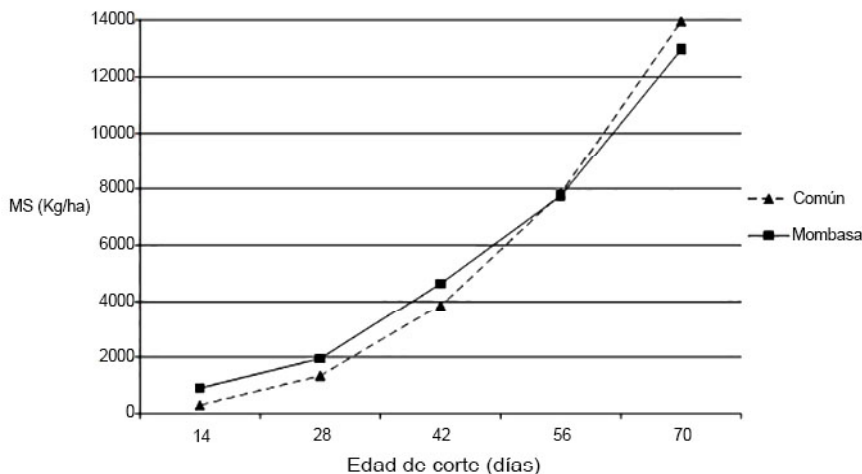


Figura 2. Evolución de la biomasa acumulada en dos cultivares de Guinea según la edad al corte.

edad de corte, han sido reportados previamente (Díaz y Manzanares, 2006; Verdecia *et al.*, 2009). En el presente estudio, los dos cultivares aún continúan en fase de crecimiento hasta los 70 días de edad, lo cual es concordante con el trabajo de Garcia-Cardoso *et al.* (2009) quienes afirman que en las condiciones de su investigación, la fase de máximo crecimiento ocurre entre 56 y 70 días.

Al expresar el rendimiento en Kg MS/ha/año, se mantienen las diferencias significativas entre edades de corte, pero no entre especies de Guinea. El rendimiento obtenido a los 42 días (23462 Kg MS/ha/año) supera al de 56 días (19763 Kg MS/ha/año), y se mantiene cercano al alcanzado a los 70 días (28347 Kg MS/ha/año). No obstante lo anterior, el corte a los 42 días mantiene la ventaja debido al número de pastoreos posibles en el año (9 veces), mientras que para las edades de 56 y 70 días, ese número disminuye a 6 y 5, respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por Ramírez *et al.* (2009), quienes reportan un acumulado de 24300 Kg MS/ha, durante un año, en cortes cada 49 días.

Ramírez *et al.* (2010), explican que el incremento del rendimiento con la edad puede deberse principalmente al aumento del proceso fotosintético y con ello la síntesis de carbohidratos estructurales, lo que trae consigo acumulación de materia seca, influyendo de forma directa los factores edafoclimáticos predominantes.

Composición química de los cultivares de guinea estudiados

Los resultados de composición química para cada cultivar se muestran en el Cuadro 2. El

contenido en PC mostró diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre cultivares; el cultivar Mombasa resultó superior con un valor promedio de 16,2% en relación a 14,8% del cultivar común.

El valor de proteína reportado en este ensayo es superior al descrito por Mesquita y Neres (2008), quienes refieren valores de 12,76% para Mombasa a los 42 días de rebrote sin fertilización.

En cuanto al parámetro LAD, el cv Mombasa presentó el menor contenido ($P < 0,001$). Para las variables FND, FAD y Cenizas no se observaron diferencias entre los cultivares de Guinea estudiados.

Los contenidos de LAD obtenidos son inferiores a los reportados por Ortega-Gómez *et al.* (2011), quienes describen 9,2% y 8,4%, para el cv común y el cv Mombasa, respectivamente. Éstos investigadores igualmente obtuvieron valores superiores para FND (68,9% y 74,8%), y para FAD (47,1 y 48,7%), en los cultivares Mombasa y común, respectivamente. Esto probablemente causado por una mayor edad de rebrote (84 días) y diferentes condiciones hídricas y de suelo reportados en ese estudio. De igual forma, refieren ausencia de diferencias para FND y FAD entre los cultivares Mombasa y Privilegio (común).

Relación del rendimiento de MS y el contenido de nutrientes

Los cultivares estudiados mostraron una relación inversa entre la producción de MS y su calidad bromatológica, la cual varía con la edad al corte (Cuadro 3). En las etapas tempranas de crecimiento la producción de biomasa es baja, los contenidos de FAD, FND y LAD son bajos,

Cuadro 2. Composición química de los cultivares de Guinea.

VARIABLE	PC (%)	FND (%)	FAD (%)	LAD (%)	CENIZAS (%)
Guinea común	14,8	65,6	39,3	6,0	10,0
Guinea Mombasa	16,2	64,3	38,0	4,6	10,0
Media	15,5	64,9	38,6	5,3	10,0
P	<0,001	0,078	0,165	<0,001	0,956

PC: proteína cruda; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente.

Cuadro 3. Efecto de la edad al corte sobre el rendimiento y la composición química de pasto Guinea.

EDAD (días)	MS (Kg/ha)	PC (%)	FND (%)	FAD (%)	LAD (%)	CENIZAS (%)
14	592	21,5	59,5	33,7	3,7	10,5
28	1043	17,2	62,5	36,3	4,4	10,2
42	2607	13,8	66,4	39,7	5,4	9,8
56	3294	13,7	66,7	40,8	5,7	10,2
70	5669	11,2	69,9	42,9	6,9	9,3
Efectos						
Lineal	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Interacciones						
Edad*cultivar	0,5494	<0,001	0,002	0,002	0,004	0,034
R ²	-	0,98	0,84	0,75	0,85	0,61

PC: proteína cruda; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente.

mientras que el contenido de PC es alto; con el avance de la edad esta relación se invierte.

Este mismo comportamiento es descrito por Vasconcelos *et al.* (2009) en Guinea Mombasa. Estos investigadores reportaron en base a MS, porcentajes de PC de 8,10; 7,10; 7,31 y 5,66; y de FND de 55,85; 60,21; 62,35 y 64,12; para edades de corte de 35, 45, 55 y 65 días, respectivamente.

Se considera que la edad de rebrote constituye uno de los factores de mayor influencia en el crecimiento y la calidad de los pastos, y a medida que la edad al corte es mayor, el rendimiento también se incrementa y la calidad nutricional desciende (Pérez *et al.*, 2010).

Según Ramírez *et al.* (2010), el incremento del rendimiento de materia seca con la edad, está relacionado con el aumento del proceso fotosintético en la planta, y con ello, la síntesis de carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina); los cuales originan la disminución progresiva de la calidad del pasto a medida que aumenta la edad. Para Ortega-Gómez *et al.* (2011), las gramíneas con tasas de crecimiento más altas tienden a tener menor calidad nutritiva debido a que la mayor producción de MS aumenta la necesidad de formar las paredes celulares más fibrosas.

De acuerdo a lo anterior, se deduce que las tasas de crecimiento y la calidad nutritiva a la edad de rebrote tienen una relación inversa, por lo que debe establecerse un equilibrio entre estas dos variables con el fin de maximizar el rendimiento, tanto por animal como por hectárea.

Composición química de los cultivares de pasto Guinea según la edad al corte

Se produjo una disminución lineal ($P < 0,001$) del contenido de PC a medida que se incrementaba la edad al corte, concordantes con los dos cambios de pendiente que presentó este descenso, en ambos cultivares (Figura 3). Se puede apreciar una disminución importante hasta el día 42, un periodo estable hasta el día 56 y, a partir de esa edad, una caída moderada. Barillas *et al.* (2012), observaron una tendencia similar durante un estudio de calidad nutricional de la Guinea Mombasa, en el que reportaron una disminución lineal del porcentaje de PC, desde 11,76 a 9,11% a 30 y 58 días, respectivamente.

En el análisis de la PC, igualmente se observó una interacción edad*cultivar altamente significativa ($P < 0,001$); el cultivar común resultó superior a los 14 días de edad, pero a los 42 días el cultivar Mombasa fue superior y se mantiene en forma

sostenida durante las edades subsiguientes (Figura 3).

Ésta disminución se debe a un descenso de la actividad metabólica de los pastos a medida que avanza la edad de rebrote y con ésta, la síntesis de compuestos proteicos, lo cual origina una disminución progresiva de la calidad del pasto (Pérez *et al.*, 2010).

Las interacciones obtenidas en el presente estudio no coinciden con lo reportado por Coauro *et al.* (2004), al comparar los mismos cultivares en diferentes edades del rebrote. Éstos investigadores observaron los siguientes contenidos de PC: 17% vs. 12% a los 21 días, 12% vs. 10% a los 42 días y 11% vs. 9% a los 63 días, para cv común y cv Mombasa respectivamente. Estas diferencias posiblemente fueron causadas por condiciones de fertilidad del suelo diferentes a las observadas en el presente ensayo.

Ramírez *et al.* (2010), reportaron una disminución del tenor de proteína durante el envejecimiento de la planta, lo cual fue relacionado con la reducción de la síntesis de compuestos proteicos, en comparación con los estadios más jóvenes. Además, con el aumento de la edad disminuye la cantidad de hojas vivas, debido a la senescencia. Otros factores como la disponibilidad de agua, el nitrógeno del suelo, la temperatura pudieran influir en este comportamiento.

La interacción edad*cultivar resultó significativa ($P < 0,0001$) para los contenidos de FND y FAD; el cv común presenta valores inferiores a los 14 y 28 días, mientras que en las edades subsiguientes esa relación se invierte y es Mombasa el cultivar que presenta los menores contenidos de ambos parámetros (Figuras 4 y 5). Estos resultados coinciden con lo reportado por Coauro *et al.* (2004), quienes reportan valores inferiores de FND a los 21 días en cv común comparado al cv Mombasa. Igualmente reflejan que el cultivar común presenta una mejor calidad solo en las etapas tempranas.

Ramírez *et al.* (2012), concluyen que la relación inversa entre el contenido de proteína y la fracción fibrosa, pudiera describir el antagonismo clásico que existe en la formación de proteína foliar y los compuestos mayoritarios de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina), aspecto que ha sido descrito en el follaje de otras especies durante el proceso de envejecimiento de la biomasa y que da respuesta al comportamiento entre estas variables. Asimismo, afirman que la influencia negativa del incremento de la edad explica la disminución de la digestibilidad de la materia seca y orgánica. Igualmente explican que la composición nutricional se ve afectada por la especie de planta, etapa de crecimiento, medio ambiente, los insumos (luz, nutrientes, agua, entre otros) y el manejo.

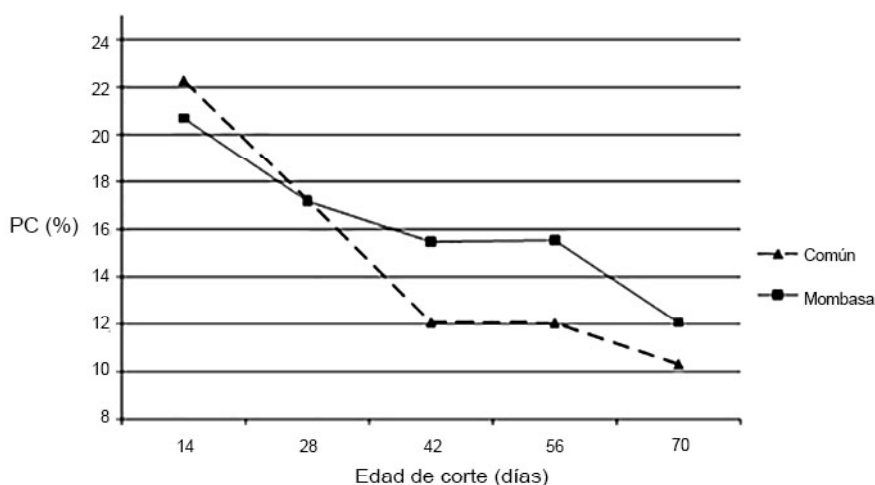


Figura 3. Evolución de la PC en dos cultivares de Guinea según la edad al corte.

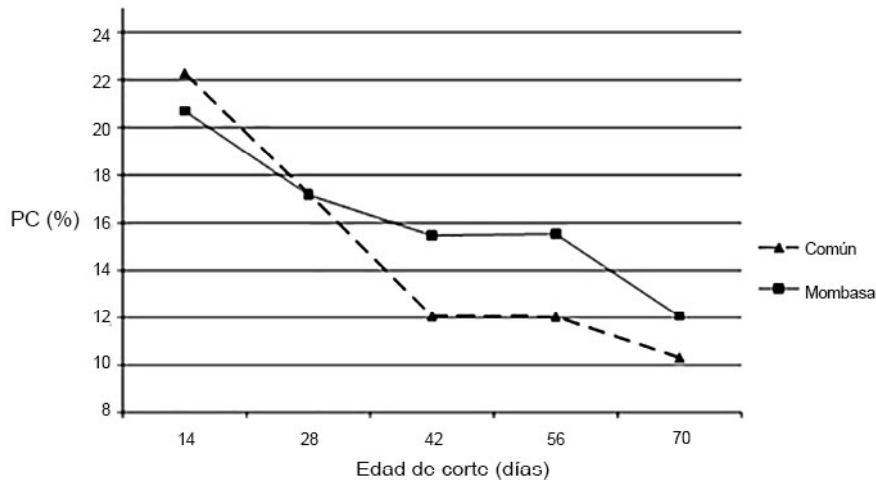


Figura 4. Evolución de la FND en dos cultivares de Guinea según la edad al corte.

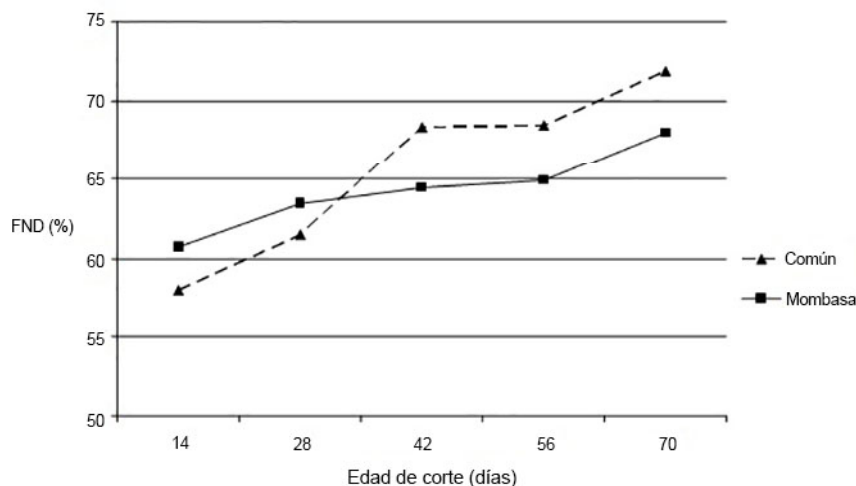


Figura 5. Evolución de la FAD en dos cultivares de Guinea según la edad al corte.

El contenido de LAD, también mostró una interacción cultivar*edad al corte ($P=0,004$). A los 14 y 28 días, se obtuvieron valores similares en los dos cultivares (3,6% y 4,4% el cv común vs. 3,7% y 4,4% el cv Mombasa); a partir de los 42 días, las diferencias se hacen evidentes (Figura 6), con valores inferiores para el Mombasa (4,1%; 4,9% y 5,6%) frente a la Guinea común (6,6%; 6,5% y 8,2%), para 42, 56 y 70 días de edad de rebrote respectivamente.

Según Casler y Jung (2006) las diferencias de composición de nutrientes entre los cultivares son atribuidas a la madurez de la planta,

distribución de la biomasa, la concentración de fibra y la composición estructural (porcentaje de hojas y tallos). A medida que se incrementa la edad del pasto disminuye la relación hoja tallo, es decir aumenta la proporción de tallos (Ramírez *et al.*, 2009).

A medida que el pasto madura, los contenidos de la pared celular se hacen cada vez más elevados debido al crecimiento secundario de la misma, producto de la lignificación. La lignina constituye un carbohidrato estructural complejo (polímero fenólico), heterogéneo, que se encuentra incrustado en la pared celular de

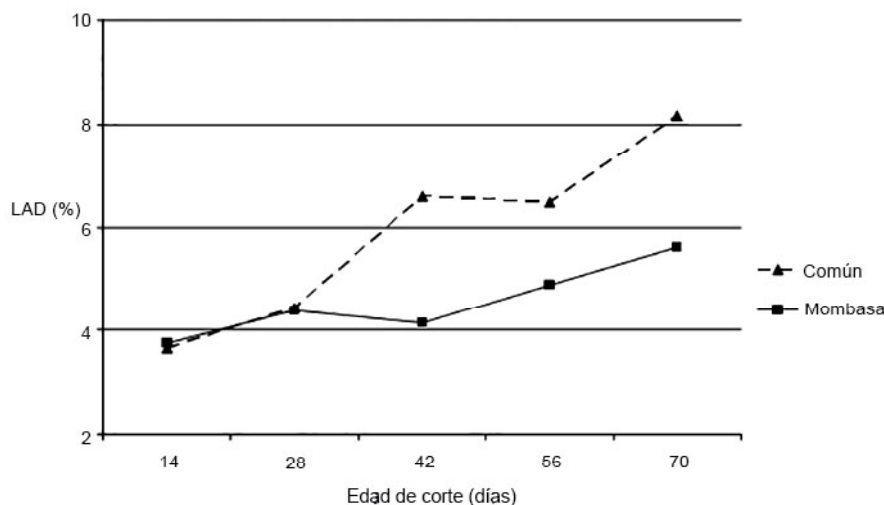


Figura 6. Evolución del contenido de LAD en dos cultivares de Guinea según la edad al corte.

los tejidos vegetales y no es digerible por los microorganismos ruminales, ni por las enzimas intestinales (Herazo y Morelo, 2008).

Para Ramírez *et al.* (2010), el aumento de la lignina debido al envejecimiento de la planta puede estar estrechamente relacionado con el grado de rigidez de la misma, la resistencia de los tejidos vasculares y la conducción de solutos, agua y sales minerales necesarias para su supervivencia. Estos procesos se incrementan de manera concomitante con la madurez fisiológica del pasto, lo cual se presenta de forma más marcada en el período lluvioso, donde los factores del clima aceleran dicha maduración.

Digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) y su relación con las variables estructurales estudiadas

En cuanto a la DIVMO, los resultados del análisis de varianza muestran diferencias significativas ($P < 0,001$) entre cultivares, siendo los promedios de 67,6% y 72,6% para el cv común y el cv Mombasa respectivamente. Se registró una disminución lineal ($P < 0,001$) de la digestibilidad, en la medida que se incrementó la edad al corte (Cuadro 4). Esto se produce como respuesta al aumento en los contenidos de FND, FAD y LAD; lo descrito está relacionado con el incremento de la concentración de lignina más rápidamente en los tallos que en las hojas y el aumento simultáneo de la proporción de tallos. La elevación del contenido de lignina, dada su

función protectora, trae como consecuencia una disminución en el grado de digestibilidad del pasto.

Las interacciones edad*cultivar ($P < 0,001$) y el efecto cuadrático edad*cultivar ($P = 0,001$) se derivan de la pérdida más acelerada de digestibilidad en la Guinea común. La misma presentó un valor ligeramente más alto de digestibilidad comparado al de Guinea Mombasa, *únicamente* a los 14 días de rebrote (81,1% contra 80,4%). Los valores para cv Mombasa a los 28, 42, 56 y 70 días, fueron 77,4%; 74,2%; 67,1% y 63,8% respectivamente, mientras que para cv común fueron 73,8%; 64,3%; 62,6% y 56,1% para las mismas edades. Esta diferencia sostenida a favor de cv Mombasa se observa en la Figura 7.

Una mayor concentración de PC y menores contenidos en FND, FAD y LAD observados en el cultivar Mombasa para las tres últimas edades de corte, concuerdan con el comportamiento de la DIVMO. Estos datos permiten inferir la superioridad de éste cultivar para el suministro de nutrientes al rumiante, en cualquier edad racional de aprovechamiento.

Los valores de DIVMO del cultivar Mombasa observados en este estudio, son superiores a los reportados por Verdecia *et al.* (2008), en *P. máximum*, cultivar Tanzania (69,28%; 64,48%; 60,42% y 59,08% a los 30, 45, 60 y 75 días respectivamente), lo que confirma la diferencia

Cuadro 4. Efecto de la edad al corte sobre la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica.

EDAD (días)	DIVMO (%)
14	80,7
28	75,6
42	69,3
56	64,9
70	59,9
Efectos	
Lineal	<0,001
Interacciones	
Efecto lineal edad*cultivar	<0,001
Efecto cuadrático edad*cultivar	0,001
RSD	1,22
CV	1,73
R ²	0,98

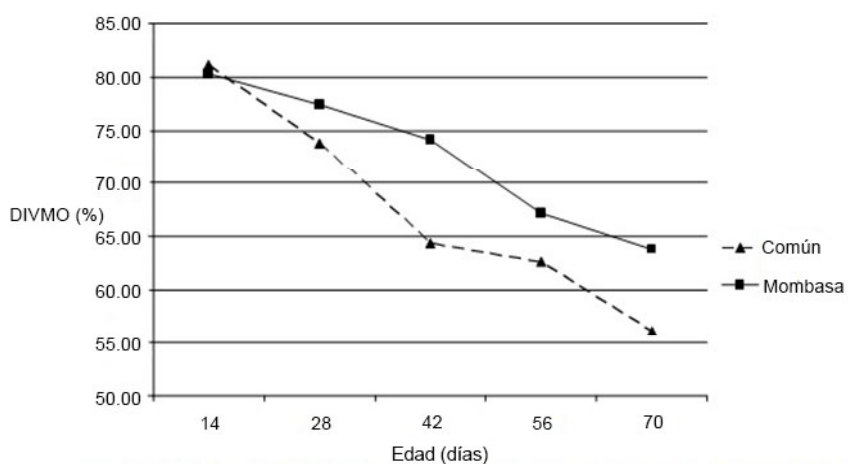


Figura 7. Evolución de la DIVMO en dos cultivares de guinea según la edad al corte.

entre cultivares y superioridad frente al cv común. Igual tendencia es observada por Ortega-Gómez *et al.* (2011), en un estudio de determinación de la digestibilidad de la materia seca y en el que se reporta 70,1%; 63,98%; 57,86% y 51,74% para el cultivar Mombasa comparado con 68,57%; 62,15%; 55,73% y 49,31% para el cv común, a los 21,42,63 y 84 días de corte.

Según Verdecia *et al.* (2008), la disminución de la digestibilidad tanto para la materia seca como para la orgánica, con el aumento de la edad está influenciada por el crecimiento de la planta, lo que trae consigo un engrosamiento de la pared

celular, fundamentalmente de la pared primaria, lo que reduce el espacio intercelular donde se encuentran los nutrientes (proteína).

La DIVMO presenta una alta correlación con la concentración de PC ($P < 0,001$ y $R^2 = 0,90$). Esta correlación es positiva, es decir, en la medida que aumenta el contenido de PC se incrementa la DIVMO (Figura. 8).

Por otra parte, se observó correlación negativa entre la DIVMO y los contenidos de FND, FAD y LAD (Figuras 9 a 11).

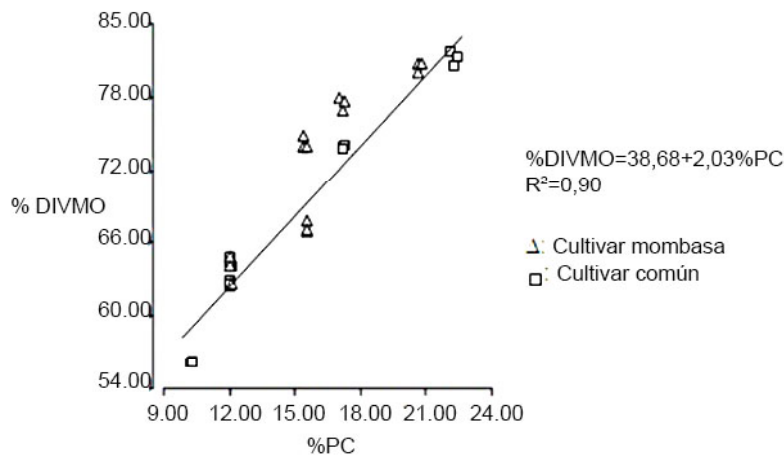


Figura 8. Correlación entre la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la proteína cruda.

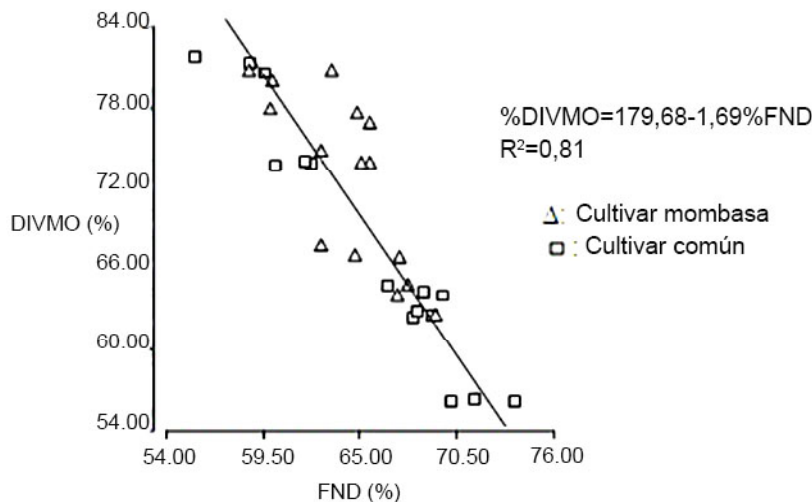


Figura 9. Correlación entre la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la fibra neutro detergente.

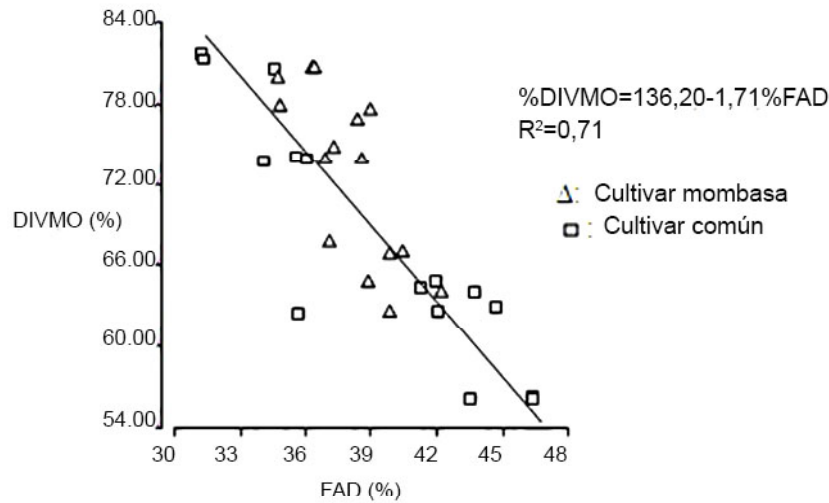


Figura 10. Correlación entre la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la fibra ácido detergente.

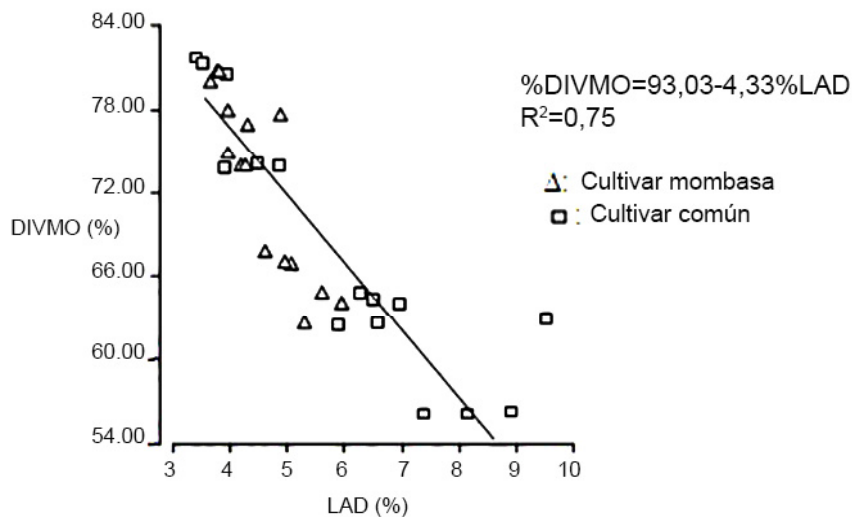


Figura 11. Correlación entre la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica y la lignina ácido detergente.

Es conocida la relación inversa que existe entre los contenidos de FND, FAD y LAD con el consumo y la digestibilidad de los pastos. La digestibilidad se encuentra negativamente correlacionada con la madurez de la planta, debido al creciente contenido de las fracciones de la pared celular (Juárez *et al.*, 2009). A medida que la planta madura, su contenido de celulosa y lignina aumenta; la primera se torna

cristalina, lo que la hace más difícil de digerir. El alto contenido de lignina es responsable de la digestión incompleta de la celulosa y la hemicelulosa, porque inhibe la digestión de los componentes de las paredes celulares, y es por tanto, el principal factor limitante de la digestibilidad de los forrajes (Herazo y Morelo, 2008).

CONCLUSIONES

Los cultivares de pasto Guinea, común y Mombasa, mantuvieron valores similares de producción de biomasa.

Éstos cultivares, mostraron comportamientos distintos relacionados con la edad al corte; el cv común presentó una evolución o maduración sensiblemente más rápida, mientras que el cv Mombasa mostró una mejor calidad y aprovechamiento.

El efecto de la edad al corte sobre la composición química y la digestibilidad del pasto Guinea, se expresó en una disminución (lineal) del contenido de proteína cruda y un incremento (lineal) de los contenidos de fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y de lignina ácido detergente, acompañados de una disminución sostenida de la digestibilidad en los dos cultivares, a medida que avanzó la edad de rebrote. Se confirma así que la edad de rebrote, edad al corte o pastoreo constituye uno de los factores más importantes y determinantes de la calidad nutritiva del forraje.

El cultivar Mombasa mostró mejor comportamiento en cuanto a calidad nutricional en edades posteriores a la cuarta semana, debido a su menor contenido de carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina), mayor tenor de proteína y mayor digestibilidad.

Se confirma que la PC y la DIVMO son los índices más apropiados para medir la calidad forrajera.

LITERATURA CITADA

- Alonso, J., G. Febles, T. E. Ruíz y G. Achang. 2008. Características bromatológicas de guinea (*Panicum maximum* cv. Likoni) en un sistema silvopastoril con leucaena (*Leucaena leucocephala* cv. Perú. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. Tomo 42(3):295.
- Ankom. 2005. In Vitro trae digestibility using the DAIYII incubator. available online: http://www.ankom.com/09_procedures/Daisy%20method.pdf [Mar. 30, 2016].
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists).1994. Official Methods of Analysis. 15ta ed. Washington, D.C. p 1015.
- Barillas, C., M. Gutiérrez y Á. Rodríguez-Petit. 2012. Dinámica del rendimiento de forraje y calidad nutricional de *Panicum maximum* cv. mombasa y *Pennisetum purpureum* cv. King grass a diferentes edades de corte. Revista Científica, FCV-LUZ /Vol. XXII, Suplemento 1.
- Casler, M. and H. Jung. 2006. Relationships of fibre, lignin, and phenolics to in vitro fibre digestibility in three perennial grasses. Anim. Feed Sci. Technol. 12(5):151-161.
- Coauro, M., B. González, O. Araujo-Febres y J. Vergara. 2004. Composición química y digestibilidad *in vitro* de tres cultivares de guinea (*Panicum maximum* Jacq.) a tres edades de corte en bosque seco tropical. Memorias XII Con. Ven. Prod. Ind. Animal. Maracay, Venezuela. p 121.
- Cruz, M., L. Curbelo, R. Guevara, J. Pereda, D. Muñoz, Y. Tamayo, L. Rivero, M. Ponce, L. Ferreiro y Y. Cabrera. 2012. Evaluación agronómica de tres gramíneas bajo condiciones edafoclimáticas. Rev. Producción anim. 24(2):1-5.
- Díaz, C. y N. Manzanares. 2006. Producción de biomasa de *Panicum maximum* cv Mombaza a tres frecuencias de corte y dos condiciones ambientales (con y sin árboles), en la Hacienda "Las Mercedes". UNA. Managua, Nicaragua. Tesis. Ing. Zootecnista. p. 60.
- García-Cardoso, C., R. Martínez, R. Tuero, A. M. Cruz, A. Romero, L. Estanquero, A. Noda y V. Torres. 2009. Evaluación de *Panicum maximum* cv. Mombaza y modelación de indicadores agronómicos durante tres años en un suelo ferralítico rojo típico de la provincia La Habana. Rev. Cubana de Ciencia Agrícola. 43(3):297-306.
- Goering, H. K., and Van Soest P. J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications), Agric. Hand book No. 379. Ars-USDA. Washington, DC. p 379.
- Herazo, R y C. Morelo. 2008. Evaluación del crecimiento vegetativo, rendimiento y calidad del cultivo de pasto guinea mombaza (*Panicum maximum*, jacq) bajo

- cuatro fuentes de abonamientos en la finca Pekín, municipio de Sincé, Sucre - Colombia. Tesis de grado, Univ. de Sucre, Fac. de Ciencias Agrop. p. 83.
- Homen, M., I. Entrena, L. Arriojas y M. Ramia. 2010. Biomasa y valor nutritivo del pasto Guinea *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs. Gamelote' en diferentes períodos del año en la zona de bosque húmedo tropical, Barlovento, estado Miranda. Rev. Zootecnia Trop. 28(2):255-265.
- Juárez, R., S. Cerrillo, O. Gutiérrez, T. Romero, N. Colín y B. Bernal. 2009. Estimación del valor nutricional de pastos tropicales a partir de análisis convencionales y de la producción de gas *in vitro*. Rev. Técnica Pecuaria en México. 47(1):55-67.
- Mesquita, E., M. Neres. 2008. Morfogênese e composição bromatológica de cultivares de *Panicum máximum* em função da adubação nitrogenada. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 9(2): 201-209.
- Ortega-Gómez, R., E. Castillo-Gallegos, J. Jarillo-Rodríguez, R. Escobar-Hernández, E. Ocaña-Zavaleta and B. Valles de la Mora. 2011. Nutritive quality of ten grasses during the rainy season in a hot-humid climate and ultisol soil. Tropical and Subtropical. Agroeco systems. 13: 481- 491.
- Pérez, A., A. Pérez y M. Figueredo. 2010. Efectos del estado de madurez en el valor nutritivo y momento óptimo de corte del forraje napier (*Pennisetum purpureum* Schum.) en época lluviosa. Rev Mex Cien Pecu. 1(3):277-286.
- Ramírez, O., A. Hernández, S. Carneiro, J. Pérez, J. Enríquez, A. Quero, J. Herrera y A. Cervantes. 2009. Acumulación de forraje, crecimiento y características estructurales del pasto Mombaza (*Panicum máximum* Jacq.) cosechado a diferentes intervalos de corte. Rev. Pecuaria de México. 47(2):203-213.
- Ramírez, J., D. Verdecia, I. Leonard y Y. Álvarez. 2010. Rendimiento de materia seca y calidad nutritiva del pasto *Panicum máximum* vc. Likoni en un suelo fluvisol de la región oriental de Cuba. REDVET, 11(7). Disponible en línea <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/pdf> [Mar. 10, 2016].
- Ramírez, J., R. Herrera, I. Leonard, D. Verdecia y Y. Álvarez. 2012. Relación de los indicadores de la calidad y la edad en dos especies de Brachiaria. Rev. electrón. vet. 13 (11). Disponible en línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet.n111112.htm>. [Mar. 10, 2016].
- SAS (Statistical Analysis System). 1985. SAS user's guide: Statistics. SAS Inst., Cary, NC.
- Tilley, J, Terry K. 1963. A two stages techniques for the in vitro digestion of forage crops. Journal of the British Grassland Society (G.B.) 18(2):104-111.
- Torregrozza, L., H. Cuadrado y A. Vega. 2006. Producción, composición química y digestibilidad del pasto braqui para (*brachiaria arrecta*) en diferentes épocas y edad de rebrote. CORPOICA. Centro de Invest. Turipana. p. 5.
- Van, Soest P. J. 1994. Nutritional Ecology of the ruminant. 2 ed. New Cork: Cornell University. p. 475.
- Van, Soest P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. DairySci. 74:3583-3597.
- Vasconcelos, W., E. Santos, A. Zanine, T. Pinto, W. Lima, R. Edvan e O. Pereira. 2009. Valor nutritivo de silagens de capim-mombaca (*Panicum máximum* Jacq) colhido em função de idades de rebrotacao. Revista Brasileira de Súde e Produccion Animal. 10: 874-884.
- Verdecia, D., J. Ramírez, I. Leonard, Y. Pascual y Y. López. 2008. Rendimiento y componentes del valor nutritivo del *Panicum maximum* cv. Tanzania. Rev. electrón. vet. 09(5). Disponible en línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvetn050508/050807.pdf> [Feb. 09, 2016].
- Verdecia, D., J. Ramírez, I. Leonard y F. García. 2009. Potencialidades agroproductivas de dos cultivares de *Panicum maximum* cv. Mombasa y Uganda. Rev. Electrón. Vet. 10(5):10-20.

Seminal characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons in Veracruz, Mexico

Características seminales de la raza Lechero Tropical evaluadas durante dos temporadas en el estado de Veracruz, México

Roberto J. Villatoro Salinas¹, Adalberto Rosendo Ponce², Rodolfo Canseco Sedano³, César Cortez Romero⁴, Glafiro Torres Hernández¹, Froylan Rosales Martínez², Carlos M. Becerril Pérez^{1*}.

¹Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, México. E-mail: rjvs_19_86@hotmail.com; glatohe@colpos.mx; color@colpos.mx ²Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz, México. ³Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Miguel Ángel de Quevedo. Veracruz, México.

Abstract

Seminal characteristics of the Tropical Milking criollo breeds are little known. The objective of this study was to characterize the Tropical Milking bull semen in two seasons, fresh (January) and hot (May) in the Sotavento region of Veracruz, Mexico. Seventy ejaculates from seven bulls of 25.6±1.7 months of age and 319.14±6.24 Kg were used, maintained in pastures of Pará grass (*Brachiaria mutica*) and commercial concentrate of 18% crude protein (4 kg d⁻¹ animal⁻¹). Five ejaculates were collected by bull in periods of four days each in every season using artificial vagina. The variables ejaculate volume (EV), sperm concentration (SCO), individual motility (IM), live sperm cells (LS), normal sperm cells (NS), mass motility (MM), color (CL), consistency (CS) and scrotal circumference (SC) were evaluated. A mixed linear model with repeated measurements using the MIXED procedure of SAS, and the GLIMMIX procedure were used. The SC was 34.2±0.2 cm and the correlation with ejaculate volume r=0.55 (P≤0.05). There were no differences (P>0.05) between seasons for EV, LS and CS (creamy), with mean and estimated percentage higher than 4.0 mL, 80% and 82% for both periods. The variables SCO (1196.6±77.8 x 10⁶ mL⁻¹; P≤0.004), IM (75.7±5.4; P≤0.066), and NS (80.8±1.5; P≤0.014) were higher in the hot season. Likewise, frequencies for MM (quick swirls 65,8%; P≤0.064) and CL (white color 82,9%; P≤0.009) were higher. It is concluded that the hot season was not detrimental to seminal characteristics of the Tropical Milking breed.

Key words: Fertility, bull, criollo bovine, sperm, ejaculate.

Resumen

Las características seminales de la raza criolla Lechero Tropical son poco conocidas. El objetivo del presente estudio fue caracterizar el semen de toros Lechero Tropical en dos épocas del año, fresca (enero) y calurosa (mayo) en la Región Sotavento de Veracruz, México. Se utilizaron 70 eyaculados de siete toros de 25,6±1,7 meses y 319,14±6,24 kg, mantenidos en potreros de pasto Pará (*Brachiaria mutica*) y con suplemento comercial de 18 % de proteína cruda (4 kg d⁻¹ animal⁻¹). Se recolectaron cinco eyaculados por toro en periodos de 4 días cada uno en cada época del año utilizando vagina artificial. Se evaluaron las variables volumen de eyaculado (VE), concentración espermática (CE), movilidad individual (MI), espermatozoides vivos (EV), espermatozoides normales (EN), movilidad masal (MM), color (CL), consistencia (CS) y circunferencia escrotal (CES). Se utilizó un modelo lineal mixto con mediciones repetidas utilizando los procedimientos MIXED del SAS y GLIMMIX. La circunferencia escrotal fue 34,2±0,2 cm y la correlación con volumen de eyaculado r=0,55 (P≤0,05). No hubo diferencias (P>0,05) entre épocas para VE, EV y CS (cremosa), con media y porcentajes estimados superiores a 4,0 mL, 80 % y 82 %, para ambas épocas. Las variables CE (1196,6±77,8 x 10⁶ mL⁻¹; P≤0,004), MI (75,7±5,4; P≤0,066) y EN (80,8±1,5; P≤0,014) fueron mayores en la época calurosa. Igualmente, las frecuencias para MM (remolinos rápidos 65,8%; P≤0,064) y CL (color blanco 82,9%; P≤0,009), fueron superiores. Se concluye que la época calurosa no tuvo efectos detrimentales sobre las características seminales de la raza Lechero Tropical.

Palabras clave: Fertilidad, toro, bovino criollo, espermatozoides, eyaculado.

Recibido: 29/03/16 Aprobado: 11/09/18

INTRODUCTION

The Tropical Milking criollo breed (LT, by its Spanish acronym) comes from cattle populations introduced to America during the Spanish conquest (Rouse, 1977). LT cattle adapted to tropical hot climates and developed characteristics that allowed it to survive and multiply (FAO, 1981; de Alba, 2011). An extensive description of the origin, development and recent research has been published (Becerril-Pérez and Rosendo-Ponce 2015b; Rosendo-Ponce y Becerril-Pérez, 2015). Additionally, female reproductive traits of the LT breed have been described (de Alba and Kennedy, 1994; Rosendo-Ponce and Becerril-Pérez, 2002; Becerril-Pérez and Rosendo-Ponce, 2015a). Moreover, elite LT bulls, with positive genetic evaluations for milk production, are used to produce artificial insemination straws, and also for natural mating. However, the seminal characteristics of LT criollo breed bulls of Mexico, nor their response to seasonal changes are not well known.

In the hot tropics, sperm production can be reduced during the hot season (Fields *et al.*, 1979; Rekwo *et al.*, 1987). Heat stress, coupled with moisture, prevents the thermoregulatory mechanisms of bulls to maintain a balance that does affect semen quality. Season effects on semen characteristics of *Bos taurus* were found under temperate climatic conditions (Snoj *et al.*, 2013). It has been indicated that environmental temperature and humidity are positively related to sperm abnormalities in *Bos indicus* and *Bos taurus* crosses when temperature is higher than 31 °C (Hansen, 2009; Lozano, 2009). High environmental temperature decreases the fertility of bulls, because it interferes with the oxidative glucose metabolism in sperm cells as a result of mitochondrial dysfunction (Nichi *et al.*, 2006). Metabolic alterations occur due to thermal stress and cellular energy reserves exhaustion (Baumgard and Rhoads, 2013; Rhoads *et al.*, 2013). However, bulls of breeds adapted to hot climates could have better semen characteristics during the hot season (Farooq *et al.*, 2013).

In view of the above, it is a must to know the semen characteristics of LT bulls under variable and adverse conditions of temperature and relative humidity, and foresee bulls management under such conditions.

As mentioned in previous paragraphs, elite LT bulls are used for artificial insemination and natural mating. However, despite seminal examination is one of the four steps of breeding soundness evaluation to classify them (Barth, 2001; Oliveira-Menegassi *et al.*, 2012), the semen of LT bulls has not been fully characterized. Thus, the aim of this study was to characterize the semen of Tropical Milking bulls in two seasons, fresh and hot.

MATERIALS AND METHODS

Location

The study was conducted in the Veracruz Campus of the Colegio de Postgraduados, located in the community of Tepetates, Municipality of Manlio Fabio Altamirano, Veracruz state, Mexico, 19° 11' N and 96° 20' W, at an altitude of 23 masl. The climate of the region is $Aw_0(w)(i')gw''$, hot humid with summer rains distributed from May to October, average annual temperature and rainfall of 26.4 °C and 1060 mm (García, 1988). The experimental period was from November to May and the semen collection was in January and May; the former is the coolest month the year (fresh season), and later the hottest (hot season). The low, average and maximum values for temperature and average for relative humidity were, 12.5; 17.4; 23.5 °C and 85.1 % for fresh season, and 17.7; 23.0; 30.1 °C and 74.9 %, for hot season.

Data source, animal handling and ejaculates collection

Seventy ejaculates from seven LT bulls of 25.6±1.7 months and 319.1±6.2 kg were used. The bulls were maintained in pastures of Pará grass (*Brachiaria mutica*), and with 4 kg d⁻¹ animal⁻¹ of commercial concentrate of 18% crude protein, and free access to water. Bulls exercised walking 10 min d⁻¹, and were internally and externally wormed, preputial hair removed, and given an intramuscular injection of a 15 mg kg⁻¹ of a metabolic stimulant based on organic phosphorus (Catosal®, Bayer Health Care, Shawnee, KS, USA). In each experimental period five ejaculates were collected in periods of 4 d each. The semen was collected on the second mount attempt of a dummy using an artificial vagina with graduate polycarbonate tube.

Continuous response variables

Ejaculate volume (EV, mL). It was measured directly from the graduate polycarbonate tube of the artificial vagina.

Sperm concentration (SCO, $\times 10^6$ mL⁻¹). Sperm cells were counted in five quadrants (corners and middle) and in the superior and left marginal lines of a Neubauer Chamber. Five μ L of sperm were diluted in 101 μ L of saline formalin solution in red blood Thoma pipette (Hafez y Hafez, 2002); microscope was used with the 40X objective.

Individual motility (IM, %). Rectilinear progressive sperm motility was observed from a drop of semen diluted in a drop of sodium citrate solution in a 35 °C tempered slide; microscope was used with the 40X objective. IM was subjectively classified as very good 80-100, good 60-79, fair 40-59 and poor under 40%.

Live sperm cells (LS, %). Live and dead sperm cells were counted. A drop of sperm was mixed homogeneously with an eosin-nigrosine staining; the mix was put on the edge of the slide leaving a very fine smear and dried close to a flame. Dead and live sperm appeared pink and white colored; microscope was used with the 40X objective.

Normal sperm cells (NS, %). Normal and abnormal sperm cells were counted in the microscope with the 40X objective. Abnormalities of the head and tail of sperm cells were detected, though no differentiation was made among them.

Hydrogen potential (pH). Test strips were used, in which integers are marked (Hafez y Hafez, 2002).

Discrete response variables

Mass motility (MM). It was classified in four categories; quick swirls, slow swirls, no swirls, and motionless. A drop of semen on the slide tempered at 37° C was placed and observed on microscope with the 10X objective.

Color (CL). It was classified in five categories; white, yellowish, pink, grayish and greenish; the last three colors are considered pathological.

Consistency (CS). It was classified in five categories; creamy, creamy light, milky, opalescent and aqueous. Consistency is directly related to sperm concentration. The most favorable is creamy and the less aqueous.

Scrotal circumference (SC). This covariate was measured with a tape (cm), firmly taking the neck of the scrotum by lowering the testicles, and taken as measure the midpoint of the greater circumference.

Statistical analysis

Ejaculate volume, and the microscopic variables spermatic concentration, motility, and alive and normal sperm cells were analyzed with a linear mixed model with repeated measures:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + M_{j(i)} + S_k + \beta_1(X_{1ijk} - \bar{X}_{1..}) + \beta_2(X_{2ijk} - \bar{X}_{2..}) + \varepsilon_{ijk}$$

Where: Y_{ijk} = observation of the i-th season, j-th sampling period nested in the i-th season, of the k-th bull; μ = constant that characterizes the population; E_i = fixed effect of the i-th season, $i = 1$, fresh; 2 , hot; $M_{j(i)}$ = fixed effect of the j-th sampling period nested in the i-th season, $j = 1, 2, \dots, 5$; S_k = random effect of the k-th bull, $k = 1, 2, \dots, 6$; $\bar{S}_k \sim IIN(0, \sigma_S^2)$; β_1 = regression coefficient of scrotal circumference on the response variable; X_{1ijk} = scrotal circumference associated with the response variable; $\bar{X}_{1..}$ = scrotal circumference mean; β_2 = regression coefficient of bull age on the response variable; X_{2ijk} = age associated with the response variable; $\bar{X}_{2..}$ = bull age mean; ε_{ijk} = random error. $\varepsilon_{ijk} \sim IIN(0, \sigma^2)$.

Repeated measures were made to follow the semen production of bulls; sampling units were not many, as it is the case frequently in studies with endangered small criollo populations or local breeds (Palmieri *et al.*, 2004; FAO, 2013; Farooq *et al.*, 2013); the data were processed with the MIXED procedure of SAS (SAS Institute, 2010), using a compound symmetry covariance structure. The arcsine transformation was used for response variables measured as percentages, although no change was observed in effect significances when using the untransformed original variables. Mass motility and the discrete macroscopic variables, color and consistency were analyzed with a generalized linear mixed model, using a multinomial distribution with accumulated logistic link function for mass motility, and a binary probability function with logistic link function for color and consistency; the data were processed using the GLIMMIX procedure. In order to facilitate the interpretation of results, response frequencies were estimated with the FREQ procedure. A mean comparison test was done for some continues variables.

RESULTS AND DISCUSSION

Estimated means of the continuous response variables are presented in Table 1. At the age of 25.6±1.68 months and 319.14±6.24 kg, the LT bulls had a SC of 34.2±0.24 cm; except for SC on ejaculate volume, neither SC nor age were significant ($P>0.05$) on other response variables. The LT bulls SC was higher than 33.2±0.5 cm of the Venezuelan Criollo Limonero of 30.6±38 months, and under a hot climate with annual temperature and precipitation of 27.4 °C and 920 mm (Madrid-Bury *et al.*, 2011), and the 30.2±0.8 cm of Brown Swiss x Cebu bulls (Madrid-Bury *et al.*, 1997). Crossed bulls (*Bos indicus* 75% x *Bos taurus* 25%) under 30 months of age had SC of 34.2 cm in winter and 36.1 cm in summer (Prieto *et al.*, 2007). SC of LT bulls was consistent with established specifications for different genotypes (Irons *et al.*, 2007). EV was not different between seasons; however, SC affected EV β 0.37±0.17 ($P\leq 0.03$). Despite differences in mean temperature and relative humidity of the two seasons, bulls produced a similar EV of 4.04±0.4 mL. However, individual variation among bulls was also manifested by the minimum and maximum values observed (1.5 - 8.0). In the subtropical weather of Pakistan, Holstein bulls had overall superior EV than Jersey bulls with 4.05±0.03 and 2.92±0.03 mL, though the summer season deteriorated semen quality in both breeds (Fiaz *et al.*, 2010); opposite results were observed in adapted Pakistan Cholistani bulls, that had EV superior to 5 mL in summer (Farooq *et al.*, 2013). Besides, in

Venezuela under a hot climate, and two season variables in temperature (dry 30.3 °C; rainy 26.8 °C) and relative humidity, (dry 62.8%; rainy 85.5%), Holstein and Brown Swizz bulls had EV of 3.6±1.2 mL in the dry season and 4.8±2.1 mL in the rainy season (Valle *et al.*, 2005). The LT bulls, unlike the Europeans not adapted to hot climates, had similar EV in both seasons, fresh and hot. Similar results were obtained with three year old Sahiwal bulls in four seasons in Pakistan (Ahmad *et al.*, 2003). Well managed and fed bulls of very well adapted breeds can have stable EV through seasons. The estimated correlation between EV and SC was $r=0.55$ ($P\leq 0.05$), higher than $r=0.40$ estimated in Brown Swiss x Cebu bulls (Madrid-Bury *et al.*, 1997). SCO was different between seasons, the mean estimated over $1100 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ for the hot season can be considered satisfactory, though the mean estimated for the fresh season was lower than $800 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. The SCO interval was 170 to 2180 $\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, with 25% of samples $\geq 1250 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. In the hot season IM was of category good and close to 77%, in the fresh it remained in the same category, but it was lower ($P\leq 0.066$). The SCO is an indicator of the LT bulls capability to produce good enough ejaculates for sperm dilution. Costeño con Cuernos and Romosinuano bulls of 37 months had between them similar SCO of $1.009 \pm 0.6 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ (Palmieri *et al.*, 2004), though less than $1196.6 \pm 77.8 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ in the hot season and greater than $776.0 \pm 77.8 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ in the fresh season for LT bulls; note that the Colombian Romosinuano is renowned by its reproductive performance. On the other hand,

Table 1. Semen characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons.

Variables	Season	
	Fresh (January)	Hot (May)
Ejaculate volume (mL)	4.0±0.4 ^a	4.1±0.4 ^a
Sperm concentration ($\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$)	776.0±77.8 ^a	1196.6±77.8 ^b
Motility (%)	68.3±5.4 ^a	75.7±5.4 ^b
Live sperm cells (%)	80.4±3.1 ^a	83.4±3.1 ^a
Normal sperm cells (%)	76.2±1.5 ^a	80.8±1.5 ^b

a, b: Different letters in row indicate statistical difference ($P\leq 0.05$). (least square mean \pm standard error).

in Holstein x Sahiwal bulls SCO was less than $900 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ (Andrabi *et al.*, 2002). For SCO, evidence shows that criollo bulls had a better performance than European or crossbred bulls under tropical conditions.

Of the total number of ejaculations, 50% had IM $\geq 75\%$. The minimum and maximum IM were 40 and 98%. High IM is related to sperm cell capacity to travel, but can be affected negatively by high environmental temperatures that cause damage to testicular tissue and seminiferous tubules (Lozano, 2009). IM over 70% is considered good according to sperm quality standards (Spitzer *et al.*, 1998). IM of LT bulls was over 75% in the hot season, and above of some criollo adapted breeds as Pampa Chaqueño from Paraguay with maximums of 69.1% and 71.5% in summer and winter (Oka *et al.*, 2012), Costeño con Cuernos and Romosinuano with 67.0 ± 8.0 and $68.0 \pm 8.0\%$ (Palmieri *et al.*, 2004), and *Bos indicus* Sahiwal 65.3 ± 0.4 and Cholistani $63.51 \pm 1.03\%$, year round, the latter performing better during the dry summer (Ahmad *et al.*, 2003; Farooq *et al.*, 2013). However, Holstein and Jersey bulls had IM of 71.0 ± 0.7 and $73.5 \pm 0.8\%$ during summer (Fiaz *et al.*, 2010).

LS interval was 40 to 99%, with 25% of the samples $\geq 90\%$. LS percentage was over 80 in both seasons, and also indicates the adaptability of LT bulls to the tropical environment, as happened with the Cholistani in all seasons (Farooq *et al.*, 2013), compared with $72.3 \pm 22.0\%$ of European bulls (Valle *et al.*, 2005). LS were similar in both seasons and higher than 80%.

NS were over 75% in both, fresh and hot seasons. A high NS percentage, as happened to LT bulls, over 80% in summer is related positively with fertility (Spitzer *et al.*, 1998; Irons *et al.*, 2007), NS could be affected also by high temperatures that produce an increase in testicular temperature and abnormal sperm cells (Nichi *et al.*, 2006); sperm cell abnormalities are shown two weeks after an increase in testicular temperature (Hansen, 2009). Crossbred bulls at thirty months of age had NS of $70.9 \pm 14.7\%$, almost 10% less than LT bulls in summer (Prieto *et al.*, 2007). The Cholistani produced also over 80% NS in summer, but reached 90% in winter (Farooq *et al.*, 2013). Abnormal sperm for LT bulls were lower than 30%, threshold that does not affect fertility (SFT, 1976).

No variability was observed for pH, with value of 7 on all measures in both seasons; pH values between 6.2 and 7.4 are appropriate for breeding bulls (Irons *et al.*, 2007). Similarly, Valle *et al.* (2005) and Ahmad *et al.* (2003), showed low variability for pH, in European and Indi bulls (6.7 ± 0.5 and 6.9 ± 0.01).

Frequencies for discrete response variables are shown in Table 2. Out of the four categories considered for MM, only three were observed, motionless semen was not. The quick and slow swirls together were at least 80% in both seasons, although a highest percentage of quick swirl (over 65%) was observed during the hot season, meaning four times higher than that categories slow swirls and no swirls, and slightly higher than 61.3% for crossbred bulls in Colombia (Prieto *et al.*, 2007). MM in LT bulls was not affected by higher temperatures of the summer. Also, out of the five CL categories, only the two best were observed, with no presence of colors associated to low quality semen. White color was the most frequent in both seasons, though the difference with respect to the yellowish was four times largest in the hot season. In this study EV was higher for white color ejaculates rather than yellowish, 4.23 ± 0.2 vs $3.53 \pm 0.2 \text{ mL}$ ($P \leq 0.05$). Palmieri *et al.* (2004) in the Costeño Con Cuernos and Romosinuano breeds defined three white color categories matt, milky and clear, the first had the highest SCO with $1600 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. Crossbred bulls had 95.3% of ejaculates yellowish to yellow (Ruiz *et al.*, 2010). The most frequent white semen color of LT bulls is related to best semen quality (Irons *et al.*, 2007). The same frequency pattern was observed for CS, with no presence of three categories associated to low quality semen; the creamy and creamy light categories are the best, but SCO was higher in the former ($P \leq 0.05$), with 1048.3 ± 56.3 vs $653.6 \pm 118.2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, respectively. Only the two better CS categories were observed in this study, showing the same frequency pattern in both seasons; the creamy CS was over 82%, associated to good quality semen (Irons *et al.*, 2007). Crossbred bulls had 94.4% of ejaculates of creamy to creamy light (Ruiz *et al.*, 2010).

Estimated means of the semen characteristics per mass motility (MM) category are presented in Table 3. Clearly, the quick swirl category showed superior response in all characteristics, which surpassed thresholds of 4,0 mL and 1000

Table 2. Frequencies of the seminal characteristics of Tropical Milking bulls in two seasons.

Variables	Season		
	Fresh (January)	Hot (May)	
Mass motility (%)	Quick	40.0 ^a	65.8 ^b
	Slow	40.0 ^a	17.1 ^b
	No	20.0 ^a	17.1 ^b
Color (%)	White	60.0 ^a	82.9 ^b
	Yellowish	40.0 ^a	17.1 ^b
Consistency (%)	Creamy	85.7 ^a	82.9 ^a
	Creamy light	14.3 ^a	17.1 ^a

a, b: Different letters in row indicate statistical difference ($P \leq 0.05$).

Table 3. Semen characteristics of Tropical Milking bulls grouped by mass motility.

Variables	Mass motility (swirls)		
	Quick	Slow	No
Ejaculate volume (mL)	4.4±0.2 ^a	3.5±0.2 ^b	3.9±0.3a ^b
Sperm concentration ($\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$)	1166.8±60.7 ^a	773.0±77.2 ^b	862.3±159.2 ^b
Motility	84.4±2.0 ^a	65.2±2.6 ^b	47.1±3.0 ^c
Live sperm cells (%)	86.7±1.1 ^a	82.8±2.0 ^a	66.9±4.6 ^b
Normal sperm cells (%)	82.2±0.8 ^a	77.2±1.0 ^b	70.0±1.8 ^c

a, b, c: Different letters in row indicate statistical difference ($P \leq 0.05$).
(least square mean \pm standard error).

$\times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ for EV and SCO, moreover of 80% for IM, LS and NS. Mass motility categories are also indicators of semen quality. Results show that MM is a very good characteristic for easy and fast first appraisal of semen quality. Means estimated in the quick swirl class indicate very good breeding soundness for LT bulls (Spitzer *et al.*, 1998; Irons *et al.*, 2007).

CONCLUSIONS

No detrimental effects on semen of the Tropical Milking bull were observed during the hot season,

with higher mean temperature and humidity; in contrast, it was observed a better performance for some semen characteristics. Evidence show that semen characteristics of the Tropical Milking bulls young were good enough for ejaculates to be used for the making of artificial insemination straws, and for considering natural mating in fresh and hot seasons. However, the prior individual complete assessment of each bull is required to meet their reproductive soundness potential. Further research seems warranted in the Tropical Milking criollo breed for the study of reproductive performance traits bulls.

CITED LITERATURE

- Ahmad, M., M. Asmat, U. Rehman, M. Khan. 2003. Semen characteristics of Sahiwal bulls in relation to age and season. *Pak Vet J.*, 23(4):202-206.
- Andrabi, S., S. Haheed, L. Khan, N. Ullah. 2002. Semen characteristics of crossbred (Friesian x Sahiwal) bulls at livestock research station, National Agricultural Research Centre, Islamabad. *Pak Vet J.*, 22(4):181-187.
- Barth, A. 2001. Evaluation of sperm motility in bull breeding soundness evaluations. *Soc Theriogenology*, July Newsletter. pp.4-5.
- Baumgard, L., P. Rhoads Jr. 2013. Effects of heat stress on post absorptive metabolism and energetics. *Annu Rev Biosci.*, 1:311-337.
- Becerril-Pérez, C. y A. Rosendo-Ponce. 2015a. Bovinos. In, *Los Recursos Zootécnicos Criollos de México*. G. Torres-Hernández (ed). Biblioteca Básica de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México, 220 p.
- Becerril-Pérez, C. y A. Rosendo-Ponce. 2015b. La raza criolla Lechero Tropical de México. In, *Los Bovinos Criollos de México: Historia, Caracterización y Perspectivas*. R.A. Perezgrovas-Garza, y F.M. Torre-Sánchez (eds). Colección de Textos Universitarios. Universidad Autónoma de Chiapas. Tuxtla Gutierrez, México, 428 p.
- de Alba, J. 2011. El libro de los bovinos criollos de América. Ed. Colegio de Postgraduados (México): Biblioteca Básica de Agricultura. p. 444.
- de Alba, J., B. Kennedy.1994. Parámetros genéticos de la raza Criollo Lechero Tropical en México. *Anim Prod.*, 58:159-185.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations, Italy). 1981. Recursos genéticos animales en América Latina. *Producción y Sanidad Animal* 22. B. Müller-Haye y J. Gelman (eds). Roma, Italia, p. 170.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy). 2013. In vivo conservation of animal genetic resources. Section 2: Identifying breeds at risk. *Animal Production and Health Guidelines* 14. Rome, Italy, p. 242.
- Farooq, U., A. Ijaz, N. Ahmad, H. Rehman, H. Zaneb. 2013. Seasonal variations in certain physical and biochemical attributes of semen from Cholistani bulls. *Pak Vet J.*, 33(4):510-514.
- Fiaz, M., R. Usmani, M. Abdullah, T. Ahmad. 2010. Evaluation of semen quality of Holstein Friesian and Jersey Bulls maintained under subtropical environment. *Pak Vet J.*, 30(2):75-78.
- Fields, M., W. Burns, A. Warnick. 1979. Age, season and breed effects on testicular volume and semen traits in young beef bulls. *J Anim Sci.*,1299-1304.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, p. 191.
- Hafez, E., B. Hafez. 2002. Reproduction and artificial insemination in animals. McGraw-Hill. México, p. 542.
- Hansen, J. 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Phil Trans Roy Soc B.*, 364:3341-3350.
- Irons, P., J. Nöthling, H. Bertschinger. 2007. Bull breeding soundness evaluation in South Africa. *Theriogenology.*, 68:842-847.
- Lozano, H. 2009. Factores que afectan la calidad seminal en toros. *Rev Med Vet Zoot.*, 258-272.
- Madrid-Bury, N., S. Zambrano, A. Zambrano, E. Bohada, C. González-Stagnaro, Z. Chirinos. 1997. Características reproductivas de toretes mestizos Pardo Suizo x Cebú en Venezuela. *Arch Lat Prod Anim.*, 5(1):350-352.
- Madrid-Bury, N., C. González-Stagnaro, J. Aranguren-Méndez, F. Yañez, A. Quintero-Moreno. 2011. Comportamiento sexual en toros Criollo Limonero. *Rev Fac Agr (LUZ).*, 28 Supl. 1:505 513.

- Nichi, M., P. Bols, R. Züche, V. Barnabe, I. Goovaerts, R. Barnabe, C. Cortada. 2006. Seasonal variation in semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls raised under tropical conditions. *Theriogenology.*, 66:822-828.
- Oka, Y., H. Oka, C. Prieto, L. Branda. 2012. Efecto de la temperatura ambiental en la calidad seminal de toros Pampa Chaqueño criados bajo condiciones de campo en la región occidental, Chaco Paraguayo, en las diferentes estaciones del año. *AC Iber Con Anim.*, 2:181-184.
- Oliveira Menegassi, S., J. Jardim Barcellos, V. Peripolli, J. Souza Borges, M. Bernardi. 2012. Causes of rejection of beef bulls in breeding soundness evaluation. *R Bras Zootec.*, 41(7):1648-1653.
- Palmieri, R., D. Suárez, A. Espitia, M. González, E. Prieto. 2004. Variables seminales en toros Criollos Colombianos con Cuernos y Romosinuano. *Rev MVZ-Córdoba.*, 9(1): 381-385.
- Prieto, E., A. Espitia, J. Cardozo. 2007. Efecto del invierno y verano sobre el comportamiento reproductivo de toros cruzados. *Rev MVZ-Córdoba.*, 12(1):921-928.
- Rekwo, P., A. Voh Jr, E. Oyedipe, G. Opaluwa, V. Sekoni, P. Dawuda. 1987. Influence of season on characteristics of the ejaculate from Bulls in an artificial insemination center in Nigeria. *Anim Reprod Sci.*, 187-194.
- Rhoads, R., L. Baumgard, J. Suagee. 2013. Metabolic priorities during heat stress with an emphasis on skeletal muscle. *J Anim Sci.*, 91:2492-2503.
- Rosendo-Ponce, A., C. Becerril-Pérez. 2002. Productive performance and genetic parameters in the Tropical Milking Criollo cattle in Mexico. In: *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Montpellier, France. August, 19-23.
- Rosendo-Ponce, A y C. Becerril-Pérez. 2015. Avance en el conocimiento del bovino criollo Lechero Tropical de México. *Ecosist Rec Agrop.*, 2(5):233-243.
- Rouse, J. 1977. *The Criollo: Spanish cattle in the Americas*. University of Oklahoma. USA, p. 303.
- Ruíz, S., H. Ruíz, N. Mendoza, L. Olivia, M. Gutiérrez, M. Rojas, H. Herrera, S. Ruíz, T. Aguilar, V. León, T. Bautista, M. Ruiz, M. Ibarra, E. Villalobos. 2010. Reproductive characterization of *Bos taurus* and *Bos indicus* Bulls and their crosses in a natural mating system and without sexual rest in the Mexican tropic. *Rev Cien UDO Agríc.*,10(1):94-102.
- SAS Institute. 2010. *SAS 9.3 for Windows*. SAS Inst Inc Cary NC USA.
- Snoj, T., S. Kobal, G. Majdic. 2013. Effects of season, age, and breed on semen characteristics in different *Bos taurus* breeds in a 31-year retrospective study. *Theriogenology.*, 79:847–852.
- SFT (Society for Theriogenology, USA). 1976. *A compilation of current information on breeding soundness evaluation and related subjects*, 59 p.
- Spitzer, J., F. Hopkins, P. Chenoweth. 1998. *New guidelines for breeding soundness evaluation (BSE) of bulls*. Clemson Coop Ext Ser USA, p. 4.
- Valle, A., A. Fuentes, M. Puerta. 2005. Influencia de factores climáticos sobre las características seminales de toros Holstein y Pardo Suizo nacidos en el trópico. *Rev Fac Agr (LUZ).*, 22:52-61.

Fabricação de produto cárneo tipo hambúrguer com carne de galos e galinhas matrizes abatidos em idade de descarte

Manufacturing of hamburger with meat from rooster and broiler hens slaughtered at spent age

Fabricación de productos cárnicos (hamburguesas) con carne de gallos y gallinas reproductoras sacrificados en la edad de descarte

Juliana L. M. de Mello^{1*}, Rodrigo A. de Souza¹, Gustavo C. Paschoalin¹, Pedro A. de Souza¹ e Hirasilva Borba¹

¹Universidade Estadual Paulista (UNESP), Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Jaboticabal, São Paulo, Brasil. *Correio eletrônico: julianalolli@zootecnista.com.br

RESUMO

O objetivo deste estudo foi comparar as características qualitativas e sensoriais de hambúrgueres produzidos artesanalmente com carne de peito e de pernas (coxa e sobrecoxa) de frangos da linhagem Cobb 500, abatidos em idade comercial (seis semanas) e em idade de descarte (70 semanas). Foram estudadas três formulações contendo diferentes proporções de carne de peito e de pernas, respectivamente: (F1) 60:40, (F2) 50:50 e (F3) 40:60. Foram analisados cor, perda de peso por cozimento, pH, oxidação lipídica e atividade de água. Foram analisados imediatamente após a produção dos hambúrgueres e após o armazenamento (-20°C) por 15 e 30 dias. Foi realizado um teste de aceitação com 90 provadores não treinados. A perda de peso por cozimento foi menor em hambúrgueres formulados com carne de aves de descarte, o que favorece o maior rendimento do produto final. Hambúrgueres formulados com carne de aves em idade de descarte receberam notas inferiores às de hambúrgueres elaborados com carne de aves abatidas em idade comercial, entretanto as notas de ambos variaram entre 5 (indiferente) e 8 (gostei muito). Hambúrgueres contendo maior percentual de inclusão de carne de peito são preferidos pelo consumidor. A opinião dos provadores indica um parecer favorável à fabricação e à aceitação de hambúrgueres formulados com 100% de carne de aves em idade de descarte.

Palavras-chave: aceitação, frango de corte, processamento, armazenamento.

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the qualitative and sensory characteristics of handmade hamburgers produced with meat from breast and legs (thigh and drumstick) from Cobb 500 chickens slaughtered at commercial age (six weeks) and at disposal age (70 weeks). Three formulations containing different proportions of meat from breast and from legs, respectively, were studied: (F1) 60:40, (F2) 50:50 and (F3) 40:60. Were evaluated: color, cooking weight loss, pH, lipid oxidation and water activity. Burgers were analyzed immediately after production and after storage (-20 °C) for 15 and 30 days. It was carried out an acceptance test with 90 untrained panelists. The cooking weight loss was lower in burgers formulated with meat from disposal chickens, which favors the highest yield of the final product. Hamburgers formulated with meat from spent chicken received grades lower than those of hamburgers prepared with meat from chickens slaughtered at commercial age, however, these grades ranged from 5 (indifferent) and 8 (liked too much). Hamburgers containing higher percentage of breast meat inclusion are preferred by the consumer. The opinion of the tasters indicates a favorable opinion on the manufacture and acceptance of burgers made with 100% of meat from spent chicken.

Key words: acceptability, broilers, processing, storage.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar las características cualitativas y sensoriales de las hamburguesas producidas de manera artesanal con carne de la pechuga y de los muslos y contra muslos de aves Cobb 500, sacrificadas a la edad comercial y con edad de descarte. Fueron estudiadas tres formulaciones con diferentes proporciones de carne de la pechuga y de los muslos y contra muslos, respectivamente: (F1) 60:40, (F2) 50:50 y (F3) 40:60. Fueron analizados: el color, pérdida de peso por la cocción, el pH, la oxidación de lípidos y la actividad del agua, inmediatamente después de la producción de las hamburguesas y después del almacenamiento (-20°C) por 15 y 30 días. Se realizó un test de aceptación con 90 degustadores sin entrenamiento. La pérdida de peso por la cocción fue menor en las hamburguesas formuladas con carne de aves sacrificadas con edad de descarte, lo que favorece el mayor rendimiento del producto final. Las hamburguesas formuladas con carne de aves sacrificadas con edad de descarte recibieron notas más bajas que las de las hamburguesas preparadas con carne de aves sacrificadas en edad comercial, sin embargo las notas de ambos variaron entre 5 (indiferente) y 8 (me gustó mucho). Las hamburguesas que contienen mayor inclusión de carne de la pechuga son preferidas por el consumidor. La opinión de los degustadores indica una opinión favorable a la fabricación y a la aceptación de las hamburguesas hechas con 100% de carne de aves con edad de descarte.

Palabras clave: aceptación, pollo de engorde, procesamiento, almacenamiento.

INTRODUÇÃO

Em 2014 no Brasil foi registrado o alojamento de 49,3 milhões de matrizes de corte (ABPA, 2016) que são mantidas na produção de ovos férteis por, em média, 70 a 100 semanas de idade (Kang *et al.*, 2009), quando então são destinadas ao abate e sua carne à fabricação de produtos processados, geralmente na forma de carne moída. Um número tão expressivo de aves reprodutoras alojadas é justificado pela posição do Brasil no ranking mundial de produção e exportação de carne de frango. Atualmente o país ocupa o segundo lugar entre os maiores produtores (13,15 milhões de toneladas de carne

produzida em 2015) e o primeiro lugar entre os maiores exportadores (4,3 milhões de toneladas de carne exportada em 2015; ABPA, 2016).

O consumo da carne de aves em idade de descarte constitui-se de um nicho de mercado atualmente pouco explorado. Após o abate, é usualmente utilizada na formulação de embutidos emulsionados como salsichas, mortadelas e hambúrgueres, podendo ainda ser vendida a um preço inferior ao do frango convencional como uma forma de destinar adequadamente as aves em final de produção e valorizar este segmento da avicultura pouco explorado. O valor comercial da carne é baseado no grau de aceitabilidade dos consumidores e está diretamente relacionado aos parâmetros de palatabilidade do produto, dentre os quais sobressaem os aspectos sensoriais de sabor e suculência. Devido à baixa preferência do consumidor pela carne de aves em idade de descarte, em virtude de sua qualidade sensorial, faz-se necessário buscar alternativas de processamento que permitam o consumo deste tipo de carne como carne nobre e não mais como um subproduto.

O desenvolvimento de novos produtos processados tem como função fornecer ao consumidor produtos de paladar variado e adequado, fazendo com que a indústria aproveite melhor as carnes menos nobres (Borba *et al.*, 2013) e a carne de animais de descarte, uma vez que possuem comercialização dificultada (Madruga *et al.*, 2005). O hambúrguer, preferido pelos apreciadores das redes de *fast food*, passa a ser uma alternativa viável para a elaboração de um novo produto cárneo e com maior valor agregado, além de ser uma boa opção diante da crescente demanda por alimentos de preparo rápido (Pinheiro *et al.*, 2008; Borba *et al.*, 2013).

Pouco se sabe sobre as semelhanças e/ou diferenças das características sensoriais e propriedades funcionais existentes entre a carne de aves em idade de descarte e a carne de aves abatidas em idade comercial. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar características qualitativas e sensoriais do produto cárneo tipo hambúrguer produzido artesanalmente com carne de peito e de pernas (coxa e sobrecoxa) de aves abatidas em idade de descarte, comparadas às características de hambúrgueres produzidos com carne de aves abatidas em idade comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°08' S, 48°11' W, 583 m de altitude).

Amostragem e procedimento experimental

Para a elaboração do produto cárneo tipo hambúrguer foram utilizados, aproximadamente, 25 Kg de carne de peito e 25 Kg de carne de pernas (coxa + sobrecoxa) de frangos de corte machos e fêmeas da linhagem Cobb 500, abatidos com seis semanas de idade (idade comercial) e 70 semanas de idade (idade de descarte). A carne utilizada foi adquirida em abatedouros frigoríficos do Estado de São Paulo, Brasil, fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Foi utilizada formulação artesanal, livre de aditivos químicos, com variação nos percentuais de inclusão de carne de peito e de pernas, sendo elas: Formulação 1 (F1) – 60% carne de peito e 40% carne de pernas; Formulação 2 (F2)

– 50% carne de peito e 50% carne de pernas; Formulação 3 (F3) – 40% carne de peito e 60% carne de pernas, conforme mostra a Tabela 1. Foram produzidas formulações independentes com carne de aves em idade de descarte e com carne de aves em idade comercial.

Após a desossa das carcaças e remoção da pele, a carne de peito e de pernas foi moída em máquina de moer convencional com lâmina de 8 mm de diâmetro. Os ingredientes foram adicionados a uma misturadeira de carne Beccaro MB25IN com capacidade para até 25 kg de carne (Beccaro Equipamentos Industriais Ltda., Rio Claro, SP, Brasil) e misturados até que fosse obtida uma massa homogênea.

Os hambúrgueres foram confeccionados com peso aproximado de 95 g cada e formatados manualmente com a utilização de uma hamburgueira de alumínio e disco modelador com 11,5 cm de diâmetro. Imediatamente após a formatação um grupo de amostras foi analisado quanto à variáveis cor, perda de peso por cozimento, pH, oxidação lipídica e atividade de água. As demais amostras foram armazenadas congeladas em freezer (-20°C) por 15 e 30 dias para posterior análise. Após cada

Tabela 1. Ingredientes utilizados na formulação (F1, F2 e F3) de produto cárneo tipo hambúrguer à base de frango.

Ingredientes (%)	F1 (60:40)	F2 (50:50)	F3 (40:60)
Carne de peito	47,19	39,32	31,46
Carne de pernas (coxa e sobrecoxa)	31,46	39,32	47,19
Gema de ovo de galinha	3,00	3,00	3,00
Cebola desidratada	1,00	1,00	1,00
Alho desidratado	0,40	0,40	0,40
Sal iodado	1,30	1,30	1,30
Pimenta do reino	0,15	0,15	0,15
Salsa desidratada	0,50	0,50	0,50
Farinha de trigo	10,00	10,00	10,00
Farinha de pão torrado	5,00	5,00	5,00
Total (%)	100	100	100

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

período de armazenamento as amostras foram descongeladas sob refrigeração (4°C) para que fossem novamente analisadas as variáveis propostas, com o objetivo de avaliar possíveis efeitos do armazenamento sobre a qualidade dos hambúrgueres. Além das amostras para as análises físicas e químicas, também foram produzidos hambúrgueres destinados ao teste de aceitação por provadores não treinados.

Métodos utilizados

A coloração foi determinada na superfície dos hambúrgueres utilizando o colorímetro Minolta CR-400 (Konica Minolta Inc., Osaka, Japão). Foram avaliados luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) em três diferentes posições na superfície de cada amostra. A perda de peso por cozimento (PPC) foi estudada em amostras previamente pesadas e submetidas à cocção em *grill* George Foreman GBZ80 pré-aquecido durante 10 minutos (Wheeler *et al.*, 1998). Após o resfriamento em temperatura ambiente as amostras foram novamente pesadas para determinação da PPC por diferença entre os pesos inicial e final, expressa em porcentagem de acordo com a fórmula: $(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) \times 100 / \text{Peso inicial}$.

O pH foi determinado em triplicata utilizando um peagômetro digital Testo 205 (Testo Inc., Sparta, NJ, USA), acoplado a um eletrodo de penetração. A oxidação lipídica foi determinada segundo método descrito por Vyncke (1970) que analisa as substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), com resultados expressos em mg de malonaldeído (MDA)/Kg de amostra. Para avaliar a atividade de água (a_w) foram utilizadas as mesmas amostras utilizadas para as análises de oxidação lipídica, antes e após o armazenamento por 15 e 30 dias em freezer (-20°C). Foi aferida com o auxílio do analisador de atividade de água *AquaLab Lite* (Decagon Devices Inc., Pullman WA, USA) que utiliza como princípio de medida o ponto de orvalho, método 978.18 aprovado pela AOAC (2011).

Para o teste de aceitação, hambúrgueres produzidos com carne de aves em idade de descarte e em idade comercial, das três formulações estudadas, foram submetidos ao cozimento em *grill* George Foreman GBZ80

pré-aquecido durante 10 minutos (Wheeler *et al.*, 1998). Das amostras cozidas foram obtidas subamostras cortadas em tiras (1/8 de hambúrguer) as quais foram embaladas em papel alumínio, codificadas com números de três dígitos e servidas ainda quentes a cada um dos 90 provadores em cabines individuais, acompanhadas de água e biscoito tipo água e sal. Cada provador manifestou sua aceitação para as amostras considerando os atributos: aspecto geral (visualização do produto), odor, sabor, textura, suculência e intenção de compra, atribuindo as seguintes notas: 1 - desgostei muitíssimo, 2 - desgostei muito, 3 - desgostei regularmente, 4 - desgostei ligeiramente, 5 - indiferente, 6 - gostei ligeiramente, 7 - gostei regularmente, 8 - gostei muito e 9 - gostei muitíssimo (Stone e Sidel, 1985).

Análise estatística

Resultados de cor, perda de peso por cozimento, pH, oxidação lipídica e atividade de água foram analisados utilizando um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x3x3 (carne de aves de duas idades; três formulações; e três períodos de armazenamento) com 20 repetições. Resultados do teste de aceitação foram analisados utilizando um DIC em esquema fatorial 2x3 (carne de aves de duas idades e três formulações), com 90 repetições (provadores). Os resultados foram analisados pelo procedimento *General Linear Models* do *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc, Cary, NC, 2002), submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A idade das aves influenciou significativamente a intensidade de vermelho (a^*) e de amarelo (b^*) da carne utilizada nas formulações (Tabela 2). Hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas com 70 semanas de idade apresentaram coloração mais avermelhada e menor intensidade de amarelo do que hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas com seis semanas de idade. Mello *et al.* (2014) ao estudarem as características físicas e químicas da carne de peito de aves de descarte maturada por até sete dias observaram que a carne de aves mais velhas é mais avermelhada

($a^*=2,89$) e menos amarelada ($b^*=1,88$) do que a carne de frangos abatidos em idade comercial ($a^*=1,19$; $b^*=8,81$), razão pela qual os hambúrgueres produzidos com a carne de aves mais velhas apresentaram maior valor de a^* e menor valor de b^* .

O percentual de inclusão de carne de peito e de pernas exerceu efeito significativo sobre a intensidade de vermelho (a^*) e sobre a perda de peso por cozimento dos hambúrgueres, sendo que com o aumento da inclusão de carne de pernas (de F1 para F3) houve redução do valor

de a^* e aumento da perda de peso por cozimento, possivelmente devido ao maior percentual de gordura presente na carne de coxa e sobrecoxa quando comparada à carne de peito.

Houve interação significativa entre idade e formulação para a variável luminosidade (L^*); entre idade e período de armazenamento para as variáveis L^* e perda de peso por cozimento (PPC); e entre formulação e período de armazenamento para a variável intensidade de amarelo (b^*), cujos desdobramentos são mostrados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 2. Luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*), intensidade de amarelo (b^*) e perda de peso por cozimento (PPC) de hambúrgueres formulados com carne de frangos de corte, abatidos em idade comercial (6 semanas) e idade de descarte (70 semanas), armazenados por até 30 dias.

	L^*	a^*	b^*	PPC (%)
Idade (I)				
6 semanas	64,61	0,13 ^B	18,77 ^A	15,51
70 semanas	60,23	2,27 ^A	18,40 ^B	14,25
Formulação (F)				
F1	63,30	1,13 ^A	18,31	14,00 ^B
F2	62,73	1,24 ^A	18,44	14,86 ^{AB}
F3	61,67	0,83 ^B	19,00	15,78 ^A
Período de Armazenamento (A)				
Sem armazenamento	62,29	1,19	18,87	14,64
15 dias	63,30	0,99	18,63	15,97
30 dias	61,67	1,02	18,25	14,02
P-value (I)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0013
P-value (F)	0,0103	0,0002	<0,0001	0,0012
P-value (A)	<0,0001	0,0855	<0,0001	0,0002
P-value (Int. IxF)	<0,0001	0,3991	0,2186	0,1842
P-value (Int. IxA)	<0,0001	0,0718	0,3511	0,0211
P-value (Int. FxA)	0,5477	0,5701	0,0186	0,2876

^{A,B}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$). F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas. Int.: interação entre as variáveis.

Tabela 3. Desdobramento das interações entre idade e formulação e entre idade e período de armazenamento para a variável luminosidade (L*).

Idade x Formulação			
	F1	F2	F3
6 semanas	65,17 ^{Aa}	64,74 ^{Aab}	63,92 ^{Ab}
70 semanas	61,07 ^{Ba}	60,28 ^{Ba}	59,34 ^{Bb}
Idade x Período de Armazenamento			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
6 semanas	65,71 ^{Aa}	64,68 ^{Ab}	63,44 ^{Ac}
70 semanas	61,14 ^{Ba}	60,90 ^{Ba}	58,66 ^{Bb}

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

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

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

Tabela 4. Desdobramento da interação entre formulação e período de armazenamento para a variável intensidade de amarelo (b*) e entre idade e período de armazenamento para a variável perda de peso por cozimento (PPC), expressa em porcentagem.

Formulação x Período de Armazenamento (b*)			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
F1	18,52 ^{Ba}	18,64 ^{Aa}	17,79 ^{Bb}
F2	18,64 ^{Ba}	18,42 ^{Aa}	18,26 ^{ABa}
F3	19,46 ^{Aa}	18,83 ^{Aab}	18,70 ^{Ab}
Idade x período de armazenamento (PPC)			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
6 semanas	14,51 ^{Ab}	16,97 ^{Aa}	15,04 ^{Aab}
70 semanas	14,77 ^{Aab}	14,97 ^{Ba}	13,01 ^{Bb}

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

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

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

Nota-se que o uso de carne de aves abatidas com seis semanas de idade conferiu ao hambúrguer maior luminosidade (64,61, em média) do que aos formulados com a carne de aves mais velhas (60,23, em média), Tabela 3. Com a redução da inclusão de carne de peito (F3) houve redução da luminosidade dos hambúrgueres devido à maior intensidade de vermelho, característica

da carne de coxa e sobrecoxa. A luminosidade foi reduzida com o tempo de armazenamento em amostras produzidas com carne de aves de ambas as idades estudadas. Com o aumento da inclusão de carne de coxa e sobrecoxa de 40% (F1) para 60% (F3) houve aumento do valor de b* em hambúrgueres que não foram congelados e também em hambúrgueres congelados por

30 dias (Tabela 4). Com o armazenamento a intensidade de amarelo foi reduzida em hambúrgueres das formulações F1 e F3.

Komiyama *et al.* (2009) ao estudarem as características qualitativas de hambúrgueres elaborados com carne de frango pálida e normal concluíram que os valores de L^* e b^* tendem a aumentar e o valor de a^* a diminuir com o tempo de estocagem. A redução do valor de a^* pode estar associada à oxidação lipídica ocorrida durante o período de armazenamento, pois os produtos da oxidação lipídica podem oxidar o átomo de ferro ou desnaturar a molécula de mioglobina e alterar a coloração da carne, assim como a oxidação da mioglobina pode catalisar a oxidação lipídica (Jakobsen e Bertelsen, 2000; Lynch e Faustman, 2000; Silva, 2014). A concentração de lipídios insaturados, incorporação de ar, pigmentos heme, contato com metais e a elevação da temperatura oriunda do processo de moagem contribuem para a oxidação lipídica e dos pigmentos, o que provoca alterações da cor da carne (Field, 1988; Trindade *et al.*, 2008). Neste estudo foi observada redução dos valores de L^* e de b^* e o valor de a^* não foi influenciado pelo armazenamento por até 30 dias, diferente do que foi relatado na literatura citada.

Observa-se que hambúrgueres formulados com carne de aves em idade de descarte e armazenados sob congelamento por 15 e 30 dias apresentaram menor perda de peso por cozimento do que hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas em idade comercial. A carne de peito de aves em idade de descarte apresenta maior capacidade de retenção de água e menor perda de peso por cozimento do que a carne de peito de aves abatidas com seis semanas de idade (Mello, 2017), razão pela qual a perda de peso por cozimento dos hambúrgueres fabricados com carne de aves mais velhas é menor. Houve efeito do armazenamento sobre a perda de peso por cozimento de hambúrgueres, sendo que os armazenados por 15 dias apresentaram maior perda.

Houve interação significativa entre idade e formulação para as variáveis pH, atividade de água e TBARS; entre idade e período de armazenamento para as variáveis pH e TBARS; e entre formulação e período de armazenamento para as variáveis atividade de água e TBARS

(Tabela 5), cujos desdobramentos são mostrados nas Tabelas 6, 7 e 8.

Hambúrgueres das formulações F1 e F2 e elaborados com carne de aves abatidas em idade de descarte apresentaram pH superior ao de hambúrgueres produzidos com carne de aves abatidas com seis semanas de idade (Tabela 6). A formulação contendo quantidades iguais de carne de peito e de pernas (F2) de aves em idade de descarte apresentou pH superior ao das demais. Durante o armazenamento, hambúrgueres formulados com carne de aves de descarte apresentaram pH superior ao de hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas em idade comercial. O valor do pH aumentou com o armazenamento. Mantilla *et al.* (2009) também observaram variações consideráveis de pH a partir do 12º dia de armazenamento (de 5,6 para 6,0) ao avaliarem a vida de prateleira de filés de frango resfriados.

Valores de pH entre 5,8 e 6,2 indicam que a carne está ideal para o consumo; valor de pH igual a 6,4 indica que a carne é recomendada apenas para o consumo imediato e valor de pH superior a 6,4 indica que a carne está imprópria para consumo (Terra e Brum, 1988). Assim, mesmo com o aumento ocorrido durante o armazenamento e com o valor de pH superior verificado entre as amostras produzidas com carne de aves em idade de descarte, os hambúrgueres estudados foram considerados próprios para o consumo.

Hambúrgueres produzidos com iguais proporções de carne de peito e de pernas (F2) provenientes de aves em idade de descarte apresentaram maior atividade de água (a_w) do que os produzidos com carne de frangos abatidos em idade comercial (Tabela 7). Com o aumento da inclusão de carne de coxa e sobrecoxa na formulação de hambúrgueres elaborados com carne de aves em idade de descarte, ocorreu o aumento da atividade de água. Durante o armazenamento houve variação da atividade de água de hambúrgueres produzidos com as três formulações estudadas, sendo que as amostras congeladas por 30 dias apresentaram maior a_w que as demais.

Hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas em idade de descarte apresentaram maior oxidação lipídica (em média 2,305 mg MDA/Kg) do que hambúrgueres formulados

Tabela 5. Potencial de hidrogênio, atividade de água (a_w) e oxidação lipídica (TBARS) de hambúrgueres formulados com carne de frangos de corte, abatidos em idade comercial (6 semanas) e idade de descarte (70 semanas), armazenados por até 30 dias.

	pH	a_w	TBARS (mg MDA/kg)
Idade (I)			
6 semanas	5,97	0,959	1,895
70 semanas	6,03	0,962	2,305
Formulação (F)			
F1	5,98	0,960	2,103
F2	6,05	0,954	1,867
F3	5,97	0,967	2,331
Período de Armazenamento (A)			
Sem armazenamento	5,96	0,962	2,282
15 dias	6,02	0,950	1,928
30 dias	6,02	0,968	2,090
P-value (I)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (F)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (A)	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (Int. IxF)	<0,0001	0,0039	<0,0001
P-value (Int. IxA)	<0,0001	0,4578	<0,0001
p-value (Int. FxA)	0,2569	<0,0001	0,0042

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas. Int.: interação entre as variáveis.

Tabela 6. Desdobramento das interações entre idade e formulação e entre idade e período de armazenamento para a variável pH.

	Idade x Formulação		
	F1	F2	F3
6 semanas	5,96 ^{Ba}	5,97 ^{Ba}	5,98 ^{Aa}
70 semanas	6,00 ^{Ab}	6,13 ^{Aa}	5,97 ^{Ac}
	Idade x Período de Armazenamento		
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
6 semanas	5,95 ^{Bb}	5,98 ^{Ba}	5,98 ^{Ba}
70 semanas	5,98 ^{Ab}	6,07 ^{Aa}	6,06 ^{Aa}

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

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

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

Tabela 7. Desdobramento das interações entre idade e formulação e entre formulação e período de armazenamento para a variável atividade de água (a_w).

Idade x Formulação			
	F1	F2	F3
6 semanas	0,961 ^{Aa}	0,951 ^{Bb}	0,965 ^{Aa}
70 semanas	0,958 ^{Ab}	0,957 ^{Ab}	0,969 ^{Aa}
Formulação x Período de Armazenamento			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
F1	0,960 ^{Aab}	0,953 ^{Ab}	0,967 ^{Ba}
F2	0,961 ^{Aa}	0,940 ^{Bb}	0,960 ^{Ba}
F3	0,966 ^{Ab}	0,957 ^{Ac}	0,978 ^{Aa}

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

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

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

Tabela 8. Desdobramento das interações entre idade e formulação; entre idade e período de armazenamento; e entre formulação e período de armazenamento para a variável oxidação lipídica (TBARS) (mg MDA/kg).

Idade x Formulação			
	F1	F2	F3
6 semanas	1,919 ^{Bab}	1,782 ^{Bb}	1,983 ^{Ba}
70 semanas	2,286 ^{Ab}	1,951 ^{Ac}	2,679 ^{Aa}
Idade x Período de Armazenamento			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
6 semanas	2,289 ^{Aa}	1,859 ^{Bb}	1,537 ^{Bc}
70 semanas	2,276 ^{Aa}	2,320 ^{Aa}	2,320 ^{Aa}
Formulação x Período de Armazenamento			
	Sem armazenamento	15 dias	30 dias
F1	2,249 ^{Ba}	1,982 ^{Ab}	2,077 ^{Bab}
F2	1,990 ^{Ca}	1,769 ^{Bb}	1,842 ^{Cab}
F3	2,608 ^{Aa}	2,035 ^{Ac}	2,350 ^{Ab}

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

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

F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

com carne de aves abatidas em idade comercial (1,895 mg MDA/Kg, em média), Tabela 8. Em hambúrgueres produzidos com carne de aves em idade de descarte a inclusão de diferentes proporções de carne de peito e de pernas e,

consequentemente, a variação do percentual e do tipo de gordura da formulação, provocou o aumento da oxidação lipídica nos hambúrgueres, fazendo com que os valores de TBARS fossem mais elevados nas formulações F1 e F3.

Os lipídeos conferem características desejáveis de suculência, sabor e aroma, no entanto são facilmente oxidáveis (Shimokomaki *et al.*, 2006). A oxidação lipídica pode ser responsável pela ocorrência de sabores e odores desagradáveis e não característicos, que tornam os alimentos impróprios para o consumo humano; provoca alterações na qualidade nutricional pela degradação de vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais; além de comprometer a integridade e a segurança alimentar, uma vez que os produtos desta oxidação são compostos potencialmente tóxicos (Torres *et al.*, 1998; Ramalho e Jorge, 2006; Bigolin *et al.*, 2014).

O percentual de gordura da carne de peito de aves em idade de descarte é maior (13,4 g/Kg) do que em carne de aves abatidas com seis semanas de idade (5,9 g/Kg) (Mello, 2016). Assim, é possível atribuir a maior oxidação lipídica dos hambúrgueres produzidos com carne de aves em idade de descarte ao maior percentual de gordura, característico deste tipo de carne, e que quando combinado ao processo de moagem favorece o aceleração da oxidação dos lipídios através do aumento da superfície de contato da carne com a luz e o oxigênio (Bigolin *et al.*, 2014).

Durante o processo de moagem os fosfolipídios insaturados que compõem as membranas, e que são altamente susceptíveis à oxidação (Pearson *et al.*, 1977), também são expostos a componentes catalíticos como enzimas, pigmentos heme e íons metálicos (Torres *et al.*, 1998), o que resulta na geração de radicais livres e na propagação das reações oxidativas (Trindade *et al.*, 2008). Odores de ranço seriam detectáveis por provadores não treinados quando os níveis de TBARS estivessem entre 0,6 e 2,0 mg de malonaldeído por quilograma de amostra (Counsell e Horning, 1981; Trindade *et al.*, 2008), entretanto, mesmo com os valores elevados obtidos como resultado deste estudo, não foram verificados sabor e odor que não fossem característicos de hambúrgueres de frango ou que comprometessem o consumo.

Observa-se que hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas em idade de descarte receberam notas inferiores aos hambúrgueres formulados com carne de aves abatidas em idade comercial para todos os atributos avaliados, entretanto as notas atribuídas para a carne de aves de descarte, mesmo que inferiores, foram positivas, com valores que variaram entre 5 e 7 (indiferente e gostei moderadamente; Tabela 9). Nunes *et al.* (2006) ao avaliarem a aceitação sensorial de *nuggets* fabricados

Tabela 9. Teste de aceitação de hambúrgueres formulados com carne de frangos de corte abatidos em idade comercial (6 semanas) e em idade de descarte (70 semanas).

	Aspecto Geral	Odor	Sabor	Textura	Suculência	Intenção de Compra
	Idade (I)					
6 semanas	7,18 ^A	7,34 ^A	7,04 ^A	6,88 ^A	6,78 ^A	6,74 ^A
70 semanas	6,49 ^B	6,80 ^B	6,13 ^B	5,91 ^B	5,90 ^B	5,80 ^B
	Formulação (F)					
F1	7,03	6,99	6,93 ^A	6,74 ^A	6,65 ^A	6,63 ^A
F2	6,80	7,20	6,44 ^B	6,37 ^{AB}	6,25 ^{AB}	6,10 ^B
F3	6,68	7,03	6,39 ^B	6,08 ^B	6,11 ^B	6,08 ^B
P-value (I)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
P-value (F)	0,0800	0,3833	0,0036	0,0005	0,0078	0,0070
P-value (IxF)	0,8776	0,7323	0,8966	0,1387	0,7901	0,2377

^{A,B}Médias seguidas por letras distintas (nas colunas) diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). F1: 60% carne de peito e 40% carne de pernas; F2: 50% carne de peito e 50% carne de pernas; F3: 40% carne de peito e 60% carne de pernas.

com carne de peito de galinhas matrizes em comparação com *nuggets* fabricados com carne de peito de frango, também concluíram que a elaboração de produtos cárneos à base carne de peito de galinha de descarte resultou em produtos com qualidade sensorial semelhante à dos elaborados com filé de peito de aves abatidas em idade comercial, e que a elaboração de produtos reestruturados empanados poderia ser uma boa alternativa para a utilização de filés de peito de galinhas matrizes assim como os hambúrgueres.

O tipo de formulação utilizado não influenciou ($P>0,05$) o aspecto geral e o odor dos hambúrgueres. A formulação contendo maior proporção de carne de peito (F1) foi preferida entre os provadores e recebeu notas superiores às notas das demais formulações com relação ao sabor, à textura, à suculência e à intenção de compra.

CONCLUSÃO

Hambúrgueres contendo maior inclusão de carne de peito do que carne de coxa e sobrecoxa são preferidos pelo consumidor. A opinião dos provadores indica um parecer favorável à fabricação e à aceitação de hambúrgueres formulados com 100% de carne de aves abatidas em idade de descarte, fazendo com que o hambúrguer seja uma alternativa de processamento que agregue valor à carne de aves em final de ciclo de produção.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo 2012/08787-7) e bolsa de estudos concedidos (Processo 2011/21681-0).

LITERATURA CITADA

ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal). Relatório Anual 2016. 2016. Disponível em linha: <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais/2016> [04, jun. 2016].

AOAC (Association of Analytical Chemists). 2011. Official Methods of Analysis of AOAC

International. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, USA. p. 2590.

Bigolin, J., C. I. Weber, A. T. Alfaro. 2014. Ação de diferentes agentes sobre a oxidação lipídica de carne mecanicamente separada de frango. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* 36:383-388.

Borba, C. M., V. R. de Oliveira, K. R. Montenegro, P. F. Hertz, J. G. Venzke. 2013. Avaliação físico-química de hambúrguer de carne bovina e de frango submetidos a diferentes processamentos térmicos. *Alimentos e Nutrição = Brazilian Journal of Food Nutrition*, 24:21-27.

Counsell, J. N., D. H. Hornig. 1981. Vitamin C: ascorbic acid. Essex, England: Applied Science Publications. Cap. 7.

Field, R. A. 1988. Mechanically separated meat, poultry and fish. **In:** Pearson, AM; Dutson TR. (Eds). *Edible Meat By-Products*. New York. Elsevier Applied Science. pp. 83-128.

Jakobsen, M., G. Bertelsen. 2000. Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science* 54:49-57.

Kang, G. H., S. H. Kim, J. H. Kim, H. K. Kang, D. W. Kim, J. C. Na, D. J. Yu, O. S. Suh, Y. H. Choi. 2009. Effects of washing methods on gel properties of chicken surimi prepared from spent hen breast muscle. *Poultry Science* 88:1438-1443.

Komiyama, C. M., A. A. Mendes, S. E. Takahashi, J. Moreira, H. Borba, F. R. Leonel, R. O. Roça, I. C. Almeida, A. B. Neto. 2009. Características qualitativas de produtos elaborados com carne de frango pálida e normal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 29:38-45.

Lynch, M. O., C. Faustman. 2000. Effect of aldehyde lipid oxidation products on myoglobin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 48:600-604.

Madrugá, M. S., N. T. Narain, F. Duarte, W. H. de Souza, M. S. Galvão, M. G. Cunha, J. L. Ramos. 2005. Características químicas

- e sensoriais de cortes comerciais de caprinos SRD e mestiços de Bøer. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 25:713-719.
- Mantilla, P. S., E. B. Santos, C. A. Conte Júnior, S. B. Mano, H. C. Vital, R. M. Franco. 2009. Bactérias deteriorantes em filés de frango embalados em ar, vácuo e irradiados: parâmetros bacteriológicos de desenvolvimento e prazo comercial. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 39:271-277.
- Mello, J. L., C. Demarchi, H. Borba, L. M. Villa, M. F. Bonfim, M. P. Berton, P. A. Souza, T. L. Takada. 2014. Color of breast meat from broilers with different genders and ages, after aging process. *Anais da 51ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Aracaju, Sergipe, Brasil*. Disponível em: <http://www.sbz.org.br/reuniaoanual/anais/?idiom=pt> [06, jun. 2016].
- Mello, J. L. 2016. Caracterização física e química da carne de peito de aves de diferentes idades submetida à maturação. Tese de Doutorado. Jaboticabal, SP, Brasil, Universidade Estadual Paulista. p. 85.
- Mello, J. L., R. A. Souza, F. B. Ferrari, A. Giampietro-Ganeco, P. A. Souza, H. Borba. 2017. Effects of aging on characteristics of breast meat from free-range broiler hens at 12 or 70 weeks of age (em linha). *Animal Production Science* 58(9):1726-1734. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1071/AN16523>. [17, jul. 2018].
- Nunes, T. P., M. A. Trindade, E. M. Ortega, C. J. Contreras-Castillo. 2006. Aceitação sensorial de reestruturados empanados elaborados com filé de peito de galinhas matrizes de corte e poedeiras comerciais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 26:841-846.
- Pearson, A. M., J. D. Love, f. B. Shorland. 1977. Warmed-over-flavor in meat, poultry and fish. *Advances in Food Research* 23:1.
- Pinheiro, R. S., A. M. Jorge, C. L. Francisco, E. N. Andrade. 2008. Composição química e rendimento da carne ovina in natura e assada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28(supl.):154-157.
- Ramalho, V. C., N. Jorge. 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, 29:755-760.
- SAS. Institute Inc. 2002. Version 9.1®. User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Shimokomaki, M., R. Olivo, N. N. Terra, B. D. Franco. 2006. Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo. Brasil. Varela. p. 230.
- Silva, S. L. 2014. Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de hambúrgueres de frangos suplementados com folhas de oliveiras. Dissertação de Mestrado. RS, Brasil, Universidade Federal de Santa Maria. p. 106.
- Stone, H., J. L. Sidel. 1985. *Sensory Evaluation Practices*. Orlando. Academic Press Inc. p. 326.
- Terra, N. N., M. A. Brum. 1988. Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade. São Paulo. Brasil. Nobel. p. 121.
- Torres, E. A., C. D. Rimoli, R. Olivo, M. K. Hatano, M. Shimokomaki. 1998. Papel do sal iodado na oxidação lipídica em hambúrgueres bovino e suíno (misto) ou de frango (em linha). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 18(1):49-52. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000100011>. [05, jun. 2016].
- Trindade, M. A., T. P. Nunes, C. J. Contreras-Castillo, P. E. Felício. 2008. Estabilidade oxidativa e microbiológica em carne de galinha mecanicamente separada e adicionada de antioxidantes durante período de armazenamento a -18 °C. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28:160-168.
- Vyncke, B. W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fett Wissenschaft Technologie* 72:1084-1087.
- Wheeler, T. L., S. D. Shackelford, M. Koohmaraie. 1998. Cooking and palatability traits of beef longissimus steaks cooked with a belt grill or na open hearth electric broiler. *Journal of Animal Science* 76:2805-2810.

Efecto de la suplementación alimenticia sobre el crecimiento folicular ovárico, peso y edad a la pubertad en vaquillas Romosinuano

Effect of feed supplementation on ovarian follicular growth, weight and age at puberty in Romosinuano heifers

Víctor Hugo Severino Lendecky¹, Cesar Orlando Pozo Santiago², Juan Carlos Muñoz González², Julio Vilaboia Arroniz^{3*}

¹Universidad Autónoma de Chiapas. Centro de Estudios Etnoagropecuarios. México. ²Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad Maya de Estudios Agropecuarios, Ingeniería en Agronomía y Medicina Veterinaria y Zootecnia. ³Agroecosistemas Productivos S.P.R. de R.L. de C.V. *Correo electrónico: juliovilaboia@hotmail.com.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la suplementación alimenticia sobre el desarrollo folicular ovárico, edad y peso a la pubertad en hembras Romosinuano prepúberes. Se generó un arreglo factorial 2x2, con 80 hembras de 8 y 10 meses de edad, distribuidas en dos experimentos. Los factores considerados fueron edad al inicio del experimento (8 y 10 meses) y suplementación alimenticia (Con y Sin). En el primer experimento, 20 hembras se asignaron a cuatro tratamientos: T1) hembras de 8 meses de edad con suplementación alimenticia (CSA); T2) hembras de 8 meses de edad sin suplementación alimenticia (SSA); T3) hembras de 10 meses de edad CSA; T4) hembras de 10 meses de edad SSA. Únicamente las vaquillas de T3 presentaron pubertad, con peso y edad de 337,2±6,0 Kg y 17,7±1,0 meses, respectivamente. La concentración de P₄ en sangre, así como el número y diámetro folicular, fueron mayores (P<0,05) en las vaquillas de T1 y T3 comparado con las de T2 y T4. En el segundo experimento se evaluó el efecto de SSA sobre la edad y peso al primer estro. Se distribuyeron 60 hembras a cuatro grupos: T1, T2, T3 y T4 (n= 15 en cada tratamiento). Los resultados fueron mayores (P<0,05) en las vaquillas SSA (20,0±0,5 meses; 320,4±3,0 Kg), comparados con las CSA (17,0±0,5 meses; 333,6±4,5 Kg). La suplementación alimenticia incrementa las ganancias de peso al primer estro y disminuye la edad a pubertad en hembras bovinas Romosinuano de 8 y 10 meses de edad.

Palabras clave: nutrición, ovulación, folículos ováricos, madurez sexual.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effect of food supplementation on ovarian follicular growth, age and weight at puberty in prepuberal Romosinuano females. A 2x2 factorial arrangement was used, with 80 females, 8 and 10 months of age, distributed in two experiments. The factors age at the beginning of the experiment (8 and 10 months) and nutritional supplementation (with and without) were considered. In the first experiment, 20 females were assigned to four treatments: T1) females of 8 months of age, supplemented (CSA); T2) females of 8 month of age no supplemented (SSA); T3) females of 10 month of age CSA; T4) females of 10 month of age SSA. Only T3 heifers presented puberty, weight and age at puberty were 337.2±6.0 Kg and 17.7±1.0 months, respectively. The blood P₄ concentration, as well as the number and follicular diameter, were greater (P<0.05) in heifers of T1 and T3 groups compared with T2 and T4 groups. In the second experiment, the SSA effect on age and average weight at first estrus was evaluated. Sixty prepuberal females were used, distributed in four groups: T1, T2, T3 and T4 (n=15 in each treatment). The results were greater (P<0.05) in SSA groups (20.0±0.5 months; 320.4±3.0 Kg) compared with CSA groups (17.0±0.5 months; 333.6±4.5 Kg). Food supplementation increases weight gains at first estrus and decreases the age at puberty in Romosinuano females of 8 and 10 months old.

Key words: nutrition, ovulation, ovarian follicles, sexual maturity.

Recibido: 29/03/17 Aprobado: 28/09/17

INTRODUCCIÓN

La pubertad en la hembra bovina es la culminación de una serie de eventos que resultan en la presencia del estro, acompañado de ovulación y función lútea normal (Faure y Morales, 2003). Esta etapa fisiológica tiene importancia económica ya que las novillonas con pubertad precoz, representan un costo menor que aquellas que alcanzan esta etapa con mayor edad (Faure y Morales, 2003). Las novillonas que logran parir su primera cría alrededor de los dos años de edad, producen más becerros durante su vida productiva, comparadas con las que la hacen a los tres o más años (Evans y Rawlings, 2010). Para que la pubertad se presente tempranamente, es necesario considerar la relación entre varios factores como la nutrición, peso, raza, edad, clima y enfermedades (Faure y Morales, 2003). Estos factores son importantes en el trópico, y deben ser manejados cuidadosamente; de lo contrario, pueden promover pubertad tardía en la novillona (después de los 30 meses) y primer parto entre los 42 y 48 meses, lo que ocasiona una disminución de la eficiencia reproductiva (Maquivar y Galina, 2010). Lo anterior se ha reportado en razas cebuínas, europeas y sus cruces *Bos taurus* x *Bos indicus* (De Alba, 2011). Las primeras, aunque tienen buena capacidad de adaptación al trópico, han perdido productividad y precocidad; las segundas, son razas especializadas con dificultades de adaptación a ambientes tropicales y las terceras, aunque han mostrado cierta mejoría por su vigor híbrido, presentan índices productivos inconsistentes y no han ofrecido una solución a la problemática productiva de la ganadería tropical, en la que se observan edad y peso a la pubertad ≥ 36 meses y ≥ 370 Kg, respectivamente, prolongado anestro posparto (≥ 300 días), bajos porcentajes de gestación (45-50%) y periodo interpartos ≥ 570 días (Vite *et al.*, 2007; Maquivar y Galina, 2010; Mejía-Bautista *et al.*, 2010; Diskin y Kenny, 2016).

El uso de razas más precoces y adaptadas pueden ofrecer una alternativa para la mejora de los índices reproductivos en el trópico; en este sentido, la raza Romosinuano (RO) ha mostrado mayores atributos, comparada con las razas predominantes en regiones tropicales (De Alba, 2011). La raza RO es un recurso genético

importante en México, y su conservación y desarrollo son de vital importancia en la generación de alternativas para los hatos bovinos del trópico, mediante el uso y aprovechamiento de sus capacidades productivas (De Alba, 2011). Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la suplementación alimenticia sobre el crecimiento folicular ovárico, peso y edad a la pubertad en vaquillas Romosinuano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica de la unidad de producción. El estudio se realizó en la unidad de producción (UP) ubicada en Ixtacomitán, Tabasco, México. Con coordenadas 17° 96' 67" N, 92° 96' 67" O, 10 msnm, clima tropical húmedo, temperatura y precipitación media anual de 26,4°C y 1500 mm, respectivamente (García, 1981).

Características de los animales experimentales. Se seleccionaron ochenta hembras RO, prepúberes, de 8 y 10 meses de edad; se identificaron conforme a los registros y se mantuvieron con el manejo habitual de alimentación (pastoreo) y sanidad de la UP. Las hembras, se identificaron con numeración progresiva según el orden de inclusión en el estudio.

Experimento 1

Grupos experimentales: Veinte becerras RO de 8 y 10 meses de edad prepúberes se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial 2x2. Los factores considerados fueron, edad de la vaquilla (8 y 10 meses) y suplementación alimenticia (Con y Sin). Los tratamientos fueron: T1) vaquillas de 8 meses de edad con suplementación alimenticia (CSA; n= 5); T2) vaquillas de 8 meses de edad sin suplementación alimenticia (SSA; n= 5); T3) vaquillas de 10 meses de edad CSA (n= 5); y T4) vaquillas de 10 meses de edad SSA (n= 5).

Manejo alimenticio: Las becerras CSA (T1 y T3) se mantuvieron en potreros con pasto Señal (*Brachiaria decumbens*) y Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*), proporcionándoles suplementación alimenticia (SA) con alimento balanceado comercial (18% de proteína cruda), a razón de 2 Kg por animal/día y sales minerales a libre acceso (8% de fósforo). El periodo de

suplementación abarcó desde la inclusión de los animales en el estudio hasta la presentación de pubertad en alguno de los grupos experimentales.

VARIABLES EVALUADAS: Con excepción de la suplementación alimenticia, todos los animales recibieron el mismo manejo. Las variables estudiadas fueron ganancia diaria de peso, ganancia de peso total, crecimiento folicular, inicio de pubertad, peso y edad a la pubertad y concentración de progesterona en sangre. Para la determinación de la ganancia diaria de peso, ganancia de peso total y peso a la pubertad, se tomó el peso de las becerras al inicio del estudio y posteriormente cada 22 días hasta el final del tratamiento.

El crecimiento folicular fue evaluado mediante el conteo de los folículos presentes, determinación del tamaño folicular y presencia de un folículo dominante (FD). En este experimento, el inicio de la pubertad fue definido por el momento de ocurrencia de la ovulación con formación de un cuerpo lúteo funcional (CL). La presencia y funcionalidad del CL fue confirmada por la detección de concentraciones de $P_4 \geq 1$ ng mL⁻¹ en dos muestreos consecutivos.

Para la caracterización del crecimiento folicular ovárico, se utilizó un equipo de ultrasonido portátil Universal modelo UMS 900, con un transductor transrectal de 7,0 MHz. Se empleó la técnica descrita por Ginther *et al.* (1989) en la que se inserta la sonda vía rectal, colocación de la misma a lo largo de la superficie dorsal del cuerno del útero y posterior ejecución de movimientos laterales para examinar los ovarios. Para la evaluación ecográfica se consideraron ciclos de 22 días, siendo el día 0 el día de inicio del estudio. Las estructuras ováricas fueron examinadas dos veces por semana, desde el día 0 hasta el 17; desde el día 18 hasta el 22, se realizó diariamente. En cada evaluación se contaron los folículos presentes, se determinó el tamaño folicular y la presencia de un folículo dominante (FD). La evaluación ultrasonográfica se continuó hasta la detección de la ovulación en alguno de los grupos experimentales. Aquellas becerras con presencia de un FD de 12 a 15 mm de diámetro y con desaparición del mismo en la siguiente evaluación ecográfica, fueron evaluadas nuevamente los días +7 y +14 a partir de la desaparición del folículo, a fin de confirmar la presencia de un CL. En caso de no detectarse

un CL, el estudio ecográfico fue reiniciado cada 22 días. Conjuntamente a la evaluación ultrasonográfica, se realizó muestreo sanguíneo de todas las hembras para la determinación de progesterona sérica; la extracción de sangre se realizó mediante punción de la vena coccígea, con aguja calibre 21G x 38 mm y tubos Vacutainer® de 6 ml sin anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 2,500 x g por 10 min con la finalidad de separar el suero. Esto se realizó en un tiempo no mayor a 4 h después de tomadas las muestras. Las alícuotas de suero fueron congeladas a -20°C hasta la ejecución del análisis. La concentración de progesterona fue determinada por radioinmunoensayo en fase sólida (Kit Progesterona, PROG-CTRIA®).

Experimento 2

El manejo general, la alimentación y el arreglo de los tratamientos fue igual al experimento 1, a excepción del número de animales por tratamiento y las variables evaluadas. Para el ensayo, se distribuyeron 60 hembras en cuatro grupos: T1, T2, T3 y T4 (n= 15 en cada tratamiento). El periodo de suplementación abarcó desde la inclusión de los animales en el estudio hasta la presentación del primer estro. Las variables bajo estudio fueron ganancia diaria de peso, ganancia de peso total, peso y edad al primer estro. El día de inicio del experimento las becerras se pesaron para determinar su peso inicial y posteriormente cada 22 días hasta el final del estudio para determinar ganancia diaria de peso, ganancia de peso total y peso al primer estro. La ocurrencia del estro se determinó por la presentación de signos tales como incremento de la actividad, intento de monta a otros animales, mugido frecuente, tumefacción vulvar, incremento del acicalamiento y dejarse montar por otro animal del rebaño, siendo este último, el más importante (Sepúlveda y Rodero, 2003). La detección de estros se realizó todos los días, con dos periodos de observación, en la mañana (7:00 a 9:00 h) y en la tarde (19:00 a 21:00 h).

Análisis estadístico

Para determinar los efectos de los tratamientos sobre la ganancia diaria de peso, ganancia de peso total, peso y edad a la pubertad y al primer estro, se realizaron análisis de varianza

en un arreglo factorial 2x2, considerando como covariable peso inicial, y como factores edad de la vaquilla y SA. Los datos del crecimiento folicular y concentración sérica de progesterona se evaluaron mediante un análisis univariado de medidas repetidas, considerando como covariables peso inicial, ganancia diaria de peso, ganancia de peso total y peso a la pubertad. La tasa de ovulación se analizó con una prueba de Chi-cuadrada. Para determinar la probabilidad de presentar el primer estro según el tratamiento asignado, se realizó un análisis de sobrevivencia a través del método Kaplan-Meier. Todas estas pruebas se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Cambios en peso corporal. Las vaquillas con SA presentaron mayores ($P<0,05$) ganancias diarias de peso y peso total (Cuadro 1), comparadas con las que no la recibieron, confirmando lo reportado por otros autores (Gasser *et al.*, 2006a; Maquivar *et al.*, 2010).

Edad y peso a la pubertad. El inicio de la SA a los 10 meses de edad promovió la presentación de pubertad en el 100% de las vaquillas del grupo experimental. La edad y peso promedio a la pubertad fueron de $17,7\pm 1,0$ meses y $337,2\pm 6,0$ Kg, respectivamente. Contrariamente, no se observó pubertad en el grupo CSA de 8 meses de edad, y tampoco en las vaquillas SSA

de 8 y 10 meses (Cuadro 1). Las hembras de T1 tuvieron mayor ganancia diaria de peso y ganancia de peso total que las hembras de T2, sin embargo, no presentaron pubertad durante el periodo de estudio, esto se atribuye a que no tuvieron el tiempo suficiente para alcanzar las condiciones físicas (peso) necesarias para ovular (Perry, 2012). Lo anterior, sugiere que las vaquillas RO requieren de un peso y edad mínimos para presentar la pubertad, y que en este estudio fue de 17 meses y 337 Kg en promedio. Los beneficios de la suplementación alimenticia sobre la ganancia de peso y edad a la pubertad en vaquillas, se ha documentado en razas *Bos taurus* (Gasser *et al.*, 2006a), *Bos indicus* (Romano *et al.*, 2007) y *Bos taurus* x *Bos indicus* (Maquivar *et al.*, 2010). Al estudiar novillonas *Bos taurus* suplementadas o no, se ha observado un aumento temprano en la frecuencia de pulsos de LH (16 ± 6 vs. 3 ± 1 pulsos/24 h), folículos de mayor tamaño ($12,02\pm 1,1$ vs. $10,85\pm 1,0$ mm), mayor número de ondas foliculares ($2,7\pm 0,05$ vs. $2,0\pm 0,05$) y mayor secreción de 17β -estradiol ($4,13\pm 1,11$ vs. $2,04\pm 0,82$ pg/ml), en el grupo complementado y testigo, respectivamente (Gasser *et al.*, 2006a,b,c). Sin embargo, los mecanismos exactos mediante los cuales la SA y las ganancias de peso (condición corporal) contribuyen a disminuir la edad a la pubertad no están bien definidos (Maquivar y Galina, 2010). No obstante, la SA, fue una herramienta eficaz para aumentar las ganancias de peso y reducir la edad a la pubertad en vaquillas RO que iniciaron la suplementación a los 10 meses de edad. La información sobre la edad y peso

Cuadro 1. Ganancias de peso y edad a la pubertad en hembras Romosinuano distribuidas por grupo de tratamiento.

Variable	T1 (n=5)	T2 (n=5)	T3 (n=5)	T4 (n=5)
Peso inicial (Kg)	167,9 \pm 10,1 ^a	165,0 \pm 8,0 ^a	235,4 \pm 8,6 ^b	231,0 \pm 10,8 ^b
Ganancia de peso (g/día)	0,580 \pm 0,08 ^a	0,350 \pm 0,06 ^b	0,591 \pm 0,05 ^a	0,365 \pm 0,08 ^b
Ganancia de peso total (Kg)	121,3 \pm 6,3 ^a	73,2 \pm 1,5 ^b	128,5 \pm 8,3 ^a	78,7 \pm 5,2 ^b
Peso a la pubertad (Kg)	0 ^a	0 ^a	337,2 \pm 6,0 ^b	0 ^a
Edad a la pubertad (meses)	0 ^a	0 ^a	17,7 \pm 1,0 ^b	0 ^a

^{a,b}Diferente literal por fila por grupo de edad indica diferencia estadística ($P<0,05$). (Media \pm DE). T1 (8 m, CSA), T2 (8 m, SSA), T3 (10 m, CSA), T4 (10 m, SSA).

a la pubertad en hembras RO es limitada; sin embargo, se ha reportado que vaquillas de esta raza manejadas en condiciones de pastoreo, alcanzan la pubertad a una edad más temprana y con menor peso, comparadas con hembras de otras razas *Bos taurus* y *Bos indicus* (De Alba, 2011). Los resultados obtenidos en este estudio, indican que el RO es una raza precoz, al comparar su desempeño con los datos de edad (22 a 36 meses) y peso a la pubertad (350 a 370 Kg) reportados por Maquivar y Galina (2010), en animales *Bos taurus*, *Bos indicus* y *Bos taurus* x *Bos indicus*, bajo condiciones tropicales.

Crecimiento folicular y ovulación. Las vaquillas de los grupos CSA (8 y 10 meses), presentaron un mayor número de folículos y diámetro folicular ($P < 0,05$), comparadas con los grupos SSA (Cuadro 2), lo cual coincide con lo reportado por Romano *et al.* (2007), quienes observaron folículos de mayor tamaño ($10,52 \pm 0,3$ mm) en novillonas *Bos indicus* alimentadas con una dieta alta en energía, comparadas a las alimentadas con una dieta baja en energía ($9,76 \pm 0,15$ mm). A su vez, Gasser *et al.* (2006b) encontraron diferencias en el desarrollo folicular de novillonas *Bos taurus* suplementadas ($13,4 \pm 0,4$ mm), respecto a las no suplementadas ($11,1 \pm 0,3$ mm). Los resultados anteriores muestran que el manejo y el *estatus* nutricional de becerras en desarrollo prepuberal, es muy importante para un mejor crecimiento folicular y desempeño reproductivo (Maquivar *et al.*, 2010; González-Stagnaro y De la Fuente-Martínez, 2012).

La pubertad y ovulación se presentó únicamente en el grupo de vaquillas CSA de 10 meses de edad, lo cual difiere de lo reportado por Maquivar *et al.* (2010) en novillonas *Bos taurus* x *Bos indicus* a una edad de 673 ± 146 días y peso promedio de 340 Kg; estos investigadores

observaron un 77 % de ovulación en el grupo CSA, comparado con 57% del grupo SSA, lo cual se atribuyó a las ganancias de peso y mejor condición corporal de los animales CSA. La diferencia de los datos anteriores con los resultados del presente estudio son atribuibles a que las vaquillas RO no tuvieron el tiempo suficiente para alcanzar el peso mínimo requerido para ovular, debido a que el experimento finalizó en el momento en que las vaquillas de alguno de los grupos presentaron ovulación (Cuadro 2). Lo anterior, corrobora lo observado en novillonas *Bos taurus* y *Bos indicus*, las cuales requieren un peso específico (45 a 60% de su peso adulto) para ovular por primera vez y llegar a la pubertad (Faure y Morales, 2003; Perry, 2012).

Concentración de progesterona. La concentración de P_4 sérica fue mayor ($P < 0,05$) en las vaquillas de 8 y 10 meses CSA, comparadas a las alimentadas únicamente con pasto (Cuadro 3); sin embargo, las vaquillas de 10 meses de edad CSA fueron las únicas que presentaron niveles de progesterona por encima de 1 ng/mL^{-1} , por lo que se puede afirmar que alcanzaron la pubertad. Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los niveles prepuberales y postpuberales ($0,34 \pm 0,28$ y $2,42 \pm 2,0 \text{ ng mL}^{-1}$ respectivamente) observados en becerras de la raza Avileña Negra-Ibérica (González-Stagnaro y De la Fuente-Martínez, 2012). Lents *et al.* (2011) reportaron en novillonas *Bos taurus* de $9,1 \pm 0,1$ y $12,3 \pm 0,1$ meses de edad, diferencias en la concentración de progesterona entre las hembras que permanecieron SCA ($< 1 \text{ ng mL}^{-1}$) con respecto a las CSA ($1,78 \pm 0,18 \text{ ng mL}^{-1}$), indicando que la concentración de P_4 en sangre está relacionado positivamente con las ganancias de peso y condición corporal de los animales, durante la etapa de desarrollo antes y después de la pubertad.

Cuadro 2. Número de folículos, diámetro folicular y tasa de ovulación en hembras Romosinuano distribuidas por grupo de tratamiento.

Variable	T1 (n=5)	T2 (n=5)	T3 (n=5)	T4 (n=5)
Número De folículos	130 ± 10^a	104 ± 5^b	167 ± 12^c	110 ± 6^b
Diámetro folicular (mm)	$7,9 \pm 2,0^a$	$4,4 \pm 1,6^b$	$11,7 \pm 2,0^c$	$6,7 \pm 1,3^d$
Tasa de ovulación (%)	0^a	0^a	100^b	0^a

^{a,b,c,d}Diferente literal por fila por grupo de edad indica diferencia estadística ($P < 0,05$). (Media \pm DE). T1 (8 m, CSA), T2 (8 m, SSA), T3 (10 m, CSA), T4 (10 m, SSA).

Experimento 2

Cambios de peso corporal. La SA mejoró ($P<0,05$) la ganancia diaria de peso y ganancia de peso total en las vaquillas CSA con respecto a las SSA (Cuadro 4).

Las ganancias diarias de peso obtenidas en los grupos CSA son similares a las observadas por Sargentini *et al.* (2007) en vaquillas de la raza criolla Maremmana ($0,600\pm 0,20$ g/d); sin embargo, las ganancias de peso total fueron diferentes ($88,3\pm 16,0$ Kg). Por otra parte, González-Stagnaro y De la Fuente-Martínez, (2012), reportaron en hembras de la raza Avileña Negra-Ibérica, mayores ganancias diarias de peso ($0,780\pm 0,11$ g/d) y menores ganancias de peso total ($69,0\pm 18,0$ Kg).

Edad y peso al primer estro. Las vaquillas de los grupos CSA resultaron más pesadas y con menor edad al momento del primer estro, comparadas con las de los grupos SSA (Cuadro 4). El promedio general de edad y peso al primer estro fue $18,5\pm 1,5$ meses y $327\pm 4,5$ Kg, respectivamente. Los resultados obtenidos

se pueden atribuir a la suplementación alimenticia recibida por los animales, ya que de acuerdo a Gasser *et al.* (2006a,b), la mejora alimenticia se relaciona positivamente con mayor peso (327 ± 17 Kg) y menor edad a la pubertad (262 ± 10 días) en animales *Bos taurus* complementados, comparados con el grupo testigo (303 ± 23 Kg y 368 ± 10 días). Sin embargo, los mecanismos exactos mediante los cuales la SA y las ganancias de peso (condición corporal) contribuyen a la disminución de la edad a la pubertad no están bien esclarecidos (Maquivar y Galina, 2010). No obstante, la SA resultó ser una herramienta eficaz para aumentar las ganancias de peso y reducir la edad a la pubertad en becerras RO. El peso y edad al primer estro obtenidos en el presente estudio, son similares a lo reportado por Sargentini *et al.* (2007) en la raza Maremmana ($15,3\pm 1,2$ meses y $380,0\pm 20,2$ Kg) y por Bodas *et al.* (2009) en la raza Parda de Montaña ($16,5\pm 1,6$ meses y $332,6\pm 88,3$ Kg). Sin embargo, son mayores a los reportados por González-Stagnaro y De la Fuente-Martínez, (2012), en la raza Avileña Negra-Ibérica ($12,0\pm 1,0$ meses y $310,0\pm 2,6$ Kg).

Cuadro 3. Concentración de progesterona sérica en hembras Romosinuano distribuidas por grupo de tratamiento.

Variable	T1 (n=5)	T2 (n=5)	T3 (n=5)	T4 (n=5)
Progesterona en sangre (ng mL ⁻¹)	$0,28\pm 0,07^a$	$0,15\pm 0,01^b$	$1,75\pm 0,03^c$	$0,20\pm 0,02^{ab}$

^{a,b,c}Diferente literal por fila por grupo de edad indica diferencia estadística ($P<0,05$). (Media \pm DE). T1 (8 m, CSA), T2 (8 m, SSA), T3 (10 m, CSA), T4 (10 m, SSA).

Cuadro 4. Ganancias de peso y edad al primer estro en hembras Romosinuano distribuidas por grupo de tratamiento.

Variable	T1 (n=15)	T2 (n=15)	T3 (n=15)	T4 (n=15)
Peso inicial (Kg)	$169,9 \pm 10,1^a$	$167,0 \pm 8,0^a$	$239,4 \pm 8,6^b$	$238,0 \pm 10,8^b$
Ganancia de peso (g/día)	$0,595 \pm 0,07^a$	$0,352 \pm 0,08^b$	$0,605 \pm 0,05^a$	$0,370 \pm 0,06^b$
Ganancia de peso total (Kg)	$159,0 \pm 10,0^a$	$147,3 \pm 4,8^b$	$148,5 \pm 8,3^b$	$118,3 \pm 1,8^c$
Peso al primer estro (Kg)	$310,1 \pm 6,2^a$	$304,4 \pm 3,3^a$	$357,2 \pm 6,0^b$	$336,4 \pm 3,0^c$
Edad al primer estro (meses)	$17,1 \pm 0,5^a$	$20,2 \pm 0,3^b$	$17,0 \pm 0,7^a$	$19,8 \pm 1,0^b$

^{a,b,c}Diferente literal por fila por grupo de edad indica diferencia estadística ($P<0,05$). (Media \pm DE). T1 (8 m, CSA), T2 (8 m, SSA), T3 (10 m, CSA), T4 (10 m, SSA).

Las diferencias y similitudes de los datos mencionados en el párrafo anterior, respecto a los resultados del presente estudio, pueden atribuirse principalmente a factores como tamaño, conformación física y manejo nutricional recibido por las becerras durante su desarrollo prepuberal (Maquivar *et al.* 2010; González-Stagnaro y De la Fuente-Martínez, 2012), lo cual está relacionado con el fin zootécnico de cada raza (González *et al.*, 2006; Maquivar y Galina, 2010. Aunque la raza Maremmana, la Parda de Montaña y la Avileña Negra-Ibérica son razas criollas, las dos primeras son destinadas a la producción de carne, mientras que la raza Avileña Negra-Ibérica es de doble propósito, por lo cual, tienen un manejo zootécnico diferente a la raza RO.

En el presente estudio se observó una interacción positiva entre la SA y la edad al primer estro (Cuadro 5); esto indica que se puede disminuir la edad al primer estro proporcionando SA a las vaquillas, independientemente de la edad de las vaquillas al inicio del estudio (8 ó 10 meses); sin embargo, el lapso de suplementación es menor al emplear vaquillas de 10 meses de edad, por lo que se recomienda utilizar animales de esta edad, en lugar de hembras de 8 meses.

El primer estro detectado se observó tres meses más tarde en las vaquillas alimentadas únicamente con pasto ($20,0 \pm 0,5$ meses), comparadas con las de los grupos CSA ($17,0 \pm 0,6$ meses). Según Patterson *et al.* (1992), esto incide directamente sobre aspectos económicos y productivos, ya que las novillonas que alcanzan la pubertad a una edad más temprana (16 ± 1 meses), logran parir su primer

becerro alrededor de los dos años de edad y producen más becerros en su vida productiva, comparadas con aquellas que presentan la pubertad a una edad tardía y que paren su primera cría después de los tres años. Lo anterior indica que reducir la edad a la pubertad determina una vida productiva más eficiente y prolongada (Day y Grum, 2005; Peter *et al.*, 2009) y promueve una disminución de los costos en la unidad de producción.

De acuerdo a la prueba de Kaplan-Meier, existen diferencias ($P < 0,05$) en la edad de presentación del primer estro entre las vaquillas de 8 y 10 meses (Figura 1 y 2, respectivamente), e indica que la probabilidad de pubertad a menor edad en las vaquillas, se incrementa cuando éstas reciben SA; lo anterior refleja que la SA tiene un efecto positivo en la disminución de la edad al primer estro, vinculado con mejores ganancias de peso en los animales que la reciben.

Aunque la información sobre la edad y peso a la pubertad en el RO es limitada, se ha reportado que manejada en condiciones de pastoreo, esta raza alcanza la pubertad a una edad más temprana y con menor peso, comparada con otras razas *Bos taurus* y *Bos indicus* (De Alba, 2011). Lo anterior es reflejado igualmente por los trabajos realizados por Vite *et al.* (2007) y Maquivar y Galina (2010) en animales *Bos taurus*, *Bos indicus* y *Bos taurus* x *Bos indicus* en condiciones tropicales, en los cuales se reportaron edades y pesos a la pubertad de 22 a 36 meses y 350 a 370 Kg, respectivamente. Estos datos, al compararlos con los resultados obtenidos en este experimento, muestran que el RO es una raza precoz.

Cuadro 5. Edad al primer estro en hembras Romosinuano distribuidas por grupo de tratamiento.

Tratamiento	Edad (meses)		
	8	10	Totales
Con suplementación	$17,1 \pm 0,5^a$	$17,0 \pm 0,7^a$	$17,0 \pm 0,6^a$
Sin suplementación	$20,2 \pm 0,3^b$	$19,8 \pm 1,0^b$	$20,0 \pm 0,5^b$
Totales	$18,6 \pm 0,7$	$18,4 \pm 0,5$	$18,5 \pm 0,6$

^{a,b}Diferente literal por columna por grupo de edad indica diferencia estadística ($P < 0,05$).

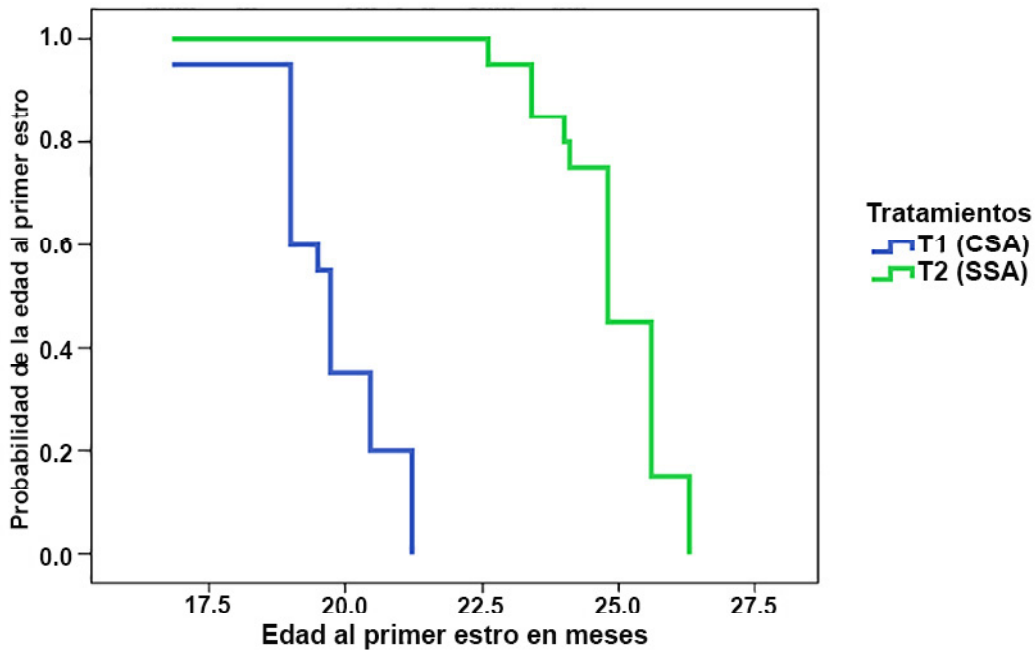


Figura 1. Probabilidad de edad para la presentación del primer estro en hembra Romosinuano de 8 meses según tratamiento

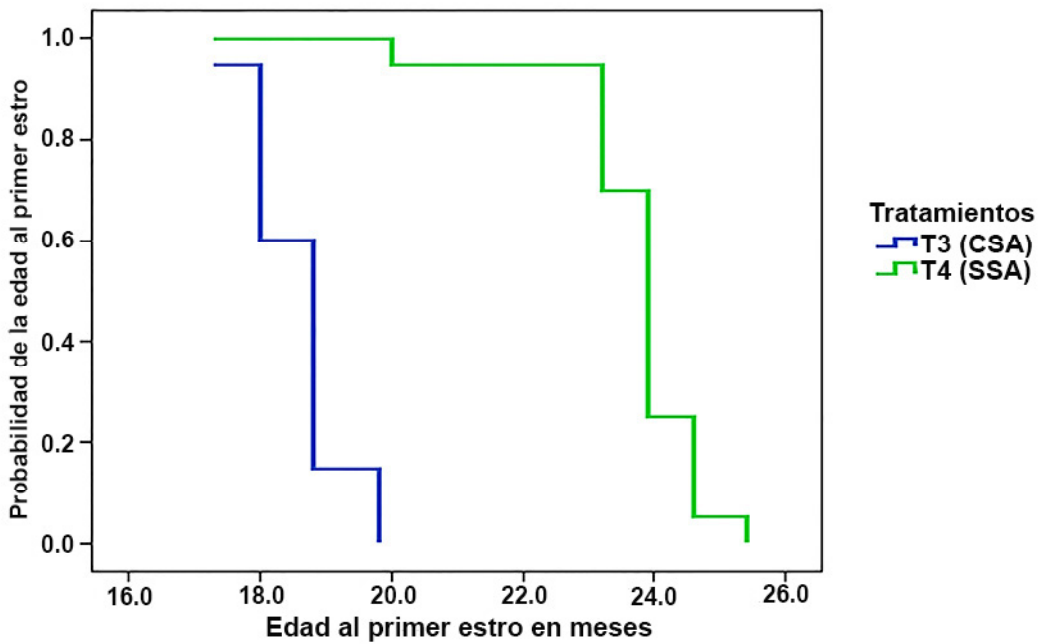


Figura 2. Probabilidad de edad para la presentación del primer estro en hembra Romosinuano de 10 meses según tratamiento

CONCLUSIONES

La suplementación alimenticia promueve el incremento del número de folículos y de la concentración de P_4 en sangre en becerras de 10 meses, así también, disminuye la edad al primer estro detectado e incrementa las ganancias de peso en hembras bovinas Romosinuano de 8 y 10 meses de edad. Es necesario que los animales posean un peso mínimo (55 a 60% de su peso adulto) para alcanzar la pubertad. La suplementación alimenticia reduce la edad al primer estro independientemente de la edad de las vaquillas al inicio del estudio (8 ó 10 meses), por lo cual, se recomienda suplementar a vaquillas de 10 meses de edad, dado que el lapso de suplementación alimenticia es menor comparado a las de 8 meses.

LITERATURA CITADA

- Bodas, R., O. López-Campos, y A. Mantecón. 2009. Recría de terneras Parda de Montaña: alimentación y desarrollo productivo. *Archivos de Zoot.*, 58:309-312.
- Day, M., and D. Grum. 2005. Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in beef herds. *Veterinary Clinics of North America: Food. Anim. Pract.*, 21:367-381.
- De Alba, J. 2011. Los Criollos Lecheros Tropicales. *In: El Libro de los Bovinos Criollos de América*, J. de Alba Martínez. Biblioteca Básica de Agricultura (Colegio de Postgraduados), Ediciones Papiro Omega S.A. de C.V. pp. 93-217.
- Diskin, M., D. Kenny. 2016. Managing there productive performance of beef cows. *Theriogenology.*, 86:379-387.
- Evans, A., and N. Rawlings. 2010. Fisiología de la pubertad de terneros y terneras. *Taurus, Bs. As.*, 12: 11-23. Disponible en línea: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria/130_fisiologia_pubertad.pdf [18 sep. 2012].
- Faure, R., y C. Morales. 2003. La pubertad de la hembra bovina: I. Aspectos fisiológicos. *Revista Salud Anim.*, 25:13-19.
- García, E. 1981. Ubicación geográfica, clima y precipitación. *In: Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen*. 3ª Ed. Instituto de Geografía, UNAM, México, D.F. pp. 143-201.
- Gasser C., E. Behlke, D. Grum, and M. Day. 2006a. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *Journal Anim. Sci.*, 84:3118-3122.
- Gasser, C., C. Burke, M. Mussard, E. Behlke, D. Grum, and J. Kinder. 2006b. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. *Journal Anim. Sci.*, 84:2042-2049.
- Gasser, C., G. Bridges, M. Mussard, D. Grum, J. Kinder and M. Day. 2006c. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. *Journal Anim. Sci.*, 84:2035-2041.
- Ginther, O., J. Kastelic, and L. Knopf. 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Animal Reprod. Sci.*, 20:187-200.
- González, C., M. Rodríguez, J. Goicochea, N. Madrid, y D. González. 2006. Crecimiento pre-destete en hembras bovinas doble propósito. *Revista Científica. FCV-LUZ.*, 16:288-296.
- González-Stagnaro, C. y J. de la Fuente-Martínez. 2012. Pubertad en novillas de la raza Española Avileña-Negra Ibérica. *Revista Científica.*, FCV-LUZ 22:17-23.
- Lents, C., D. Randel, A. Stelzleni, C. Caldwell and T. Welsh. 2011. Function of the corpus luteum in beef heifers is affected by acute sub maintenance feeding but is not correlated with residual feed intake. *Journal Anim. Sci.*, 89:4023-4031.
- Maquivar, M., and S. Galina. 2010. Factors Affecting the readiness and preparation of replacement heifers in tropical breeding environments. *Reproduction Dom. Anim.*, 45: 937-942.
- Maquivar, G., S. Galina, R. Galindo, S. Estrada, R. Molina, and D. Mendoza. 2010. Effect of protein supplementation on reproductive and productive performance in *Bos inndicus*

- x *Bos taurus* heifers raised in the humid tropics of Costa Rica. *Tropical Anim. Health Product.*, 42:555-560.
- Mejía-Bautista, G., J. Magaña, J. Segura-Correa, R. Delgado, R. Estrada-León. 2010. Comportamiento reproductivo y productivo de vacas *Bos indicus*, *Bos taurus* y sus cruces en un sistema de producción vaca: cría en Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 12:289-301.
- Patterson, J., C. Perry, H. Kiracofe, A. Belows, B. Staigmiller, and R. Corah. 1992. Management considerations in heifer development and puberty. *Journal Anim. Sci.*, 70:4018-35.
- Perry, A. 2012. Physiology and endocrinology symposium: Harnessing basic knowledge of factors controlling puberty to improve synchronization of estrus and fertility in heifers. *Journal Anim. Sci.*, 90:1172-1182.
- Peter, T., P. Vos, and J. Ambrose. 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*. 71:1333-1342.
- Romano, A., H. Barnabe, P. Kastelic, A. De Oliveira, and M. Romano. 2007. Follicular dynamics in heifers during pre-pubertal and pubertal period kept under two levels of dietary energy intake. *Reproduction Dom. Anim.*, 42:616-622.
- Sargentini, C., R. Bozzi, P. Diaz, A. Giorgetti, A. Martini, and P. Lupi. 2007. Onset of puberty in Maremmanaheifers. *Journal Anim. Sci.*, 6:385-394.
- Sepúlveda, N. y E. Rodero. 2003. Comportamiento sexual durante el estro en vacas lecheras. *Interciencia.*, 28(9): 500-503.
- Vite, C., R. López, J. García, R. Ramírez, A. Ruíz, y R. López. 2007. Producción de leche y comportamiento reproductivo de vacas de doble propósito que consumen forrajes tropicales y concentrados. *Veterinaria Méx.*, 38: 63-79.

Influencia de la época y densidad de siembra sobre la calidad nutricional de genotipos de maíz en la Región Costa del Ecuador

Influence of period and planting density on the nutritional quality of corn genotypes in Cost Region Ecuador

Carlos A. Molina Hidrovo^{1*}, Álvaro G. Cañadas López², Diana Y. Rade Loor y José L. Zambrano Mendoza⁴

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Estación Experimental Tropical Pichilingue. Ecuador. ²Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM). Extensión Chone. Ecuador. ³Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí del Centro de Investigación de las Carreras de la ESPAM-MFL (CICEM). Ecuador. ⁴Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Ecuador. *Correo electrónico: carlos.molina@iniap.gob.ec

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar el efecto de dos épocas y dos densidades de siembra sobre el valor alimenticio de diferentes genotipos de maíz, se realizó un experimento con un diseño de bloques al azar, con tres repeticiones y un arreglo de tratamiento de parcelas dos veces divididas. Cada parcela principal represento una época de siembra, las densidades de siembra (62500 y 125000 plantas/ha) se ubicaron en las subparcelas y ocho genotipos de maíz dispuestos en las sub-subparcelas. Las variables evaluadas fueron fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente acida (FDA), digestibilidad *in vitro* (DIV) y proteína cruda (PC). No se observaron efectos de la época y densidad de siembra sobre el contenido de FDN y FDA en los ocho genotipos de maíz, DIV se vio afectada por la época de siembra y la interacción época por densidad de siembra. El contenido de PC fue influenciado por la época de siembra y por el genotipo de maíz. Los resultados obtenidos de FDN (60,53±6,7), FDA (36,54±3,87), DIV (58,68±6,43) y PC (10,62±1,12) en los ocho genotipos evaluados, permite considerarlos como forrajes de calidad regular, lo que constituye una oportunidad para el mejoramiento genético de estos materiales por parte del INIAP, con la finalidad de desarrollar maíces forrajeros (*Zea mays* L.).

Palabras Clave: Calidad de forraje, genotipos de maíz, proteína cruda, producción de forraje.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of two intensities rainy seasons and two planting densities on the nutritional quality of eight corn hybrids produced by INAP, a research process was conducted in 2013. It was applied a split - split plot design with three replications and averages were compared by Tukey's range tests. It was evaluated two planting seasons (28 January and 8 April) that were placed in large plots. Two planting densities (62500 y 125000 plants/ha) were located in the subplots and eight INIAP corn genotypes arranged in the sub-subplot. The evaluated variables were Neutral Fiber Detergent (NFD), Acid Fiber Detergent (AFD), *In vitro* digestibility (IVD) and Crude Protein (CP), obtaining the following results: The Neutral Fiber Detergent and Acid Fiber Detergent of eight hybrids were not influenced by the seasons and planting density, while IVD was affected by planting seasons and their interaction planting densities. CP was influenced by planting seasons and PC genetic content of eight INIAP maize genotypes. The NFD (60.53±6.7), AFD (36.54±3.87), IVD (58.68±6.43) y PC (10.62±1.12) showed homogeneous levels of the eight INIAP corn genotypes. They could be considered as a regular quality forage and an INIAP field of work for genetic improvement of these materials in order to find better maize forage (*Zea mays* L.).

Key words: Forage quality, corn genotypes, crude protein, forage production.

INTRODUCCIÓN

El Ecuador cuenta con una población aproximada de 4,5 millones de bovinos para la producción de leche y carne, según último Censo Agropecuario Nacional (Cornejo y Wilkie 2010), distribuidos en todo el territorio nacional; el 51% en la Región Interandina, 37% en el Litoral o costa y el 12% en la Amazonía. Esta población ganadera se encuentra asentada en una superficie de 3,35 millones de hectáreas de pastos cultivados y 1,12 millones de hectáreas de pastos naturales (Cornejo y Wilkie, 2010). Del total de las existencias; el 55% pertenecen a la raza criolla, 43% mestizos; una mínima proporción corresponde a razas puras para las líneas de carne, leche y doble propósito; siendo el número de unidades de producción alrededor de 427 mil, que de una u otra manera se dedican a esta actividad (Cornejo y Wilkie, 2010).

La mayor parte de la ganadería de la costa ecuatoriana se desarrolla en zonas carentes o escasas de lluvia, lo cual resulta en déficit de la oferta de alimento para el ganado durante el verano; esto promueve pérdidas de carácter económico y productivo como son: ausencia o disminución en la presentación de estros, pérdida de peso, disminución del crecimiento de los animales jóvenes, nacimiento de crías débiles e índices elevados de enfermedades y muertes (Cañadas y Siegmund-Schultze, 2004, García *et al.*, 2011, Cañadas *et al.*, 2015).

El ensilaje de maíz puede ser utilizado para la alimentación del ganado en épocas de disminución de la oferta forrajera y ha sido empleado extensamente para vacas lecheras lactantes que requieren alimentos ricos en energía con la finalidad de maximizar la producción de leche. Constituye un alimento con importantes características por su alta producción de forraje, niveles de proteínas y minerales (Arzate-Vázquez *et al.*, 2016).

La producción de forraje de maíz de alto valor energético requiere el suministro adecuado de agua en el momento del llenado del grano (Marsalis *et al.*, 2010). Sin embargo, recientes incrementos en la producción de maíz han sido atribuidos al desarrollo de modernos híbridos con mayor tolerancia al estrés. Por otra parte, se presume que su capacidad de prosperar bajo una alta densidad de siembra, se debe a

la mayor eficiencia de la captura y uso de los recursos tales como agua, luz solar y nutrientes (Raymond *et al.*, 2009).

Entre las gramíneas, es el mayor cultivo en la generalidad de países en desarrollo y ha sido empleado como un cultivo de rotación para mantener o incrementar el carbón orgánico del suelo; no obstante, se utiliza una extensa diversidad de variedades e híbridos de maíz que exhiben amplias diferencias en su potencial de producción (Dos Santos *et al.*, 2012).

La integración de aspectos agronómicos y calidad nutritiva permite una selección de materiales de maíz que puede ofrecer los mejores resultados (Marsalis *et al.*, 2010). En este sentido, la selección de genotipos, en relación a la época de producción y densidad de siembra son puntos importantes que deben ser considerados en la producción exitosa de forraje en la ganadería de doble propósito en la región costa del Ecuador. Se han realizado diferentes ensayos para determinar la densidad de siembra y épocas de siembra óptimas de los materiales para producción de grano, desarrollados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP; Cañadas *et al.*, 2015). Sin embargo, estas variables no han sido evaluadas para determinar su efecto sobre la calidad nutritiva de los genotipos desarrollados con fines de producción forrajera, por el mismo instituto. De tal manera que la presente investigación tiene como objetivo evaluar la influencia de dos épocas y dos densidades de siembra, sobre el valor nutritivo de ocho genotipos de maíz forrajero, producidos por el INIAP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del área de estudio

La investigación se realizó en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP), localizada en la parte Oeste de la cordillera de Los Andes, en la región costa ecuatoriana, a una altura de 75 m.s.n.m, y coordenadas geográficas 79° 21'W y 1° 06'S. Presenta una temperatura promedio anual de 24 °C, heliofanía de 898,2 horas luz/año y precipitación de tipo uni-modal, con un total de 2000 mm/año, cuya distribución es representada en la Figura 1. Los valores de evapotranspiración para el año

de estudio, fueron predichos de acuerdo al modelo desarrollado por Cañadas *et al.* (2013), aplicado para determinar el balance hídrico en el área de investigación y el cual se describe a continuación:

$$PET=20,57*Es*(1-HR/100)$$

Dónde: PET = Evapotranspiración (mm/mes)

Es = Presión de saturación de vapor (m bar)

HR = Humedad relativa

Los valores de evapotranspiración mensual (Línea punteada roja) son representados en confrontación con la precipitación promedio anual en la Figura 1. Estos dos parámetros determinaron el balance hídrico en la estación Pichilingue; los meses con un mayor déficit en la disponibilidad de agua fueron junio, julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre. Así mismo, el área de investigación se encuentra ubicada en la formación ecológica de Bosque Húmedo Tropical (Cañadas, 1983).

Manejo del experimento

Se utilizó un terreno en barbecho y la preparación del suelo del área experimental consistió en rastreo cruzado, nivelación y trazo de surcos. En el último pase de rastra se aplicó superfosfato triple (100 kg/ha) y muriato de potasio (100 kg/ha), al voleo. A los 15 días de la siembra se incorporó nitrógeno, equivalente a 200 kg de urea/ha y 30 días después de ésta aplicación, se efectuó otra de 150 kg de urea/ha. Se definieron dos momentos de siembra, época 1 (inicio de la época de lluvia, el 28 de enero del 2013), época 2 (declive de la precipitación, 8 de abril del 2013). Así mismo, se utilizaron dos densidades de siembra, densidad 1, en la que se mantuvieron 20 cm entre plantas y 80 cm entre surcos (62500 plantas/ha); densidad 2, fueron 20 cm entre plantas y 40 cm entre surcos (125000 plantas/ha). Se utilizaron los siguientes materiales genéticos desarrollados por INIAP: INIAP-6016, INIAP-6017, INIAP-6020, INIAP-6021, INIAP-H-553, INIAP-CML-172, INIAP-H-551, INIAP H-601.

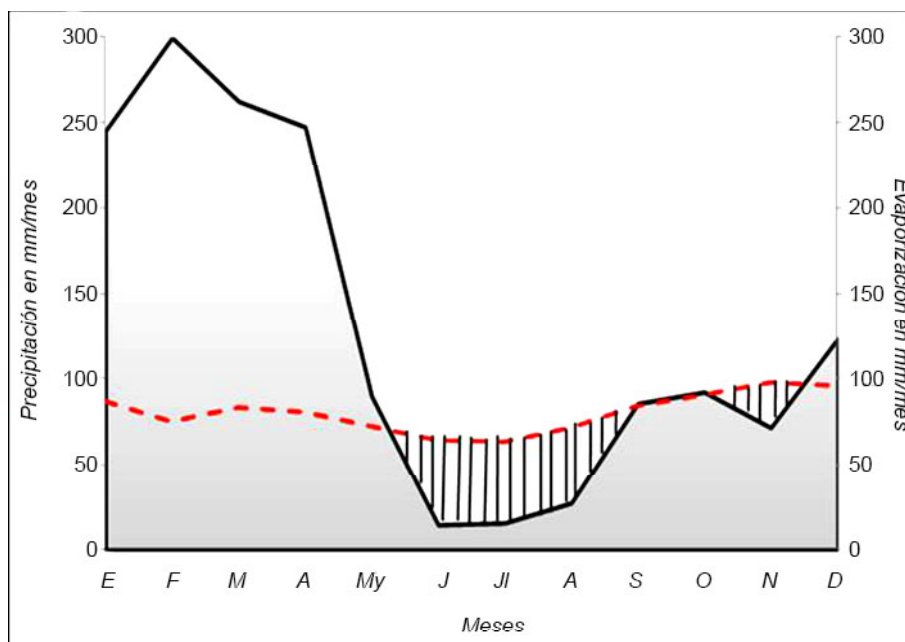


Figura 1. Distribución mensual de la precipitación en concordancia con el modelo de potencial de evapotranspiración (Línea roja). La zona lineada representa los meses ecológicamente secos estación meteorológica Pichilingue.

La cosecha del forraje se realizó a los 70 días para cada una de las épocas de siembra. Se cortó el maíz a 5 cm del nivel del suelo, para picarlas posteriormente. Del forraje fresco de cada parcela se tomaron muestras de 1000 gramos y colocadas en fundas de papel por unidad experimental identificando el tratamiento respectivo. Las muestras se secaron para establecer los siguientes parámetros: fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), digestibilidad *in vitro* (DIV) y proteína cruda (PC).

FDN y FDA se determinaron de acuerdo al método propuesto por Goering y Van Soest (1970), para DIV se siguió el procedimiento de Jung *et al.* (2004) y la PC fue evaluada de acuerdo a AOAC (2000).

Diseño estadístico aplicado

Se utilizó un diseño de bloques al azar, con tres repeticiones y un arreglo de tratamientos de parcela dos veces dividida. El modelo estadístico aplicado se resume a continuación:

$$X_{ijkl} = \mu + ai + \beta j + E(a) + \delta ki + (a\delta)ik + E(b) + \Omega l + (a\Omega)il + (\delta\Omega)kl + (a\delta\Omega)ikl + E(c)$$

Dónde: *i* = ... a Dos épocas de siembra (Parcelas Principales PP)

j = ... b Dos densidades de siembra (Sub Parcelas SP)

k = ... c Ocho genotipos de maíz (Sub-sub Parcelas SSP)

l = ... r Tres repeticiones

Al comprobarse la existencia de diferencias estadísticamente significativas, se aplicó la prueba de Tukey al 5% para la comparación múltiple de medias. El análisis de varianza se realizó empleando el programa SAS (SAS, 2010). Cada tratamiento estuvo dispuesto en parcelas de 100 m² y la superficie total experimental fue de 3600 m². En la Figura 2 se observa una representación gráfica de la disposición del experimento en el campo.

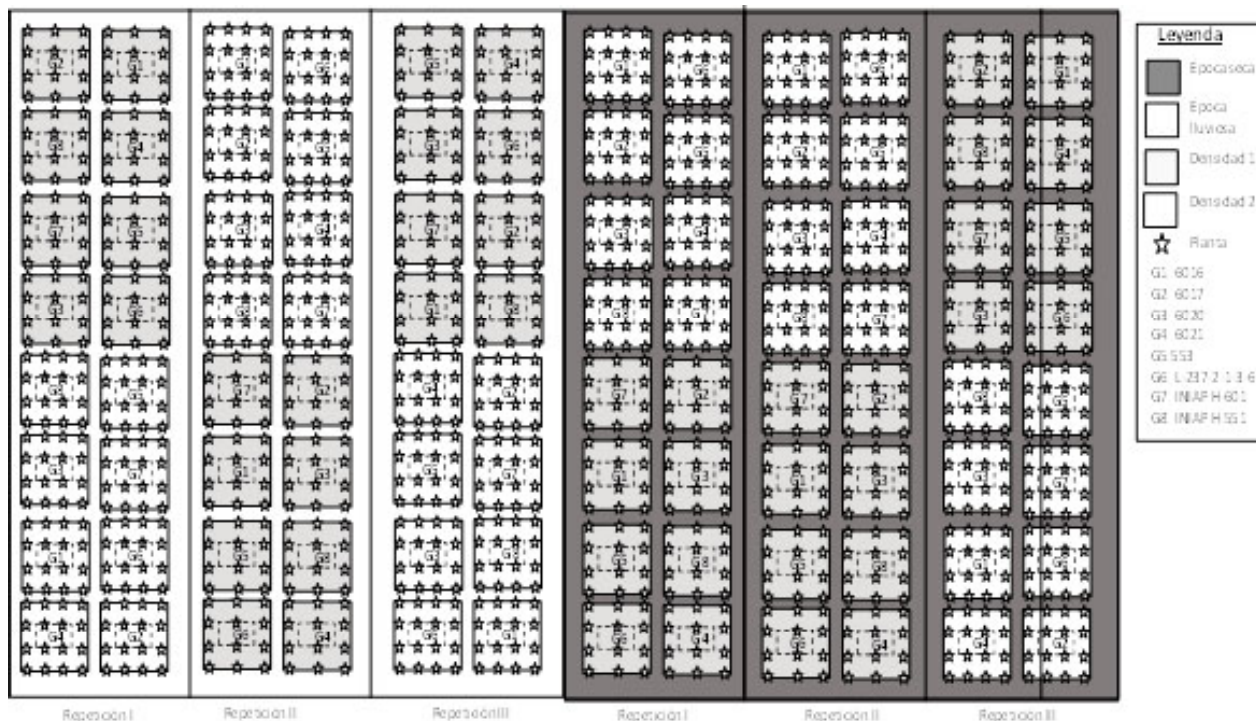


Figura 2. Representación gráfica de la disposición del experimento en el campo, Estación Experimental Tropical Pichlingue.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fibra Detergente Neutra

Los resultados del análisis de varianza muestran que el contenido de FDN de los materiales no fue afectado ($P>0,05$) por la época y densidad de siembra, genotipo de maíz ni sus interacciones (Cuadro 1). Los coeficientes de variación expresados en porcentaje fueron de 3,31% para la PP, 4,18% para la SP y 5,17% para la SSP, los cuales se consideran adecuados para investigaciones de campo. El contenido de FDN representa la parte fibrosa de un forraje y constituye la combinación de hemicelulosa, celulosa y lignina. De ahí que, a medida que aumenta el porcentaje de FDN, la ingestión de materia seca disminuye.

Los resultados de FDN obtenidos en la presente investigación no coinciden con lo reportado por Lauer *et al.* (1999), quienes describieron que la interacción entre híbridos de maíz con épocas y densidades de siembra, promovió diferencias en el contenido de FDN. A pesar de que la época

de siembra no influenció el contenido de FDN de los materiales, Gallegos *et al.* (2012) describieron que la disminución del aporte de agua en estos cultivos, no permite la obtención de un forraje de alta calidad. Por otra parte, Ramírez *et al.* (2006) reportaron que plantaciones bajo riego gravitacional, obtuvieron los valores más altos de FDN en el forraje de maíz, en comparación con aquellas que recibieron riego por goteo.

En cuanto al efecto de la densidad de siembra sobre el contenido de FDN, los resultados obtenidos en ésta investigación coinciden con lo reportado por González *et al.* (2006), quienes no observaron diferencias estadísticas en el contenido de FDN entre diferentes densidades de siembra (60, 80 y 100 mil plantas por hectárea). No obstante, el desarrollo y madurez de los maíces forrajeros no solo tiene influencia sobre la producción de materia seca, sino también que influyen en el contenido de FDN (Cañadas *et al.*, 2015). En los maíces forrajeros, la lignina se considera como un componente anti-cualitativo por su impacto negativo sobre la

Cuadro 1. Significancia de cuadrados medios para las variables estudiadas en genotipos de maíz INIAP, bajo dos épocas y dos densidades de siembra, Estación Experimental Tropical Pichilingue.

FV	GL	FDN	FDA	DIV	PC
Repeticios	2	22,62	1540,51	3,08	0,07
Época (E)	1	55,51 ^{ns}	1176,01 ^{ns}	43,36*	8,76**
Error Tipo	2	25,29	1426,34	2,17	0,32
Densidad (D)	1	44,01 ^{ns}	1472,67 ^{ns}	3,18 ^{ns}	0,84 ^{ns}
E x D	1	21,09 ^{ns}	1419,67 ^{ns}	0,06**	0,01 ^{ns}
Error Tipo B	4	18,89	1244,39	4,04	0,437
Genotipos de Maíz (G)	7	60,90 ^{ns}	1374,40 ^{ns}	5,62 ^{ns}	12,84***
E x G	7	28,74 ^{ns}	1313,90 ^{ns}	5,11 ^{ns}	0,07 ^{ns}
D x G	7	50,10 ^{ns}	1186,10 ^{ns}	3,13 ^{ns}	0,82 ^{ns}
E x D x G	7	32,42 ^{ns}	1227,67 ^{ns}	5,59 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Erro Tipo C	56	37,86	1340,76	5,93	0,23
Total	96				

^{ns} No significativo, *probabilidad 0,05, **probabilidad 0,01, ***probabilidad 0,001.

FDN fibra detergente neutra, FDA fibra detergente acida, DIV digestibilidad *in vitro*, PC proteína cruda.

disponibilidad nutricional de la FDN (Hetta *et al.*, 2012). La alta heredabilidad y avance genético observados para los rasgos FDN, FDA y DIV, los hacen altamente confiables para la selección de líneas superiores de maíz. Estos atributos son prometedores para el proceso de mejoramiento genético de maíz con un doble propósito, producción de grano y forraje (Zaidi *et al.*, 2013).

El contenido de FDN de los materiales de maíz desarrollados por el INIAP se encontró ubicado en un rango entre 63,42 a 56,08%, con un promedio general de 60,53% ($\pm 3,87$). El genotipo con menor porcentaje de FDN fue INIAP CML-172 con 56,08 %, seguido de INIAP-H-551 e INIAP-6020 con 59,17% y 59,18% respectivamente (Cuadro 2). Estos porcentajes son menores a los obtenidos por Gallegos *et al.* (2012) para los genotipos de maíz forrajero RS-9022, San Lorenzo y AS-905 cuyos valores fueron 67,79%, 67,10% y 65,90% respectivamente. Por otra parte, los porcentajes de FDN obtenidos en el presente estudio, se encuentran por debajo de los observados por Arzate-Vázquez *et al.* (2016) para los pastos *Andropogon sp.*, *Urochloa sp.* y *Megathyrsus maximun* (70,68%, 70,49% y 71,50%), existentes en el área de influencia de esta investigación.

Fibra Detergente Ácida

No se evidenciaron efectos ($P>0,05$) de la época y densidad de siembra, de los genotipos ni sus respectivas interacciones, sobre la variable FDA (Cuadro 1). Se registraron coeficientes de variación para la PP de 2,15%, para la SP de 3,08% y de 4,32% para la SSP, considerados adecuados para un estudio de campo.

Las condiciones de disponibilidad de agua no ejercieron ninguna influencia sobre el contenido de FDA, a pesar de que la siembra realizada en enero se efectuó bajo condiciones de superávit hídrico, mientras que la realizada en abril se ejecutó bajo condiciones de déficit de agua, que abarcó un 52% de los días que comprenden el ciclo de producción forrajero del maíz (Figura 1). Estos resultados no coinciden con los encontrados por Van Soest *et al.* (1991) quienes demostraron que los efectos ambientales modificaron la proporción de FDA, en híbridos de maíz para forraje debido a que estos valores fueron menores en épocas húmedas y frescas. Igualmente, Ramírez *et al.* (2006) reportan una significación estadística ($P<0,05$) para el porcentaje de FDA, frente a diferentes sistemas de riego en comparación con el testigo.

Cuadro 2. Comparación de medias para las variables estudiadas en genotipos de maíz INIAP, bajo dos épocas y dos densidades de siembra, Estación Experimental Tropical Pichilingue.

Genotipos de Maíz	FDN (%)	FDA (%)	DIV (%)	PC (%)
INIAP H-601	63,42 ^{ns}	37,58 ^{ns}	58,83 ^{ns}	9,25 ^d
INIAP-602	62,00 ^{ns}	36,83 ^{ns}	57,25 ^{ns}	11,42 ^a
INIAP-6016	61,75 ^{ns}	38,08 ^{ns}	58,08 ^{ns}	10,08 ^c
INIAP-6017	61,67 ^{ns}	36,67 ^{ns}	57,83 ^{ns}	8,67 ^e
INIAP-H-553	60,42 ^{ns}	37,17 ^{ns}	58,58 ^{ns}	10,33 ^b
INIAP-6020	59,18 ^{ns}	35,92 ^{ns}	59,29 ^{ns}	9,50 ^c
INIAP-H-551	59,17 ^{ns}	33,75 ^{ns}	59,00 ^{ns}	10,50 ^b
INIAP-CML-172	56,08 ^{ns}	36,33 ^{ns}	58,82 ^{ns}	11,67 ^a
Promedio	60,53	36,54	58,59	10,62

Súper índices diferentes dentro de cada columna ($P<0,05$).

FDN fibra detergente neutra, FDA fibra detergente acida, DIV digestibilidad *in vitro*, PC proteína cruda.

La densidad de siembra no tuvo efecto sobre los niveles de FDA ($P > 0,05$). Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Reta *et al.* (2000) quienes concluyen que la calidad del forraje del maíz no es influenciado por el método o densidad de siembra.

Los contenidos de FDA obtenidos en los genotipos evaluados, se ubicaron en un rango entre 37,17 a 33,75%, con un promedio general de 36,54% ($\pm 3,87$). Los contenidos más bajos se evidenciaron en INIAP-H-551 seguido de INIAP-6020 e INIAP CML-172, con 33,75%, 35,92% y 36,33% respectivamente (Cuadro 2). Estos valores son inferiores a los descritos por Gallegos *et al.* (2012), quienes describieron contenidos de 38,26%, 38,24% y 37,57% para los genotipos RS-9022, San Lorenzo y AS-905 respectivamente, a una edad de cosecha de 112 días, cuando los granos presentaban un tercio de madurez (estado lechoso 74% de humedad). Así mismo, los valores obtenidos en la presente investigación, fueron menores a los obtenidos por Arzate-Vázquez *et al.* (2016), para los pastos *Andropogon sp.*, *Urochloa sp.* y *Megathyrsus maximun* (42,63%, 42,38% y 44,04%), los cuales se desarrollan en el área de influencia de la EETP.

Digestibilidad *in vitro*

La época de siembra tuvo efecto sobre la DIV ($P < 0,05$); la digestibilidad *in vitro* fue mayor (59,14%) durante la época 1, periodo con mayor precipitación, comparada a la obtenida durante la época 2, de menor precipitación (57,79%; Cuadro 1). Los coeficientes de variación para DIV fueron de 2,50% para la PP, de 3,44% para la SP y 4,17% para la SSP, adecuados para las investigaciones de campo.

Durante la época 1, se registraron 600 mm durante el ciclo de cultivo (70 días), mientras que en la época 2 hubo un total de 330 mm durante los 70 días del cultivo, de los cuales 37 días registraron un déficit hídrico (Figura 1). Esta relación entre disponibilidad de agua y DIV es descrita por Ramírez *et al.* (2006), en un estudio que evaluó el efecto del riego superficial sobre la calidad forrajera del maíz. Esta investigación detectó diferencias en el porcentaje de DIV, de acuerdo a diferentes tipos de riego.

Igualmente se observó una interacción de alta significancia ($P < 0,01$) entre la época 1 y la densidad de siembra 2 (125000 plantas/ha), hallazgo que coincide con lo reportado por Marsalis *et al.* (2010). No obstante, éste resultado demostraría la necesidad de riego para las épocas de poca disponibilidad de agua, lo cual elevaría los costos del cultivo. Esto último debe ser objeto de análisis ya que para asegurar la sostenibilidad del uso de maíz forrajero para alimentación animal, es necesario la reducción de los costos.

Los resultados obtenidos están en contra posición con los reportados por Widdicombe y Thelen (2002) quienes sostienen que el incremento de la competencia entre plantas, reduce la digestibilidad del forraje de maíz. No obstante, estos estudios fueron conducidos en climas templados y otras latitudes. Por otra parte, los genotipos desarrollados por el INIAP no mostraron diferencias ($P > 0,05$) en la DIV. De acuerdo a Frey *et al.* (2004), la digestibilidad de tallos y hojas de maíz está directamente relacionada con el genotipo. Así, la variación de esta característica podría ubicarse entre 26,2 a 65,0% para tallos de híbridos forrajeros, mientras que para hojas, entre 58,0 a 67,6%. Por tal motivo, estos investigadores sugieren trabajar en el mejoramiento de esta característica, a fin de incrementar el nivel nutricional de los maíces forrajeros.

El promedio general de DIV para los materiales de INIAP fue 58,59% $\pm 6,43$, el cual se puede considerar un valor relativamente bajo. La DIV descrita por Gallegos *et al.* (2012) para los materiales RS-9022, San Lorenzo y AS-905 se ubica en 63,79%, 64,81% y 63,65%, respectivamente, los cuales se pueden considerar superiores a los observados en esta investigación.

Proteína Cruda (PC)

El contenido de proteína cruda (PC) se vio afectado por la época de siembra ($P < 0,01$) y genotipos de maíz ($P < 0,001$), lo que demuestra la heterogeneidad de estos materiales (Cuadro 1). El mayor contenido se observó durante la época 1 (10,92%), comparada a la época 2 (9,87%). Los coeficientes de variación para PC fueron de 3,58% en la PP, de 3,67% para la SP

y de 4,70% para la SSP, valores adecuados para una investigación de campo.

Estos resultados son comparables con los obtenidos por Marsalis *et al.* (2010), Gallegos *et al.* (2012) y Cañadas *et al.* (2015), quienes reportaron que el contenido de PC de diferentes materiales de maíz, se ve afectado por disminución del volumen de agua para riego.

En cuanto a los genotipos de maíz utilizados, los resultados muestran diferencias en el porcentaje de PC entre los materiales de INIAP investigados ($P < 0,001$; Cuadro 2). El promedio general fue de 10,62% y la prueba de comparación múltiple de medias (Tukey 5%) permitió establecer las diferencias entre los genotipos. Se evidenció la formación de cinco rangos; en el primero se ubicaron INIAP-CML-172 e INIAP-6021, con porcentajes de 11,67% y 11,42% respectivamente. En el segundo, se situaron INIAP-H-551 e INIAP-H-553, con porcentajes de 10,50% y 10,33%, en el tercero se colocó INIAP-6016 con 10,08%. En el cuarto y quinto rango, se ubicaron los materiales con menores contenidos de PC.

A excepción de INIAP-6017, los contenidos de PC encontrados en la presente investigación, son superiores a los reportados por Gallegos *et al.* (2012), en el Municipio Gómez Palacios, México, para los materiales forrajeros San Lorenzo, AS-905 y RS-9022 (9,04%, 9,00% y 8,57% respectivamente). Los valores de PC obtenidos se pueden considerar altos al compararlos con los porcentajes de PC reportados en pastos por Arzate-Vázquez *et al.* (2016), para *Andropogon* sp., *Urochloa* sp. y *Megaphysus maximun* (5,58%, 5,47% y 6,05% respectivamente).

CONCLUSIONES

El contenido de FDN y FDA de los genotipos estudiados, no fue influenciado por la época y densidad de siembra, mientras que la DIV fue afectada por la época de siembra y por la interacción época por densidad de siembra. Por otra parte, la época de siembra y las características propias de cada genotipo, ejercieron efecto sobre el contenido de PC de los materiales. Los mayores contenidos de PC, se encontraron en los INIAP-CML-172, INIAP-H-551 e INIAP-6021, por lo que se

pueden considerar como materiales con mejor calidad nutritiva.

LITERATURA CITADA

- AOAC (Association of Analytical Communities). 2000. Official Methods of the AOAC International. AOAC. International, Gaithersbur, MD. 13th ed.
- Arzate-Vázquez, G., F. Castrejón-Pineda, R. Martínez, S. Carrillo-Pita, S. Ángeles-Campos and E. Vargas-Bello-Pérez. 2016. Effect of genus and growth stage on the chemical and mineral composition of tropical grasses used to feed dairy cows. *Cien. Inv. Agr.*, 43(3):476-485.
- Cañadas, L. 1983. El mapa bioclimático y ecológico del Ecuador". Editores Asociados. Quito, Ecuador. 210 p.
- Cañadas, A., C. Molina, D. Rade y F. Fernández. 2015. Interacción época/densidad de siembra sobre la producción de ocho híbridos de maíz forrajeros, Ecuador. *MVZ Córdoba.*, 21(1): 5112-5123.
- Cañadas, A., D. Rade, C. Zambrano, C. Molina y L. Arce. 2013. Evaluación y manejo de fuentes semilleras de Teca en la Estación Experimental Tropical Pichilingue-Ecuador. *A.C.I.*, 5 (1):64-75.
- Cañadas, A. and M. Siegmund-Schultze. 2004. Potential legumes to improve livestock production and biodiversity in the traditional Silvopastoral System in Canton Loreto, Ecuador. En: L.T. Mannelje *et al.* (Eds.). The importance of Silvopastoral systems in rural livelihoods to provide ecosystems services. Third International Symposium on Silvopastoral Systems. IUFRO, Mérida, Yucatan, México, pp. 221-226.
- Cornejo, C. and A. Wilkie. 2010. Greenhouse gas emissions and biogas potential from livestock in Ecuador. *Energy Sustain. Dev.*, 14:256-266.
- Dos Santos, N., S. Prior, J. Gabardo, C. Valaski, A. Motta and A. Ferreira. 2012. Influence of Corn (*Zea mays* L.) Cultivar Development on Residue Production. *J. Plant Nutr.*, 35:750-769.

- Frey, T., J. Coors, R. Shaver, J. Lauer, D. Eilert and P. Flannery. 2004. Selection for Silage Quality in the Wisconsin Quality Synthetic and Related Maize Populations. *Crop Sci.*, 44:1200-1208.
- Gallegos, A., A. Martínez, M. Sánchez, R. Figueroa, S. Berumen, J. Vengegas, J. Quevedo, D. Escobedo y M. Silos. 2012. Calidad nutricional del maíz forrajero (*Zea mays* L.) bajo condiciones limitadas de agua de riego. *Agrofaz.*, 12 (1):59-66.
- García, D., M. Medina, D. Perdomo, P. Moratinos, L. Cova y M. Soca. 2011. Efecto de algunos factores que influyen en el rendimiento de proteína bruta de la Morera (*Morus alba* L.) en el estado de Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical.*, 29(4):411-420.
- Goering, H. and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents procedures a some applications) USDA-ARS. *Agri. Hand Book* No 179.
- González, F., A. Peña, G. Núñez y Jiménez C. 2006. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad de forraje de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.*, 28(4):393-397.
- Hetta, M., Z. Mussadiq, A. Gustavsson and C. Swensson C. 2012. Effects of hybrid and maturity on performance and nutritive characteristics of forage maize at high latitudes, estimated using the gas production technique. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 71:20-30.
- Jung, H., M. Reath-Knight and J. Linn. 2004. Forage fiber digestibility; Measurement, variability, and impact. *Proc. 65 th MN Nutr. Conference.* Bloomington, MN 105-124.
- Lauer, J., P. Carter, T. Wood, G. Diezel, D. Wiersma, R. Rand and M. Mlynarek. 1999. Corn hybrid response to planting date in the northern Corn Belt. *Agro.*, 91:834-839.
- Marsalis, M., S. Angadi and F. Contreras. 2010. Dry matter yield and nutritive value of corn, forage sorghum, and BMR forage sorghum at different plant populations and nitrogen rates. *Field Crop Res.*, 116:52-57.
- Ramírez, J., J. Montenegro, S. Bravo, M. Hernández, R. Aldaco y Ruiz E. 2006. Características agronómicas y calidad de maíz forrajero con riego sub-superficial. *Tec. Pec. Mex.*, 44(3):351-357.
- Raymond, F., M. Alley, D. Parrish and W. Thomason. 2009. Plant density and hybrid impact on corn grain and forage yield and nutrient uptake. *J. Plant.Nutr.*, 32(3):395-409.
- Reta, D., A. Gaytány y J. Carrillo. 2000. Respuesta del maíz para ensilaje a métodos de siembra y densidades de población. *Rev. Fitotec. Mex.*, 23:37-48.
- SAS Institute INC. 2010. *SAS/STATTM User's guide.* Release 8.0 Ed. Cary. NC. USA.
- Van, Soest P., J. Roberston and B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74:3583-3597.
- Widdicombe, W. and K. Thelen. 2002. Row width and plant density effect on corn forage hybrids. *Agron. J.*, 94:326-330.
- Zaidi, P., M. Vinayan and M. Blümmel. 2013. Genetic variability of tropical maize stover quality and the potential for genetic improvement of food-feed in India. *Field Crop Res.*, 153:94-101.

Harina de frijol como fuente de proteína de la dieta y su efecto sobre parámetros biométricos de Morocoto y Tilapia

Bean flour as source of dietary protein and its effect on biometrics parameters of Morocoto and Tilapia

Darwin Abad^{1*}, José Parada¹, Francisco Mendoza², Eglee Torrealba² y Yelitza Peraza¹

¹Estación de Piscicultura, Decanato de Agronomía (UCLA). ²Programa de Formación de Grado en Agroalimentaria, Misión Sucre. Instituto Universitario de Tecnología de Yaracuy (IUTY). *Correo: darwin.abad@ucla.edu.ve

RESUMEN

La alimentación es uno de los factores más determinantes para el éxito de la acuicultura; la búsqueda de materias primas alternativas es un tema importante en la investigación acuícola, debido a que los piensos son elaborados con cantidades importantes de harina de pescado, la cual es un ingrediente de alto costo. El objetivo del presente trabajo fue realizar una evaluación preliminar del efecto de la harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*) sobre parámetros biométricos de Morocoto y Tilapia. Se realizaron dos ensayos entre junio y agosto de 2013 empleando juveniles de Morocoto con peso promedio inicial de 89,1±13,4 g y juveniles de Tilapia con peso promedio inicial de 7,3±2,1 g para el primer y segundo ensayo, respectivamente. La dieta experimental fue formulada con ingredientes secos empleando harina de frijol como fuente de proteína. El alimento consumido por los peces fue registrado diariamente para calcular el factor de conversión (FCA) y se suministró a saciedad aparente dos veces al día; el peso se midió cada siete días para calcular la ganancia de peso diario y la tasa de crecimiento instantáneo (GDP, TCI). El FCA observado para Morocoto fue 2,6 mientras que la GDP fue 1,8±0,1g/d, representando un TCI de 1,6±0,1%/d. En el caso de Tilapia, el FCA fue 2,5 y GDP de 0,32±0,02 g/d, con un TCI de 2,8±0,5%/d. El uso de la proteína vegetal promovió ganancias de peso y su empleo es una alternativa para la alimentación de peces con fines comerciales.

Palabras claves: *Phaseolus vulgaris*, *Piaractus brachypomus*, *Oreochromis* spp, alimentación de peces, conversión, dieta alternativa.

ABSTRACT

Food is one of the most determining factors for the success of aquaculture; the search for alternative raw materials is an important issue in aquaculture research, because the feed is made with important inclusions of fishmeal, which is a high cost ingredient. The objective of the present work was to make a preliminary evaluation of the effect of bean flour (*Phaseolus vulgaris*) on biometric parameters of Morocoto and Tilapia. Two trials were conducted between June and August 2013 using Morocoto juveniles with 89.1±13.4 g initial average weight and Tilapia fry with 7.3±2.1 g initial average weight for first and second tests respectively. The experimental diet was formulated with dry ingredients using *Phaseolus vulgaris* flour as a source of protein. The food consumed by the fish was recorded daily to calculate the conversion factor (CF) and was fed at apparent satiety twice a day; the weight was measured every seven days to calculate the daily weight gain and the instantaneous growth rate (DWG, IGR). The DWG, IGR and FC values for Morocoto were 1.8±0.1g/d, 1.6±0.1%/d and 2.6 respectively. On the other hand, the DWG, IGR and FC values for Tilapia were 0.32±0.02 g/d, 2.8±0.5%/d and 2.5 respectively. The use of vegetable protein promoted weight gains in fish and its use is an alternative for fish feed for commercial purposes.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, *Piaractus brachypomus*, *Oreochromis* spp., fish feeding, conversion, alternative diet.

INTRODUCCION

La alimentación es uno de los factores más determinantes, pues condicionan el éxito de la acuicultura, representando hasta el 70% de los costos de producción (Cheng *et al.*, 2003). La calidad y cantidad del alimento suministrado están relacionados directamente con el crecimiento de los organismos sometidos a las condiciones de cultivo (peces y crustáceos), en especial con el aumento en la producción de biomasa; es por esto que se han optimizado en cuanto a la disponibilidad de nutrientes y contenido de proteína digerible, a fin de elevar su calidad e incrementar la eficiencia del sistema de producción (Watanabe, 2002).

Tradicionalmente se ha utilizado harina de pescado como fuente proteica en la nutrición de peces; este alimento proviene principalmente de las pesquerías marítimas las cuales presentan un importante declive en su producción. Esto ha incrementado el costo de este ingrediente a cifras elevadas y ha orientado la investigación hacia la búsqueda de sustitutos más económicos (Boletín Aquanostrum, 2010).

En la formulación de alimentos para organismos acuícolas, y específicamente para peces, estas experiencias se han orientado hacia la sustitución parcial o total de la harina de pescado por materias primas y aceites de origen vegetal (Turchini *et al.*, 2009; Hardy, 2010).

Así mismo, se han incorporado otras fuentes proteicas de origen vegetal, diferentes a la soya, que han proporcionado información importante para la nutrición acuícola; tal es el caso de algunas leguminosas, las cuales poseen un gran potencial y podrían ser beneficiosas para la alimentación de varias especies de peces (Olivera-Novoa y Olivera-Castillo, 2000).

Sin embargo, existen limitaciones relacionadas con las materias primas no convencionales, debido al escaso conocimiento que se tiene sobre ellas y de los niveles óptimos de inclusión para formulación de raciones (Vasques-Torres *et al.*, 2011b).

Respecto a las leguminosas, éstas constituyen un grupo vegetal diverso con alrededor de 1800 especies, de las cuales 20 son utilizadas en la alimentación humana y animal, o en las industrias oleaginosas (NAS, *op cit*). Por otra

parte, poseen características que las hacen importantes en la naturaleza, gracias a su amplia capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y convertirlo en proteína al fijarlo en el suelo (NAS, 1979; Jauncey y Roos, 1982).

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) pertenece a un grupo de leguminosas que son consumidas en muchas regiones, y se les conoce por diversos nombres según la cubierta externa de grano (Sangronis *et al.*, 2004). Sin embargo, la mayoría contienen factores antinutricionales que pueden repercutir negativamente sobre el crecimiento, pero que consiguen eliminarse con tratamientos térmicos y de remojo.

Los frijoles son ingredientes no convencionales, pues su utilización es poco frecuente en la alimentación animal. Sin embargo, puede ser considerada su incorporación en las dietas acuícolas, ya que contienen un buen balance de proteína y energía (Valdez-González *et al.*, 2013). La calidad nutricional del frijol (21-25% de proteínas, 3% de lípidos) ha promovido la utilización de algunas variedades de esta leguminosa, en porcentajes de inclusión de hasta 33% de la proteína total de la dieta, sin llegar a observar efectos negativos sobre el desempeño de los peces (Keembiyehetty y De Silva, 1993); por tanto, se determina que pudiera resultar idóneo para sustituir parcial o totalmente la harina de pescado en la nutrición acuícolas.

Igualmente se han realizado ensayos con la incorporación de harinas de origen avícola, como la harina de hidrolizado de plumas, que gracias a su alto contenido de proteínas (>60%PB) se ha utilizado como ingrediente no convencional en ensayos con Tilapias, sustituyendo parte de la harina de pescado de la dieta (Peters *et al.*, 2004).

De tal forma, el objetivo del presente trabajo fue realizar una evaluación preliminar de la harina de frijol como fuente de proteína de la dieta, y su efecto sobre parámetros biométricos de Morocoto (*Piaractus brachypomus*) y Tilapia (*Oreochromis spp*).

METODOLOGIA

La investigación se realizó en las instalaciones de la Estación de Piscicultura, perteneciente a la Universidad Centroccidental "Lisandro

Alvarado" (UCLA), ubicada al norte de Yaritagua, municipio Peña del estado Yaracuy, entre los 10° 07' 03,00" Norte, 69° 06' 48,93" Oeste, y altitud de 513 m.s.n.m.

Se realizaron dos ensayos cortos consecutivos con una duración de 30 días cada uno (del 02 de junio al 11 de julio y el segundo, desde el 07 de julio hasta el 16 de agosto de 2013) para evaluar el comportamiento de las especies Morocoto (*Piaractus brachypomus*) y Tilapia (*Oreochromis spp.*) alimentados con la dieta experimental.

Ensayo N° 1: uso de la harina de frijol en la alimentación de Morocoto (*Piaractus brachypomus*)

Se utilizaron tres tanques de concreto de 2 m³ de capacidad, a cielo abierto. Los mismos fueron llenados a un volumen de 1,2 m³ y dotados con aireación constante. Los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos fueron: temperatura de 27,5±1,3 °C, oxígeno disuelto (OD) de 7,5±1,4 mg.l⁻¹, pH de 6,9±0,2 y, por su parte, el amonio se mantuvo por debajo de 0,2 mg.l⁻¹. Se aplicó recambio de agua del 30% semanalmente y las condiciones se mantuvieron óptimas para el cultivo.

Los peces de este ensayo, se obtuvieron a partir del proceso de reproducción inducida realizado en la estación piscícola de la UCLA, en marzo del año 2013. Se emplearon juveniles, con una longitud promedio de 14±0,7 cm y un peso promedio de 89,1±13,4 g; se sembraron a una densidad de 12,5 peces/ m³ y se aclimataron en los tanques durante 10 días. Durante el periodo de aclimatación, se les suministró una ración balanceada dos veces al día; una vez finalizada la etapa de adaptación, fueron alimentados con la dieta experimental durante 30 días, la cual se suministró dos veces al día, a saciedad aparente. Se aplicó un solo tratamiento por triplicado y los peces fueron pesados semanalmente para evaluar los índices de crecimiento.

Ensayo N° 2: Uso de la harina de frijol en la alimentación de Tilapia (*Oreochromis spp.*)

Igualmente se utilizaron tres tanques con condiciones similares al ensayo descrito anteriormente. Fueron dotados de aireación constante y los valores promedios de los parámetros fisicoquímicos fueron los siguientes:

temperatura de 27,9±1,8 °C, oxígeno disuelto (OD) 6,8±2,1 mg/l, pH de 7,0±1,1. El amonio estuvo por debajo de los valores tolerados por la especie en condiciones de cultivo. Se aplicó recambio de agua del 30% semanalmente y las condiciones se mantuvieron óptimas para la especie.

Para este ensayo se emplearon juveniles colectados de los tanques de mantenimiento de peces, los cuales se reproducen espontáneamente. Todos pertenecían al mismo lote de organismos y tuvieron una longitud promedio de 7,1±0,9 cm, peso promedio de 7,3±1,2 g y la densidad de siembra fue de 14,2 peces/m³.

Los individuos se aclimataron durante un lapso previo de 10 días, en los que se suministró una ración balanceada, dos veces al día; una vez culminado el periodo de aclimatación, se realizó un sexado manual para seleccionar una población exclusivamente de machos. Una vez seleccionados, se inició el suministro diario de la dieta experimental, durante 30 días. El alimento se proporcionó dos veces al día, a saciedad aparente. Se aplicó un solo tratamiento por triplicado y semanalmente se realizó un muestreo biométrico a todos los organismos del experimento, a fin de realizar las mismas evaluaciones del primer ensayo.

Dieta Experimental

La dieta experimental se utilizó para ambos ensayos y la misma contuvo 28% de proteína cruda. La formulación fue realizada por ensayo y error conociendo el aporte nutricional de los ingredientes, con 38% de inclusión de harina de frijol (Cuadro 1). Esta dieta se elaboró de forma artesanal, mezclando los ingredientes secos y luego se adicionó sal, premezcla de vitaminas y minerales, y aglutinante. Posteriormente, se agregó agua hasta obtener una mezcla homogénea, que inmediatamente se colocó en un peletizador artesanal. Los pellets obtenidos fueron secados en una estufa a 60 °C por 24 horas.

Registro Biométrico

En cada uno de los ensayos se evaluaron los siguientes parámetros: ganancia diaria de peso (GDP), tasa de crecimiento instantáneo (TCI),

Cuadro 1. Formulación e información nutricional de la dieta experimental utilizada para la alimentación de *Piaractus brachyomus* y *Oreochromis* spp.

Ingredientes	Inclusión en la dieta (%)	Análisis Bromatológico (%)	
Harina de frijol	38	Proteína cruda	28,25
Harina de hidrolizado de plumas	20	Grasa cruda	4,31
Harina de maíz	37	Fibra cruda	8,03
Fécula de maíz (aglutinante)	2	Cenizas	6,08
Premezcla de vitaminas y minerales	2	Humedad	-
Sal	1		
Total	100		

tasa de alimentación diaria (TAD), factor de conversión del alimento (FCA) y coeficiente de eficiencia proteica (CEP). Dichos parámetros fueron determinados según las formulas siguientes:

Ganancia de peso diario (g/d):

$$GDP: (P_f - P_i) / t$$

Donde:

GP: ganancia de peso

P_f : peso final

P_i : peso inicial

t: tiempo de cultivo

Tasa de crecimiento instantáneo (%/d):

$$TCI: [(\ln(P_f) - \ln(P_i)) / t] * 100$$

Donde:

TCI: tasa de crecimiento instantáneo

Ln: logaritmo natural

P_f : peso final

P_i : peso inicial

t: tiempo de cultivo

Alimentación diaria (%PEC/d):

$$TAD: (AC / B) / t * 100$$

Donde:

TAD: tasa de alimentación diaria

PEC: peso corporal

AC: alimento consumido

B: biomasa

t: tiempo de cultivo

Conversión alimenticia:

$$FCA: AC / GnB$$

Donde:

FCA: factor de conversión del alimento

AC: alimento consumido

GnB: ganancia de biomasa

Eficiencia proteica

$$CEP: GP / PC$$

Donde:

CEP: coeficiente de eficiencia de la proteína

GP: ganancia de peso

PC: gramos de proteína consumida.

Análisis de datos

Se aplicó estadística descriptiva para estimar el valor promedio de las medidas biométricas y su desviación estándar ($X \pm DE$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en cada uno de los ensayos se muestran en las Cuadro 2 y 3. Se observó que las especies estudiadas mostraron una respuesta positiva al ser alimentados con la dieta alternativa.

Cuadro 2. Crecimiento y conversión alimenticia de Morocoto (*Piaractus brachypomus*) alimentado con un alimento alternativo a base de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Especie	Peso final (g)	GDP (g/día)	TCI (%/día)	FCA	TAD (%PEC/d)	CEP
<i>Piaractus brachypomus</i>	142,6±21,4	1,8±0,1	1,6±0,1	2,6±0,2	3,27±1,0	1,38

GDP: ganancia de peso diario, TCI: tasa de crecimiento instantáneo; FCA: factor de conversión del alimento; TAD: tasa de alimentación daría; CEP: eficiencia proteica.

Cuadro 3. Crecimiento y conversión alimenticia de Tilapia (*Oreochromis* spp.) alimentada con un alimento alternativo a base de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Especie	Peso final (g)	GDP (g/día)	TCI (%/día)	FCA	TAD (%PEC/d)	CEP
Tilapia (<i>Oreochromis</i> spp.)♂	16,8±3,9	0,32±0,02	2,8±0,5	2,5±0,4	4,7±0,5	1,4

GDP: ganancia de peso diario, TCI: tasa de crecimiento instantáneo; FCA: factor de conversión del alimento; TAD: tasa de alimentación daría; CEP: eficiencia proteica.

Crecimiento y conversión del alimento en peces Morocoto (*Piaractus brachypomus*) con una dieta a base de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*) como fuente de proteína vegetal

Los peces del ensayo presentaron un peso promedio final de 142,6±21,4 con una GDP de 1,8 g/d. Esto indica un crecimiento favorable como respuesta a la dieta suministrada durante 30 días de alimentación (Figura 1). Estos valores son mayores a los señalados por Abad (2010) al alimentar individuos de la misma especie con dietas que contenían harina de camarón (*Macrobrachium jelskii*), como fuente de proteína. Sin embargo, Lui *et al.* (2012) obtuvieron valores de GDP superiores, respecto a los hallados en esta investigación, al suministrar a peces Pacu (*P. mesopotamicus*), piensos enriquecidos con aceite de pescado.

En cuanto a la TCI, el valor obtenido en este estudio es ligeramente superior a los valores (1,2 a 1,4%/d) reportados por Abad (2010), pero comparable a los resultados de 1,3 a 1,7%/d reportados por Vásquez-Torres *et al.* (2012) al evaluar diferentes niveles de proteínas en *P. brachypomus*.

De acuerdo con Vásquez-Torres (2011b) el crecimiento de esta especie, está condicionado

por el nivel de proteína incluido en la dieta; igualmente menciona que raciones con niveles de proteína bruta (PB) entre 29 y 32% promueven un mejor desempeño de los peces. Sin embargo, se ha determinado que los requerimientos de proteína en la dieta presentan límites máximos, por lo que, niveles de inclusión por encima de estos, promueve la reducción del crecimiento en los organismos (Lovell, 1989).

Se considera que el nivel de proteína al 28% es idóneo para un buen crecimiento en las cachamas, debido a que su hábito alimenticio es típicamente omnívoro, pues incluye hojas, semillas y frutas (Araujo-Lima y Goulding, 1997; Lucas, 2008); por tanto, y de acuerdo a los resultados de esta investigación, es posible inferir que la inclusión de ingredientes proteicos vegetales en la dieta de esta especie, puede ser ventajoso.

Sin embargo, debe destacarse que las tasas de crecimiento, además de ser influenciadas por la calidad y cantidad de proteína dietaria, también son afectadas por otros factores relacionados con el procesamiento de los alimentos, condiciones fisiológicas de los peces y condiciones ambientales de cultivo, teniendo un impacto sobre la calidad final del pescado

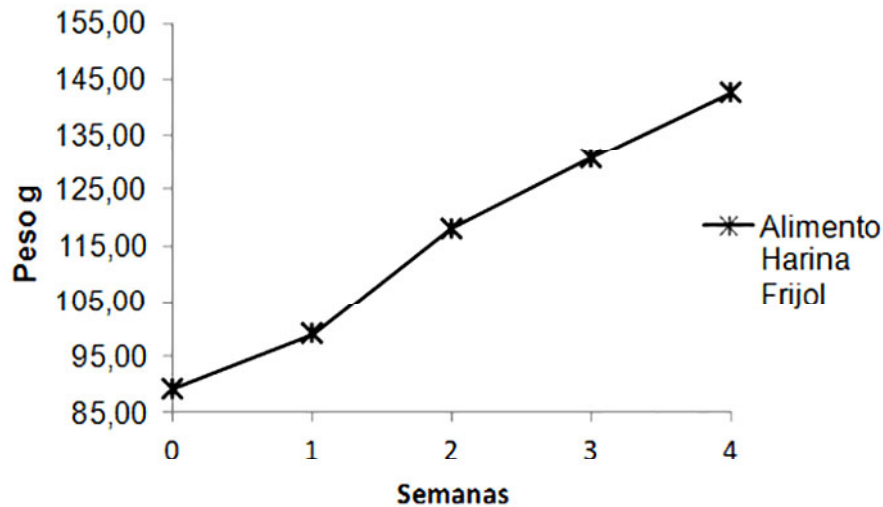


Figura 1. Crecimiento de *Piaractus brachypomus* alimentado con una dieta experimental basada en harina de *Phaseolus vulgaris*.

(Austreng y Resftie, 1979; De Silva *et al.*, 1989; Boujard, 2001; Meurer *et al.*, 2002).

El valor obtenido para la TAD evidenció ingesta del alimento ofrecido, con un factor de conversión (2,6) comparable al obtenido por Abad (2010), al reportar valores de FCA de 1,9 y 2,6 en juveniles de *P. brachypomus*, alimentados con dietas que contenían inclusiones variables de harina de *M. jelskii* como fuente de proteína. Por otro lado, Bautista *et al.*, (2005) obtuvieron valores de FCA mayores (2,8-3,5) a los obtenidos en este estudio, al alimentar alevines híbridos de Cachamay (*C. macropomum* x *P. brachypomus*) con pulpa de café ensilada. Es importante destacar que de acuerdo con Huet (1973), los valores del factor de conversión comprendidos entre 1,0 y 2,5 son aceptables para alimentos granulados; ahora bien, este mismo afirma que el índice de conversión no solo depende del alimento suministrado, sino también de otros factores como densidad de siembra, pesos individuales de los peces y especialmente de la temperatura.

El coeficiente de eficiencia proteica (CEP) fue de 1,37; resultado inferior a los reportados por Vásquez-Torres *et al.* (2012), quienes obtuvieron valores de 2,37, 2,17 y 1,99 en *P. brachypomus* alimentados con dietas que contenían niveles de PB de 26, 30 y 34% respectivamente. Por otra parte, estudios realizados en Bagre Yaque

(*Leiarius marmoratus*), han evidenciado valores mayores a los obtenidos en esta investigación, con dietas balanceadas comerciales que contenían niveles de PB de 28, 32 y 36% (Mora *et al.*, 2002).

Los valores de los índices de crecimiento y conversión alimenticia para los juveniles de *Oreochromis* spp., se presentan en el Cuadro 3. La dieta experimental con harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*) como fuente de proteína, promovió en los individuos de esta especie, un peso promedio final de $16,8 \pm 3,9$ y una GDP de 0,32 g/d. Esto indica que el alimento ofrecido suplió los requerimientos nutricionales de los peces durante la fase experimental.

El resultado de GDP obtenido en este estudio para *Oreochromis* spp., (Figura 2) es similar a los valores de 0,29 y 0,3 g/d reportados por Urdaneta *et al.* (2012), en individuos alimentados con harina de cují (*Prosopis juliflora*). Igualmente es comparable a los valores de 0,31 y 0,33 g/d reportados en Tilapias rojas, alimentadas durante 70 días con dietas que presentaban sustituciones variables de la harina de pescado por harina de hidrolizado de plumas (Peters *et al.*, 2004). Por otra parte, la presente investigación arrojó resultados superiores a los valores señalados por Llanes-Iglesias *et al.* (2006), quienes obtuvieron GDP de 0,17 a 0,22 g/d en Tilapias rojas (*O. mossambicus* x

O. niloticus) alimentadas con ensilado de pescado. Sin embargo, la GDP obtenida en la presente investigación es inferior a la reportada en *O. niloticus* por Poot-Delgado *et al.* (2009), al utilizar piensos comerciales con niveles de PB de 40 y 43%. Estos investigadores señalaron valores de 0,61 y 0,62 g/d.

En cuanto a la TCI, el valor obtenido en la presente investigación (2,8%/d) es superior a los valores de 2,31 y 2,65%/d obtenidos por Llanes-Iglesias *et al.* (2006). Mientras que Jover-Cerdá *et al.* (1998) señalaron valores de TCI de 1,3 y 1,7%/d al alimentar Tilapias (*O. niloticus* L.) con piensos extrusionados con diferentes niveles de PB (30, 35 y 40%).

Por otra parte, el valor de la TAD final fue de 4,7% PEC/d, mientras que el FCA obtenido fue superior a los valores (1,9 y 2,1), reportados por Rincón *et al.* (2012), para individuos de la misma especie, alimentados con dietas que contenían diferentes niveles de harina de *Arthrospira* (=Spirulina) máxima, en sustitución de la harina de pescado. Igualmente, este valor es superior al 0,9 señalado por Urdaneta *et al.* (2012) y al 1,6 reportado por León-Sánchez *et al.* (2010) para *Oreochromis* sp., sometidos a dietas experimentales.

Sin embargo, el FCA alcanzado en este ensayo es inferior a los valores (3,6 y 3,7) reportados

por Llanes-Iglesias *et al.* (2006) al utilizar alimentos ensilados. De acuerdo a lo señalado por Huet (1973), se puede afirmar que el valor de FCA observado en esta investigación se encuentra en un rango aceptable para alimentos peletizados (1,0-2,5). Esto último indica que se puede sustituir hasta un porcentaje determinado (38%) la harina de pescado por ingredientes alternativos, sin alterar la relación alimento consumido/ganancia de peso.

Al evaluar el CEP, se observa que el resultado obtenido en este estudio es superior a los valores de 1,05 y 1,07 señalados por Llanes-Iglesias *et al.* (2006). No obstante, es inferior a los valores de 1,6 y 1,8 reportados por Rincón *et al.* (2012), e igualmente menor a 2,9 y 3,2 señalados por Urdaneta *et al.* (2012) para la misma especie. Esto podría indicar deficiencia de algunos aminoácidos en la dieta, esenciales para el crecimiento, condicionando la utilización mínima de la proteína en la dieta (Lovell, 1981).

Al analizar los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede inferir que la harina de frijol permite mantener los parámetros de crecimiento dentro de rangos aceptables; esto ha sido demostrado igualmente en la alimentación de especies terrestres (Obregon *et al.*, 2007); por tanto, lo convierte en una materia prima que puede ser aprovechada para sustituir a la harina

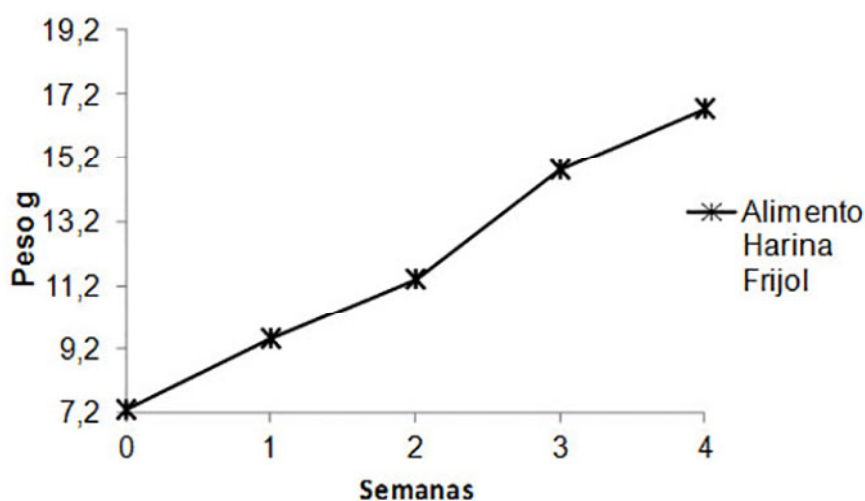


Figura 2. Crecimiento de *Oreochromis* spp. alimentada con una dieta experimental basada en harina de *Phaseolus vulgaris*.

de soya y harina de pescado. A pesar de ello, al comparar con otros ingredientes, su porcentaje de digestibilidad puede influir sobre los índices de crecimiento y de conversión alimenticia, ya que es inferior a la harina de pescado (>90%), presentando valores que oscilan entre 60 y 70% de digestibilidad aparente (Marrugo-Ligardo *et al.*, 2012).

CONCLUSIONES

Los índices de crecimiento de *Piaractus brachyomus* alimentados con dieta que contenía harina de frijol (*Phaseolus vulgaris*), son aceptables a pesar del FCA obtenido (mayor a 2,5).

El desempeño productivo observado en la Tilapia (*Oreochromis* spp.) indica que esta especie aprovecha de manera más eficiente las materias de origen vegetal en la dieta.

El uso de alimento alternativo basado en la harina de *P. vulgaris* y harina hidrolizada de plumas, es factible para la cría y engorde de peces tropicales de importancia comercial. Sin embargo, se requiere optimizar en el procesamiento de las materias primas y del alimento elaborado, a fin de mejorar los parámetros productivos de los organismos, que permita la obtención de resultados similares o superiores a los que ofrecen los alimentos comerciales de tipo extrusionados o expandidos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la cooperación del Programa de Formación de Grado (PFG) Agroalimentaria de la Fundación Misión Sucre del municipio Peña, estado Yaracuy; así como el apoyo logístico del personal de la Estación Piscícola de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA).

LITERATURA CITADA

Abad, D. 2010. Crecimiento de alevines de cachama blanca *Piaractus brachyomus* (Cuvier, 1818) (PISCES: CHARACIDAE) alimentados con dietas de inclusión variable de harina de camarón de agua dulce *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1872) (CRUSTACEA: PALAEMONIDAE).

Universidad de Oriente. Datos no Publicados. 82 p.

Araujo-Lima, C. and M. Goulding. 1997. So fruit a fish: ecology, conservation and aquaculture of the amazon's tambaqui. New York: Columbia University. 191p.

Austreng, E. and T. Refstie. 1979. Effect of varying dietary protein level in different families of rainbow trout. *Aquaculture*. 18:145-156.

Bautista, E., J. Pernia, D. Barrueta y M. Useche. 2005. Pulpa ecológica de café ensilada en alimentación de alevines del híbrido cachamay (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachyomus*). *Revista Científica FCV-LUZ*. 15(1):33-40.

Boletín AQUANOSTRUM. 2010. Peces más vegetarianos para una acuicultura sostenible. Boletín electrónico N° 2. Disponible en línea: aquanostrum.malaga.es/media/boletines/boletin-AQUANOSTRUM2_definitivo.pdf [18 jul, 2014].

Boujard, T. 2001. Feeding behavior and regulation of food intake. 19-25 pp. En: Guillaume, J.; Kaushik, S.; Bergot, P. y Métailler, R. Nutrition and feeding on fish and crustaceans. Springer and Praxis Publishing, Chichester UK. 408 p.

Cheng, Z., R. W. Hardy and J. L. Usry. 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein based diets on the performance of rainbow trout *Oncorhynchus mikiss* an apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture*. 215:255-265.

De Silva, S., R. Gunasekera and D. Atapattu. 1989. The dietary protein requirements of young tilapia an evaluation of the least cost dietary protein levels. *Aquaculture*. 80:271-284.

Granado, A. 2000. Efecto de la densidad de cultivo sobre el crecimiento del morocoto, *Piaractus brachyomus*, Cuvier, 1818, (Pisces: Characiformes), confinado en jaulas flotantes. Instituto Limnológico, Universidad de Oriente, Caicara del Orinoco, estado Bolívar, Venezuela. *Saber*. 12:3-7.

- Hardy, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*. 41(5):770-776.
- Huet, M. 1973. *Tratado de Piscicultura*. Mundi-Prensa, Madrid. 780 p.
- Jauncey, K. and B. Ross. 1982. *A guide to tilapia feeds and feeding*. University of Stirling, Scotland. 111p.
- Jover-Cerdá, M., L. Pérez-Igualada, L. Zaragoza y J. Fernández-Cramona. 1998. Crecimiento de tilapias (*Oreochromis niloticus* L.) con piensos extrusionados de diferente nivel proteico. *Archivos de Zootecnia*. 47:11-20.
- Keembiyehetty, C. N. and S. S. De Silva. 1993. Performance of juvenile *Oreochromis niloticus* (L.) reared on diets containing cowpea *Vigna catieng*, and black gram *Phaseolus mungo*, seeds. *Aquaculture*. 112:207-215.
- Llanes-Iglesias, J., J. Toledo y J. Lazo. 2006. Producción de alimento húmedo a partir de ensilados de pescado para la alimentación de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*). *Revista AquaTIC*. 25:16-21.
- León-Sánchez, R., G. Viilanueva-Cuevas, I. González-Ledezma, P. M. García-López, M. A. Ruíz-Lopez y A. García-Chávez. 2010. Evaluación de subproductos agrícolas en alimentación de tilapias *Oreochromis* spp. (*PISCES:CICHLIDAE*). *AquaTIC*. 32:1-6.
- López, P. y D. Anzoátegui. 2012. Crecimiento del híbrido cachamoto (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) en un sistema de recirculación de agua. *Zootecnia Tropical*. 30(4):335-342.
- Lucas, C. M. 2008. Within flood season variation in fruit consumption and seed dispersal by two characin fishes of the Amazon. *Bitropica*, 40, 581-589
- Lui, T. A., F. Bittencourt, D. H. Neu, J. M. Dallagnol, W. R. Boscolo y A. Feiden. 2012. Índice de rancidez del aceite de pez en la nutrición de alevines de pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Archivos de Zootecnia*. 61(236):517-524.
- Lovell, R. 1981. *Laboratory manual for fish feed analysis and fish nutrition studies*. Department of fisheries and allied aquacultures international center for aquaculture. Auburn University. Auburn, Alabama. 30 p.
- Lovell, T. 1989. Practical feeding channel catfish. En: Lovell, T. (Ed.) *Nutrition and Feeding of Fish*. Van Nostrand Reinhold. New York, EUA. pp. 145-162.
- Marrugo-Ligardo, Y., P. Montero-Castillo, E. Torregroza-Fuentes y M. Duran-Lenguas. 2012. Potencial de tres cultivares de frijol Zaragoza (*Phaseolus lunatus*) y estimación de su digestibilidad "in vitro". *Revista Fac. Agronomía, LUZ*. 29:314-326.
- Meurer, F., C. Hayashi, W. R. Boscolo e C. M. Soares. 2002. Lipídeos na alimentação de alevines revertidos de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Revista Bras. Zootecn*. 31:566-573.
- Mora, J. A., F. Moyetones y M. Jover-Cerdá. 2002. Influencia del contenido proteico en el crecimiento de alevines de bagre yaque *Leirius marmoratus* alimentados con concentrados comerciales. *Zootecnia Tropical*. 27(2):187-194.
- NAS, (National Academy of Sciences). 1979. *Tropical legumes: Resources for the future*. Washington, D.C. 332 p.
- Obregon, J. F., E. I. Noriega-González, F. G. Rios, A. Angulo y E. Vásquez-García. 2007. Digestibilidad aparente en dietas integrales para ovinos en engorda elaboradas con pasta de soya, harinolina y frijol cocido. *Memorias XVI Congreso Nacional Asociación de Técnicos especialistas en Ovinocultura A. C. Sinaola*. 50 p.
- Olvera-Novoa, M. A. y L. Olivera-Castillo. 2000. Potencialidad del uso de las leguminosas como fuente proteica en alimentos para peces. *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola Eds IV*. pp. 327-348.
- Peters, R., S. Rodríguez, J. Hernández, D. Mejías y A. León. 2004. Determinación del nivel óptimo de sustitución de la harina

- de pescado por harina de hidrolizado de plumas en el alimento de la tilapia roja *Oreochromis* sp. *Revista Ciencia*. 12(1):13-24.
- Poot-Delgado, C., R. Salazar-Novelo y M. Hernández-Hernández. 2009. Evaluación de dietas comerciales sobre el crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linneaus), etapa crianza. 2° Congreso Internacional de investigación, Cd. Delicias, Chihuahua, México. 25 p.
- Rincón, D., H. Velásquez, M. Dávila, A. Semprun, E. Morales y J. Hernández. 2012. Niveles de sustitución de harina de pescado por harina de *Arthrospira* (=Spirulina) máxima, en dietas experimentales para alevines de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.* 25:430-437.
- Sangronis, E., C. Machado y R. Cava. 2004. Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Cajal cajan*) germinadas. *Interciencia*. 29(2):80-85.
- Tacon, A. G., K. Jauncey, A. Falaye, M. Pantha, I. MacGowan and E. A. Stafford. 1983. The use of meat and bone meal, hydrolysed and soybean meal in practical fry and fingerling diets for *Oreochromis niloticus*. I International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Tel Aviv University Press. 356-365.
- Tacon, A. 1997. Aquafeeds and feeding strategies. Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular N° 886. FIRI/C886 (Rev.1).
- Tacon, A. and M. Metian. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*. 285:146-158.
- Turchini, G. M., B. E. Torstensen and W. K. Ng. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Review Aquaculture*. 1:10-57.
- Urdaneta, H., J. Leon, L. Nuñez, R. Pérez y C. Urdaneta. 2012. *Prosopis juliflora* (LEGUMINOSEAE:MIMOSOIDEAE) como ingrediente en el alimento para alevines de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) *Boletín del Centro de Invst. Biológicas*. 46(4):353-367.
- Valdez-González F., R. Gutiérrez-Dorado, M. Gracia-Ulloa y H. Rodríguez-González. 2013. Revisión del efecto de los antinutrientes y la fibra de las leguminosas en la alimentación para peces. *Ciencia Nicolaita*. 59:21-40.
- Vásquez-Torres, W., M. Pereira-Filho and J. A. Arias-Castellanos. 2011b. Optimum dietary crude protein requirement for juvenile cachama (*Piaractus brachypomus*). *Ciência Rural*. 41:2183-2189.
- Vásquez-Torres, W., G. Hernández-Arévalo, M. C. Gutiérrez-Espinoza y M. Yossa. 2012. Efecto del nivel de proteína dietaria sobre el crecimiento y parámetros sericos en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.* 25:450-461.
- Watanabe, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*. 68(2):242-252.

NOTA TÉCNICA

Influência do método de coleta de própolis na produção de mel em abelhas africanizadas no município de Botucatu, São Paulo, Brasil

Influence of the collecting propolis method on the honey production in africanized bees in the Botucatu municipality, São Paulo, Brazil

Influencia del método de colecta de propóleos sobre la producción de miel en abejas africanizadas en el municipio de Botucatu, São Paulo, Brasil

Natália Y. Ikeda¹, Rodrigo Zaluski^{1,3}, Edison A. Souza¹, Aline C.S. Silva¹, Nabor Veiga² e Ricardo O. Orsi^{1*}

¹Universidade Estadual Paulista (FMVZ – UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Núcleo de Ensino, Ciência e Tecnologia em Apicultura Racional (NECTAR). Departamento de Produção Animal, São Paulo, Brasil. ²Universidade Estadual Paulista (FMVZ – UNESP), Departamento de Produção e Exploração Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil. ³Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *correo electrónico: orsi@fmvz.unesp.br

RESUMEM

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da colheita de própolis por diferentes coletores na produção de mel em colônias de abelhas *Apis mellifera*. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, utilizando 25 colônias de abelhas africanizadas alojadas em colmeias padrão Langstroth, durante período de florada silvestre (Dezembro a Fevereiro). As colônias foram divididas em cinco tratamentos e todas receberam uma melgueira para produção de mel. A colheita de própolis foi realizada utilizando os métodos: Coletor de Própolis Inteligente; Tela Plástica; Abertura Lateral de Melgueira; Calço de Madeira e Controle (sem instalação de coletor). A produção de mel e própolis foi quantificada em cada tratamento e realizou-se análise da viabilidade econômica da produção simultânea desses produtos, considerando o valor da venda dos produtos obtidos a preço de atacado. Os resultados foram analisados pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney e diferenças entre os tratamentos consideradas significativas quando $P < 0,05$. Verificou-se que a instalação de coletores de própolis não influenciou a produção de mel, que foi responsável pela maior renda obtida na comercialização.

Palavras chave: *Apis mellifera*, apicultura, produção de própolis, mel, manejo de apiários, viabilidade econômica.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of propolis collection using different devices on the honey production in bee colonies *Apis mellifera*. The experiment was conducted in a completely randomized design, using 25 colonies of africanized bees housed in standard Langstroth hives, during a period of wild flowering (December to February). The colonies were divided into five treatments and all received a honey super. The propolis harvest was carried out using the following methods: Collector of Intelligent Propolis; Plastic Fabric; Lateral Opening of honey super; Wood Chocking and Control (without collector installation). The honey and propolis production was quantified in each treatment and economic viability analysis of the simultaneous production of these products was performed, considering the sale value of the products obtained at a wholesale price. The results were analyzed by the non-parametric Mann-Whitney test and differences between treatments considered significant when $P < 0.05$. It was verified that the installation of propolis collectors did not influence the honey production, which was responsible for the higher income obtained in the commercialization.

Key word: *Apis mellifera*, beekeeping, propolis production, honey, apiaries management, economic viability.

Recibido: 17/02/16 Aprobado: 04/09/18

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la colección de propóleos utilizando diferentes dispositivos, sobre la producción de miel en colonias de abejas *Apis mellifera*. La investigación se realizó mediante un diseño completamente aleatorizado, con 25 colonias de abejas africanizadas alojadas en colmenas Langstroth estandar, durante el período de floración silvestre (diciembre-febrero). Las colonias se dividieron en cinco tratamientos y todos recibieron alzas para la producción de miel. El propóleo se recogió utilizando los dispositivos: Colector del Propóleos Inteligente; Mallas de Plástico; Aberturas en la parte Lateral de Alza; Calce de Madera y Control (sin instalación de los dispositivos). La producción de miel y propóleos se cuantificó para cada tratamiento y la viabilidad económica de la producción simultánea de ambos productos fue analizada, teniendo en cuenta el valor de las ventas de los productos obtenidos a precios de mayorista. Los resultados se analizaron por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney y las diferencias entre tratamientos se consideraron significativas cuando $P < 0,05$. Se encontró que la instalación de dispositivos para colección de propóleos no influenció la producción de miel, la cual fue responsable de la mayor rentabilidad económica durante la comercialización.

Palabras clave: *Apis mellifera*, apicultura, producción de propóleo, miel, manejo de apiarios, viabilidad económica

INTRODUÇÃO

O mel e a própolis são os principais produtos explorados na apicultura mundial e sua produção tem importância na geração de emprego e renda, sendo um fator de diversificação dos sistemas de produção agrícola, proporcionando benefícios econômicos, sociais e ecológicos. Atualmente, o Brasil ocupa o 11º lugar na produção mundial de mel (Faostat, 2016) e o 3º lugar na produção de própolis (Miguel y Antunes, 2011), apresentando potencial para ampliar a produção devido à diversidade de floradas e extensão territorial. A crescente demanda de exportação de mel e própolis, principalmente devido as propriedades biológicas (Coelho *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2010; Mandal y Mandal, 2011; Al-Waili *et al.*, 2012; Kuropatnicki *et al.*, 2013) vem estimulando a produção desses produtos.

Nas colônias de *Apis mellifera*, a divisão de trabalho para a colheita de recursos pelas abelhas campeiras é estimulada pela sua necessidade (Senar, 2010). Sempre que o apicultor estimula a produção simultânea de mais de um produto apícola na colmeia, o que é comum na produção de própolis e mel, as necessidades da colônia sofrem mudanças que estimulam a divisão de trabalho das abelhas campeiras. Nesse cenário, torna-se importante avaliar o efeito da colheita de própolis na produção de mel, além de mensurar a viabilidade econômica da produção simultânea desses produtos, no sentido de se verificar qual a melhor opção para aumentar a lucratividade da apicultura.

Dessa forma a presente pesquisa avaliou o efeito da colheita de própolis por diferentes coletores na produção de mel em colônias de abelhas *Apis mellifera* africanizadas e analisou a viabilidade econômica da produção simultânea desses produtos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no período de florada de vegetação silvestre (dezembro a fevereiro), no apiário do Setor de Apicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, localizado na Fazenda Experimental Lageado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Câmpus de Botucatu, São Paulo, Brasil, com as coordenadas geográficas: 22°50'30" S e 48°25'41" O; altitude média de 623 m e clima Cfa de acordo com a classificação de Köppen.

A área experimental apresenta florada silvestre, com predominância de espécies das famílias Myrtaceae (*Myrcia sp.*; *Psidium sp.*; *Campomanesia pubescens*), Fabaceae-Mimosoideae (*Mimosa sp.*; *Anadenanthera sp.*), Asteraceae (*Baccharis dracunculifolia*, *Piptocarpha sp.*; *Vernonia sp.*) que apresentam ampla distribuição na região de estudo (Ishara *et al.*, 2008; Negrão y Orsi, 2016). A temperatura média durante o período experimental foi de 22,6±2,9 °C e a precipitação média de 6,1±14,2 mm. Os dados climáticos foram registrados na estação meteorológica do Departamento de Recursos Ambientais da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP – Câmpus de Botucatu.

Foram utilizadas 25 colônias de abelhas *A. mellifera* africanizadas, alojados em colmeias padrão Langstroth. Todas as colônias possuíam uma rainha acasalada naturalmente, com aproximadamente um ano de idade. Aos 45 dias antes do início do experimento, as abelhas receberam alimentação artificial (xarope de açúcar, proporção de 1:1, fornecido semanalmente, na quantidade de 1L por colônia). Uma semana antes do início da florada de vegetação silvestre, os ninhos foram padronizados (todas as colônias receberam semelhante quantidade de cria e alimento) e o fornecimento da alimentação artificial foi suspenso. Todas as colônias receberam tela excludora de rainha; e foram distribuídas aleatoriamente em cinco tratamentos para avaliar a produção de própolis e mel e receberam melgueira contendo quadros com lâminas de cera alveolada conforme descrito:

Tratamento CT (Controle) – as colônias receberam uma melgueira e não houve indução de produção de própolis; somente foi raspada a própolis depositada pelas abelhas entre a tampa e a parte superior da melgueira. Tratamento CPI (Coletor de Própolis Inteligente) – as colônias receberam uma melgueira com dois sarrafos laterais móveis com altura de dois centímetros; a própolis foi colhida dos sarrafos com auxílio de uma faca inoxidável. Tratamento TP (Tela Plástica) – as colônias receberam uma tela plástica de 50 × 40 cm, com malha de 2 mm que foi instalada entre a tampa da colmeia e a melgueira; as telas removidas das colmeias foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em freezer para retirada da própolis por fricção manual. Tratamento ALM (Abertura Lateral da Melgueira) – as colônias receberam uma melgueira com abertura lateral de 16 cm × 8 cm, revestida externamente com plástico transparente para evitar alterações na termorregulação do ninho, mas permitindo a entrada de luminosidade; a própolis foi colhida da abertura com auxílio de uma faca inoxidável. Tratamento CA (Calço) – foi instalado um calço de madeira, com altura de dois centímetros, entre a tampa da colmeia e a melgueira, de modo a induzir uma abertura; a própolis foi colhida da abertura com auxílio de uma faca inoxidável. A própolis foi colhida mensalmente em todos os tratamentos, acondicionada em sacos plásticos,

identificada e armazenada em freezer a -10 °C até a pesagem.

Os quadros de mel de cada colmeia foram colhidos com aproximadamente 90% de sua área total operculada, sendo transferidos para melgueira vazia, devidamente etiquetada de acordo com o método utilizado para colheita da própolis. Os quadros de mel foram pesados, centrifugados e a quantidade de mel por colmeia determinada pela diferença entre o peso inicial e final dos quadros.

A normalidade e homogeneidade de variância dos dados de produção de mel e própolis foram analisadas e empregou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação entre as medianas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Minitab versão 17. Diferenças foram consideradas significativas entre os tratamentos quando $P < 0,05$ (Zar, 2010). Foi realizada análise da viabilidade econômica da produção, considerando a renda obtida pela comercialização de mel e própolis de cada tratamento para entreposto de mel a preço de atacado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção média e total de mel nas colônias submetidas aos diferentes tratamentos variou de 9,15 a 10,67 Kg; e 38 a 50 Kg, respectivamente (Tabela 1). A produção de mel com a colheita simultânea de própolis, usando os diferentes coletores, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Por outro lado, a produção média e total de própolis variou de 0,00 a 6,24 g; e 1 a 135 g, respectivamente (Tabela 1).

Essa variação na produção de ambos os produtos poderia estar relacionada a características biológicas como o uso de colmeias não selecionadas geneticamente para o aumento da produtividade. Destaca-se que na apicultura comercial é importante que sejam utilizadas rainhas selecionadas geneticamente para alta produção, para obter colmeias populosas e com alta produtividade.

Avaliando-se apenas a produção de própolis, verificou-se menor produção nas colmeias que receberam os coletores CPI e ALM, comparados aos demais métodos (Tabela 1). Como todas as colônias estavam

Tabela 1. Produção média e total de mel (Kg) e própolis (g) em colônias de *Apis mellifera* africanizadas, submetidas a diferentes coletores para colheita de própolis.

Tratamento	CT	CPI	TP	ALM	CA
Mel (Kg)	10,67 ^a	10,31 ^a	9,71 ^a	9,15 ^a	9,96 ^a
Total (Kg)	47,00	50,00	38,00	38,00	45,00
Própolis (g)	6,24 ^a	0,45 ^b	8,61 ^a	0,00 ^b	5,57 ^a
Total (g)	102,00	28,00	135,00	1,00	133,00

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si a 5% de probabilidade (Teste de Mann-Whitney). CT (Controle); CPI (Coletor de Própolis Inteligente); TP (Tela Plástica); ALM (Abertura Lateral de Melgueira) e CA (Calço). (N= 5 colônias).

em um mesmo apiário, a diferença na produção de própolis pode estar relacionada ao tipo de coletor utilizado. A colheita de resinas para a produção da própolis é um instinto natural das abelhas e sua produção pode ser influenciada pelo tipo de coletor, presença de plantas que produzem resinas e também pela genética das abelhas (Lima, 2006; Thimann y Manrique, 2002; Manrique y Soares, 2002b). Destaca-se que as principais plantas presentes na área de estudo são pertencentes às famílias Myrtaceae, Fabaceae-Mimosoideae e Asteraceae, que apresentam potencial para produzir néctar, pólen e resinas durante os meses em que o trabalho foi realizado. Além disso, a região do apiário apresenta vassourinha-do-campo (*B. dracunculifolia*), que é uma reconhecida fonte de resina vegetal. A quantidade média de própolis coletada por uma colmeia pode variar de 150 a 300 g por ano (Thimann y Manrique, 2002). No presente estudo foi observada uma baixa produção de própolis, sendo que este resultado poderia ser explicado pelo fato de que menos de 3% das abelhas campeiras coletam resinas para produzir própolis em períodos de florada (Manrique y Soares, 2002a). Os resultados do presente estudo sugerem também alterações na divisão de trabalho das abelhas em períodos de florada, onde as abelhas campeiras podem se dedicar mais a coleta de néctar para produção de mel, mesmo quando a produção de própolis é estimulada por coletores.

Em relação à viabilidade econômica, verificou-se que a produção de mel foi responsável pela maior renda obtida na comercialização, sendo superior nos tratamentos CPI, CT, CA,

respectivamente, e igual nos tratamentos TP e ALM (Tabela 2). Para a comercialização da própolis, obteve-se maior renda nos tratamentos CA, TP, CT, CPI e ALM, respectivamente (Tabela 2). A própolis comercializada em tiras tem valor de comercialização maior, pois esta não contém impurezas e excesso de cera, como a própolis obtida por raspagem, ou por coletores como a TP. Grande parte dos apicultores tem na colheita de mel sua principal fonte de renda (Senar, 2010), entretanto, os resultados do presente estudo demonstram que induzir a produção de mel e própolis pode contribuir para o aumento da rentabilidade, pois além do mel, o apicultor pode comercializar a própolis obtida em suas colmeias, principalmente quando maior número de colônias é explorado e a área de implantação do apiário apresenta plantas produtoras de néctar e resina, que possibilitam a produção concomitante de mel e própolis.

Variações na flora nectarífera e resinífera podem ocorrer em função das espécies vegetais (Thimann y Manrique, 2002; Almeida *et al.*, 2003), dessa forma, a produção de mel e própolis e, conseqüentemente, a viabilidade econômica, podem sofrer variações locais, sendo importante que o apicultor considere essas informações no momento de realizar o manejo para produção desses produtos. É importante ressaltar também que os colônias utilizados no presente experimento não foram geneticamente selecionados para aumento de produção de mel ou própolis, e sugere-se que variações podem ocorrer em colônias provenientes de programas de seleção genética (Manrique y Soares, 2002a).

Tabela 2. Viabilidade econômica considerando a venda de mel e própolis obtidos em colônias de *Apis mellifera* africanizadas, submetidas a diferentes coletores para colheita de própolis.

Tratamento	CT	CPI	TP	ALM	Calço
Produção total - mel (Kg)	47,00	50,00	38,00	38,00	45,00
Preço/Kg (R\$) ¹	7,20 ^a	7,20 ^a	7,20 ^a	7,20 ^a	7,20 ^a
Renda (R\$)	338,40	360,00	273,60	273,60	324,00
Produção total - própolis (g)	102,00	28,00	135,00	1,00	133,00
Preço/Kg (R\$) ¹	50,00 ^b	100,00 ^c	50,00 ^b	100,00 ^c	100,00 ^c
Renda (R\$)	5,10	2,80	6,75	0,10	13,3
Renda Total (R\$)	343,50	362,80	280,35	273,70	337,30

¹ Preço médio pago ao apicultor em entreposto (valores referentes à comercialização de produtos convencionais em Setembro de 2015). Fonte preços: Breyer & Cia. Ltda. Produtos Naturais e Orgânicos. ^a Mel âmbar ou âmbar claro; ^b Própolis sem impurezas - tipo raspa miúda; ^c Própolis verde em tiras. CT (Controle); CPI (Coletor de Própolis Inteligente); TP (Tela Plástica); ALM (Abertura Lateral de Melgueira) e CA (Calço). (N= 5 colônias).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a instalação de coletores de própolis não influencia a produção de mel, sendo a produção de mel responsável pelo maior retorno econômico durante a safra.

LITERATURA CITADA

- Almeida, D., L. Marchini, G. Sodr , M. D' vila y C. Arruda. 2003. Plantas visitadas por abelhas e poliniza o. ESALQ, Piracicaba, 1a Ed. p. 44.
- Al-Waili, N., A. Al-Ghamdi, M. Ansari, Y. Al-Attal y K. Salom. 2012. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *Int. J. Med. Sci.*, 9:793-800.
- Coelho, M., J. Silva, E. Oliveira, A. Am ncio, N. Silva y R. Lima. 2010. A própolis e sua utiliza o em animais de produ o. *Arch. Zootec.*, 59:95-112.
- Faostat (Food and agriculture organization of the United Nations). 2016. Food and agricultural commodities production. Dispon vel em: <http://faostat3.fao.org/home/E> [Ago. 26, 2016].
- Ishara, K., G. D stro, R. Maimoni-Rodella y Y. Yanagizawa. 2008. Composi o flor stica de remanescente de cerrado sensu stricto em Botucatu, SP. *Revista Brasil. Bot.*, 31(4):575-586.
- Kuropatnicki, A., E. Szliszka y A. Krol. 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 1-11.
- Lima, M. 2006. A produ o de própolis no Brasil. S o Sebasti o Editora e Gr fica Ltda, S o Paulo. 1a Ed. p. 120.
- Manrique, A. y A. Soares. 2002a. In cio de um programa de sele o de abelhas africanizadas para a melhoria na produ o de própolis e seu efeito na produ o de mel. *Interciencia.*, 27(6):312-316.
- Manrique, A. y A. Soares. 2002b. Sele o de abelhas africanizadas para produ o de própolis. *Zootecnia Trop.*, 20(2): 235-246.
- Mandal, M. y S. Mandal. 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 1:154-160.

- Miguel, M. y M. Antunes. 2011. Is propolis safe as an alternative medicine? *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 3:479-495.
- Negrão, A. y R. Orsi. 2016. Harvesting season and botanical origin interferes in production and nutritional composition of bee pollen. *An. Acad. Bras. Ciênc.* (En prensa).
- Senar (Serviço Nacional de Aprendizagem Rural). 2010. *Mel: manejo de apiário para produção do mel*. Senar, Brasília. 2a Ed. p. 80.
- Souza, E., H. Inoue, S. Gomes, S. Funari y R. Orsi. 2010. Propriedade físico-química da própolis em função da sazonalidade e método de produção. *Arch. Zootec.*, 59:571-576.
- Thimann, R. y A. Manrique. 2002. Recolección de propóleos en colonias de abejas africanizadas durante la temporada de lluvias en Guanare, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 20(4):493-499.
- Zar, J. 2010. *Biostatistical Analysis*. Pearson Prentice Hall, New Jersey. 5a Ed.

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 encabezado de columnas debe ser conciso e indicar claramente las unidades que utilizan abreviaturas estándar. Los asteriscos se usarán para mostrar el nivel de significancia estadística de 0,05 (*), 0,01 (**) y 0,001 (***) y deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Para otras llamadas deberán utilizarse otros símbolos. El título del cuadro debe ser concreto y expresar el contenido del mismo. Notas al pie deben utilizarse con moderación y ser concretas. Los cuadros deben ser elaborados utilizando la tabla del programa *Microsoft Office Word®* o *Microsoft Office Excel®* y no deben ser escaneados.
- k) Figuras:** Se entiende por figura cualquier ilustración que se incluya en el trabajo como: gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, dibujos o mapas u otra representación. Estas no deben ser una duplicación de la información de los cuadros. Todas las figuras deben ser citadas consecutivamente en el texto. El título debe colocarse en la parte

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