

Índice

Editorial	5
Evaluación de la composición química y degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de ensilaje mixto con <i>Pennisetum purpureum</i> cv Cuba CT-169: <i>Moringa oleífera</i>	7
<i>Delfín Gutiérrez, Enner Borjas Rojas, Rafael Rodríguez Hernández, Zoraya Rodríguez, René Stuart y Lucía Sarduy</i>	
Influencia de hidróxido de calcio en el consumo de un suplemento activador del rumen basado en banano verde	17
<i>Alejandra Del Viento y José Manuel Palma</i>	
Metabolitos sanguíneos en caprinos alimentados con mezclas integrales frescas con <i>Moringa oleífera</i> : <i>Pennisetum purpureum</i> Clon-OM22	25
<i>Nelson Norberto González González, Delfín Gutiérrez González, Roberto García López y Aníbal Fernández Mayer</i>	
Factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador	37
<i>Diana C. Cedeño Alcívar, Lenin A. Vera Macías, Pablo I. Gavilanes López, Julio V. Saltos Solórzano, Rosanna K. Loor Cusme, José F. Zambrano Ruedas, Francisco M. Demera Lucas, Alex M. Almeida Vera y Juan C. Moreira Palacios</i>	
Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos: revisión	55
<i>Ana Carolina Moncada González, David Villar Argaiz, Jenny Jovanna Chaparro Gutiérrez, Joaquín Angulo Arizala y Liliana María Mahecha Ledesma</i>	
Crecimiento, supervivencia y condición del callo de hacha <i>Atrina maura</i> (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae) en el estero La Piedra, Sinaloa, México	73
<i>Andrés Martín Góngora-Gómez, Juan Antonio Hernández-Sepúlveda, Ana Laura Domínguez-Orozco, Brenda Paulina Villanueva-Fonseca y Manuel García-Ulloa</i>	
Indicaciones para los autores	87

Index

Editorial	5
Evaluation of the chemical composition and <i>in situ</i> ruminal degradability of mixed silage with <i>Pennisetum purpureum</i> cv. Cuba CT-169: <i>Moringa oleifera</i>	7
<i>Delfín Gutiérrez, Enner Borjas Rojas, Rafael Rodríguez Hernández, Zoraya Rodríguez, René Stuart y Lucía Sarduy</i>	
Influence of calcium hydroxide intake of rumen activator supplement based in green banana	17
<i>Alejandra Del Viento y José Manuel Palma</i>	
Blood metabolites in goats fed with fresh integral mixtures with <i>Moringa oleifera</i> : <i>Pennisetum purpureum</i> CLONE-OM22	25
<i>Nelson Norberto González González, Delfín Gutiérrez González, Roberto García López y Aníbal Fernández Mayer</i>	
Factors that affect the hygienic-sanitary quality of raw milk commercialized in Calceta-Bolivar-Manabi, Ecuador	37
<i>Diana C. Cedeño Alcívar, Lenín A. Vera Macías, Pablo I. Gavilanes López, Julio V. Saltos Solórzano, Rosanna K. Loor Cusme, José F. Zambrano Ruedas, Francisco M. Demera Lucas, Alex M. Almeida Vera y Juan C. Moreira Palacios</i>	
Approach to the use of entomopathogenic fungi and vaccines paragraph sustainable control of ticks in farming systems: review	55
<i>Ana Carolina Moncada González, David Villar Argaiz, Jenny Jovanna Chaparro Gutiérrez, Joaquín Angulo Arizala y Liliana María Mahecha Ledesma</i>	
Growth, survival and condition of the pen shell <i>Atrina maura</i> (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae) in La Piedra estuary, Sinaloa, México	73
<i>Andrés Martín Góngora-Gómez, Juan Antonio Hernández-Sepúlveda, Ana Laura Domínguez-Orozco, Brenda Paulina Villanueva-Fonseca y Manuel García-Ulloa</i>	
<i>Instructions for authors</i>	95

Editorial

En la mayoría de los foros académicos sobre producción de alimentos es común escuchar las predicciones sobre la necesidad futura de la obtención de alimentos; todos aquellos que de alguna manera u otra estamos inmersos en esta actividad, lo tomamos como un importante reto.

Muestra de ello, es la XLII reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal (AMPA 2015) celebrada en Montecillos, Texcoco, Estado de México (México); en donde se planteó y mostró, dentro de su evento, el tema “Experiencias exitosas en ganadería y seguridad alimentaria”, cuyo objetivo consistió en la presentación de información acerca de los sistemas de producción animal, atendiendo la participación social, seguridad alimentaria, sustentabilidad y eficiencia, para cubrir la demanda de la sociedad con productos de origen animal, de calidad e inocuos.

Asimismo, por su parte, la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA 2015), en su XXIV congreso celebrado en Puerto Varas (Chile), en este mismo año, consideró el análisis de los desafíos de la ciencia animal para el abastecimiento, en forma sustentable, de una demanda creciente de alimentos.

Esta demanda de suministros alimentarios, debido al crecimiento poblacional, obliga a tener una mayor producción primaria asociada al cuidado del ambiente, la generación de alimentos sanos en épocas en donde el cambio climático es un paradigma de gran trascendencia.

Sin embargo, es preciso señalar también que existe el enfoque de la optimización de alimentos, puesto que es conocido que un tercio de los alimentos producidos se desperdician; esta cadena de despilfarro se origina desde el rancho, la finca, la parcela y continúa hasta el consumidor final; diferentes factores influyen en ello, el hecho existe y es grave, dado que además existe un derroche en el uso de la tierra, el agua y la energía que implica la producción de estos alimentos.

En este mundo dicotómico y paradójico en el que vivimos —pocos ricos y muchos pobres, obesidad y malnutrición, desperdicio de alimentos *vs.* necesidades básicas alimentarias— como planeta, enfrentamos nuevamente crisis globales; por lo tanto, en nuestro ámbito podemos actuar a favor de encontrar respuestas a ello.

Pondré un muy buen ejemplo, que se presentó en la XLII reunión de AMPA 2015: por primera vez participaron en esta asociación los colegas de acuicultura; quienes, además de intervenir en un interesante simposio con varias conferencias sobre la temática

—a través de integrantes del Colegio de Posgraduados (Campus Veracruz)— llevaron a Texcoco (Estado de México), ejemplares de peces para realizar su venta.

Fue todo un reto científico, social, económico, pues tuvieron que sortear diferentes limitantes en su logística, para que tuvieran las siguientes condiciones necesarias para su instalación: un estanque de geomembrana que contuviera a las tilapias, el traslado de los peces desde su hábitat hasta otro espacio distinto (de 600 a 2,220 msnm), adaptar sus aireadores, proveer de alimento para los animales, el adecuado manejo del agua, entre otros avatares; pero que, finalmente, pudieron resolver con gran satisfacción estos entusiastas acuacultores; y con ello, ofrecernos (a los participantes) la oportunidad de comprar pescado fresco e, inclusive, deleitarnos no sólo con su sabor al freírlos y aderezarlos únicamente con sal, sino también de una amena charla. Varios de quienes asistimos, disfrutamos de esta agradable experiencia y compartimos, además, la alegría de los colegas por el éxito obtenido.

Al vivir tal experiencia, fue inevitable que me “transportara” a la época prehispánica; inclusive, me imaginé cómo la realeza azteca disfrutaba sus alimentos que recibían desde Veracruz (Golfo de México) hasta la gran Tenochtitlan; se dice que los pescados llegaban frescos y eran preparados al momento (gracias a que contaban con el servicio postal y de transporte más veloz del mundo, según la conocida información histórica).

Desde este espacio editorial, me congratulo en reconocer y felicitar a estos modernos cargadores (“tamemes”, *tlameme* en náhuatl), quienes utilizaron su vanguardista *mecapal* (cuerdas apoyadas en la frente para sostener armazones y llevar sus cargas en el recorrido entre las veredas) al haber hecho posible semejante travesía; y que, además, promueven esta actividad desde la propia academia, con planteamientos que hacen viable la producción animal. Y con ello, contribuir en buena medida, con el planteamiento inicial de este editorial: de ayudar a paliar la carencia de insumos alimentarios en lugares diferentes a donde se producen.

Ojalá cunda esta idea entre los integrantes de los diversos sectores científicos implicados (nacionales y del extranjero), para que se replique en el futuro en distintos sitios de México y de otras latitudes del orbe; ya que esto es lo que se persigue para el futuro, mediante una visión democrática: tener más y mejores productos alimentarios para todos.

Gracias, estimados colegas acuacultores, por compartir los alimentos.

¡Enhorabuena por esta excelente iniciativa!

José Manuel Palma García
Director, Rev. AIA

Evaluación de la composición química y degradabilidad ruminal *in situ* de ensilaje mixto con *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: *Moringa oleifera*

Evaluation of the chemical composition and *in situ* ruminal degradability of mixed silage with *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-169: *Moringa oleifera*

Delfín Gutiérrez,* Enner Borjas Rojas, Rafael Rodríguez Hernández, Zoraya Rodríguez, René Stuart y Lucía Sarduy

Instituto de Ciencia Animal (ICA)
Apartado Postal 24
San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
*Correspondencia: delfin@ica.co.cu

Resumen

Con el objetivo de evaluar la composición química y degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca (MS) en ensilaje mixto del tipo presecado con la inclusión del *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169 y forraje arbóreo de *Moringa oleifera* cv Supergenius, se realizó este estudio. Para su desarrollo, se utilizaron microsilos construidos con tubos de PVC. Los tratamientos se distribuyeron al azar, constituidos por tres combinaciones de *Pennisetum:Moringa* (80:20, 60:40, 40:60 %/peso base húmeda (BH⁻¹)), dos microsilos con el 100% de los forrajes utilizados y 10 repeticiones por tratamiento. Finalizado el período de fermentación (62 d), se determinó la composición química (MS, MO, PB, FDN, ceniza) y degradabilidad ruminal *in situ* de la MS. Los resultados presentaron variaciones conforme a la participación creciente

Abstract

This study was carried out in order to evaluate the chemical composition and *in situ* ruminal degradability of dry matter in mixed pre-dried silages with the inclusion of *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169 and tree forage of *Moringa oleifera* cv Supergenius. For the development of this study, micro-silos built from PVC pipes were used. The treatments were distributed completely at random, formed by three combinations of *Pennisetum:Moringa* (80:20, 60:40, 40: 60 % / HB weight), two microsilos with 100% of the used forage, and ten repetitions per treatment. After the fermentation period (62 d), chemical composition (DM, OM, CP, NDF, ash) and *in situ* ruminal degradability of DM were determined. The results of the chemical composition and ruminal degradation of DM showed variations in accordance with the

de la moringa en el ensilaje; en lo que respecta a la concentración de PB la combinación con 60% moringa logró el mejor valor (19.47%, $P < 0.0001$) y menor de FDN (55.98%, $P < 0.0001$). Los parámetros (a, b, a+b) generados por el modelo matemático de degradación indicaron efectos significativos ($P < 0.0001$), donde el 60% de moringa en la mezcla mixta alcanza el valor más elevado de degradación de la MS (69.79%), sólo superado por 100% moringa (71.21%). Se concluye que la combinación de *Pennisetum:Moringa* (40:60%) de en ensilaje mixto, mejoró el valor nutritivo de la mezcla en lo referente a la concentración PB, disminución de la FDN y alta degradación de la materia seca; práctica que indica una opción viable de conservación para forrajes arbóreos combinado con gramíneas tropicales.

Palabras clave

Ensilaje, degradabilidad ruminal, presecado.

increased involvement of Moringa in the silages, regarding the concentration of CP, although the level with 60% of Moringa reaches the highest value of CP (19.47%, $P < 0.0001$) and the lowest of NDF (55.98%, $P < 0.0001$). The parameters (a, b, a+b) generated by the mathematical model of degradation indicate significant effects ($P < 0.0001$) and where the 60% of Moringa in the mixture reaches the highest value of DM degradation (69.79%), only surpassed by 100% of Moringa (71.21%). It can be concluded that the combination of *Pennisetum:Moringa* (40:60%) in mixed silage improves the nutritional value of the mixture regarding CP concentration, decrease of NDF and high degradation of DM. This indicates a viable option of conservation for tree forage combined with tropical grasses.

Key words

Silage, ruminal degradability, pre-dried.

Introducción

Por su naturaleza como potencial forrajero y distribución natural, muchas especies arbóreas y arbustivas en condiciones tropicales son utilizadas como componentes multipropósito (Toral, 2005). Recurso que implica ventajas en la alimentación ganadera y que constituye una opción necesaria a desarrollar en el presente y futuro de la región tropical. Su biomasa es utilizada en pastoreo, corte y acarreo en numerosas prácticas de producción ganaderas y en especies de rumiantes; además de constituir la base de numerosos protocolos y acciones específicas de centros de investigación. El forraje de arbóreas es utilizado en los sistemas de alimentación siempre con la óptica de lograr rentabilidad y sostenibilidad de los sistemas, en armonía con el medio ambiente; elementos que justifican su aplicación tecnológica tanto en la región tropical como a nivel nacional, y como forma de disminuir dependencia de fuentes foráneas de alimentos destinados a cubrir requerimientos de los animales (Ojeda *et al.*, 2006).

En correspondencia con lo anterior, se plantea por numerosos investigadores (Hernández *et al.*, 1998; Suárez *et al.*, 2011), que existen árboles caducifolios que pierden sus hojas ya sea por la floración o por la época del año; por lo que es conveniente aprovechar esta biomasa producida y evitar, mediante el corte, la caducidad de las hojas; lo que permite disponer de forraje conservado y rebrotes durante la época de seca.

Esta problemática no está resuelta, y —según lo planteado por Ojeda *et al.* (2006)— existe en la actualidad una tendencia a dejar perder parte del potencial productivo de

estos sistemas agroforestales, aun cuando se conocen tecnologías apropiadas capaces de enmendar la situación. Una forma de conservación del material con calidad, sería la producción de ensilajes mixtos con base de gramíneas tropicales y plantas arbóreas, material que permitiría incrementar el contenido de nutrientes, aprovechar la fermentabilidad y el volumen producido de masa verde por las gramíneas (Francisco *et al.*, 1998).

Por ello, el objetivo de este estudio consiste en caracterizar la composición química y degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca, en ensilaje mixto presecado producido con los forrajes *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: *Moringa oleífera* cv Supergenius.

Materiales y métodos

Localización: El trabajo se desarrolló durante 2012 (abril-mayo), en el Departamento de Manejo y Alimentación de Rumiantes, perteneciente al Instituto de Ciencia Animal (ICA), municipio de San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba. El mismo se encuentra ubicado entre el 22° 58' latitud norte y los 82° 02' longitud oeste y a 80 m sobre el nivel del mar.

Especies cosechadas: las plantas forrajeras utilizadas fueron *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: *Moringa oleífera* cv Supergenius, de 20 y 45 días edad, respectivamente; plantas cultivadas en las áreas forrajeras de la finca "El Canal", perteneciente a la CCSF "José Antonio Echeverría" y rancho Magayal, el cual pertenece a la empresa para la protección de la flora y la fauna; ubicados en el municipio Cacocum, provincia Holguín.

Procedimiento experimental: organizados mediante un diseño totalmente aleatorizado, se utilizaron tres combinaciones de *Pennisetum: moringa* (80:20, 60:40, 40:60 %/peso BH), dos microsilos con el 100% de los forrajes utilizados y diez repeticiones por tratamiento.

Elaboración del ensilaje: la totalidad de los forrajes fueron cosechados de forma manual, acarreados y troceados en un molino forrajero (marca JF-50, Brasil) hasta alcanzar tamaño de partícula de 2–3 cm, material que se tendió al sol en una superficie plana, con escurrimiento hasta lograr disminuir la humedad para aproximarse al 30 % de MS (9 horas) (Michelena y Molina, 1990), momento en que se inició la elaboración de los microsilos, según la metodología propuesta por Reyes *et al.* (2008).

Las diferentes combinaciones de forrajes, una vez mezcladas, se introdujeron por capas y compactadas para expulsar el aire, utilizando para ello un pisón. También se usaron microsilos elaborados en tubos de PVC (24 x10 cm), y con capacidad para 450 g de masa verde. Finalizado el proceso de llenado de cada microsililo, se tapó y se selló herméticamente con una tapa y cinta de seguridad (para evitar la entrada de aire) y se almacenó en un local fuera del alcance de roedores y otras fuentes de peligro.

Concluido el tiempo prefijado de fermentación (62 días posteriores a su elaboración), se procedió a abrir los silos, pesar el producto final y determinar el aporte de materia seca, momento seleccionado para extraer una muestra aleatoria de aproximadamente 180 g de cada microsililo, para determinar análisis de laboratorio.

Indicadores químicos: a las muestras del material original y ensilado se les realizó análisis químico proximal. Para la materia seca, la muestra se mantuvo en una estufa a 60°C

durante 48 horas, hasta alcanzar un peso constante. La proteína bruta se estimó por el método de Kjeldahl (AOAC, 2005), la fibra en detergente neutra (FDN) se utilizó en una solución neutro detergente (Goering y Van Soest, 1970). La totalidad de los análisis se realizaron en los Laboratorios de Servicios Analíticos del ICA (LASAICA) (cuadro 1).

Cuadro 1
Valores medios de la composición química (% MS) del material empleado.

<i>Planta</i>	<i>MS (%)</i>	<i>PB (%) (N x 6.25)</i>	<i>FDN %</i>	<i>Cenizas %</i>
<i>Pennisetum purpureum</i>	17.22	8.98	62.20	nd
<i>Moringa oleífera</i>	19.42	22.78	52.65	15.21

MS=Materia seca; PB= Proteína bruta; FB=Fibra en detergente neutra; nd = no se determinó.

Método de degradación ruminal: se utilizó la técnica de bolsas de nylon (Mehrez y Ørskov, 1977), mientras que los parámetros de degradación *in situ* se estimaron con el modelo propuesto por Ørskov y McDonald (1979) modificado por McDonald (1981). Se utilizaron un total de 120 bolsas de dacrón (17 x 4 cm), porosidad de 50 μm , con 5 g del material ensilado molido (2 mm), incubadas en rumen por duplicado y en el orden inverso al tiempo de incubación (72, 48, 24, 16, 8, 0 h), para ser retiradas todas en una sola ocasión (Nocek y Russell, 1988).

Para ello, se utilizó una hembra bovina (Holstein x Cebú), fistulada en rumen, peso vivo 475 kg y alojada en un cubículo individual, la que se alimentó con forraje de gramíneas *ad libitum* y concentrado comercial vacuno que contenía 65% trigo, 30% soya, 2.40% de Zeolita, 1% sal común, 1% sales minerales, 0.60% de fosfato, el cual se ofertó a razón de 6 g kg.PV⁻¹ y en una sola ocasión (08:30 horas).

Análisis estadístico: a los resultados alcanzados se le realizó ANOVA; y, en caso necesario, para establecer diferencia entre medias dócima de Duncan (1955) para un nivel de significación ($P < 0.05$). La totalidad de los datos se procesaron a través del paquete estadístico INFOSTAT (Balzarini *et al.*, 2012); mientras que para determinar ajuste de los parámetros del modelo y criterios estadísticos, se utilizó el programa NEWAY v-5 WINDOWS® (Chen, 1997).

Resultados

La composición química de los ensilajes mixtos (*Pennisetum:Moringa*), con respecto al control (100% *P. purpureum*) mostró valores bajos y diferentes estadísticamente ($P < 0.0001$) en lo que respecta a la concentración de la MS; así como un crecimiento significativo ($P < 0.0001$) en el contenido de proteína conforme se incrementó la proporción de moringa en la mezcla, aunque dentro de las mezclas mixtas el 60% de inclusión de moringa alcanzó el valor más alto, similar comportamiento ocurrió con la materia orgánica; mientras que la FDN y ceniza disminuyeron (cuadro 2).

Cuadro 2
Composición química (% MS) de los microsilos elaborados
a base diferentes niveles de *Pennisetum purpureum*: *Moringa oleífera*.

<i>Proporción Pennisetum:Moringa</i>	<i>MS, %</i>	<i>PB, %</i>	<i>FDN, %</i>	<i>C, %</i>	<i>MO, %</i>
100 % <i>Pennisetum</i>	31.98 ^b	13.66 ^a	68.15 ^c	21.33 ^b	78.66 ^{ab}
80:20	27.70 ^a	17.29 ^b	60.46 ^b	21.22 ^b	78.80 ^b
60:40	27.28 ^a	18.52 ^c	55.41 ^a	21.74 ^b	78.19 ^a
40:60	27.76 ^a	19.47 ^d	55.98 ^a	19.82 ^a	80.39 ^c
100 % <i>Moringa</i>	26.60 ^a	20.71 ^e	59.99 ^b	19.66 ^a	80.33 ^c
± EE	0.57	0.20	0.64	0.21	0.18
Sign.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

Letras diferentes en la misma columna difieren para Duncan $P < 0.05$; ± Error estándar.

MS=Materia seca; PC= Proteína bruta; FDN=Fibra en detergente neutro; C= ceniza; MO= materia orgánica.

Adicionalmente, el análisis de varianza de la degradabilidad ruminal de la MS, de forma general, arrojó que la participación progresiva de la moringa en la mezcla provocó efectos significativos ($P < 0.0001$) sobre los parámetros (a, b, a+b) generados por el modelo; aunque los valores promedios más altos de la fracción (b) y degradabilidad potencial (a+b) se presentan con el 60% de moringa en la mezcla, sólo separado por el 100% moringa ensilada.

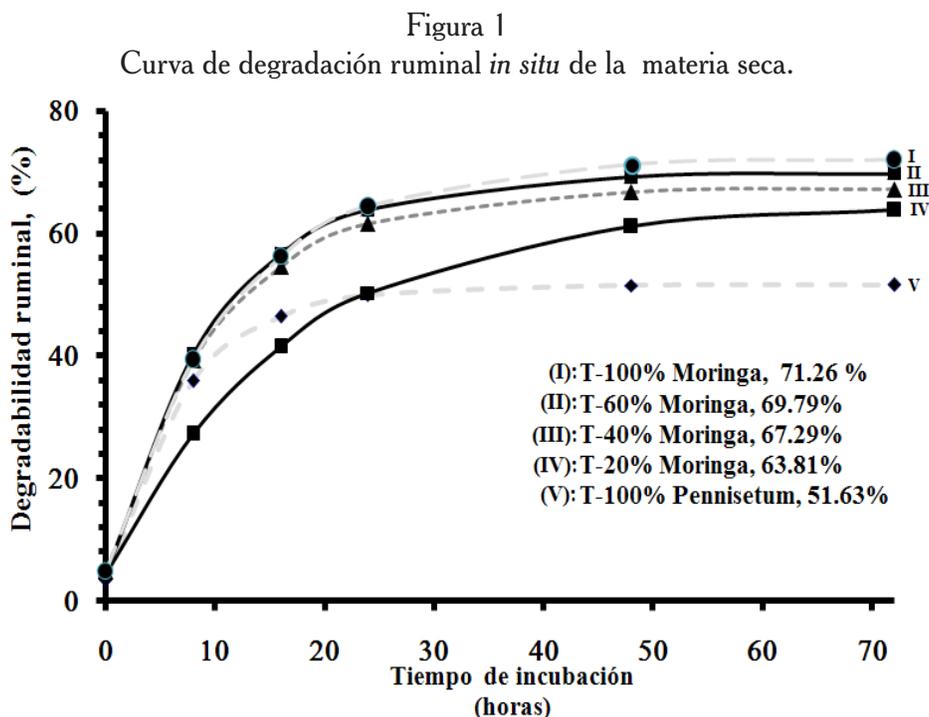
Por su parte, la degradabilidad efectiva tuvo una tendencia similar en los ensilados de moringa, con valores que oscilaron desde 83.30, 80.45, 78.34 y 78.87%, según niveles de inclusión (20, 40, 60, 100%) de la arbórea, respectivamente (cuadro 3). También se encontró que durante la dinámica de degradación ruminal de la MS pasadas las 48 horas de incubación, los ensilados con participación de moringa presentaron una tendencia a la estabilización, y donde el 60% de moringa en la mezcla mixta, a las 72 h, alcanza el valor más elevado de degradación de la MS (69.79%), sólo superado por el 100% de moringa (71.21%) (figura 1).

Cuadro 3
Indicadores de degradación ruminal de la materia seca.

Tratamientos	a, %	b, %	a+b, %	DE, k=0.02
100 % Pennisetum	3.46 ^a	48.17 ^a	51.41 ^a	53.10 ^a
80 % Pennisetum: 20 % Moringa	4.40 ^b	60.21 ^b	64.60 ^b	83.30 ^b
60 % Pennisetum: 40 % Moringa	4.80 ^c	62.51 ^c	67.30 ^c	80.41 ^b
40 % Pennisetum: 60 % Moringa	4.39 ^b	65.45 ^d	69.82 ^d	78.34 ^b
100 % Moringa	4.89 ^c	67.27 ^e	72.06 ^e	78.87 ^b
EE±	0.08	0.29	0.33	4.96
Sign.	0.0001	0.0001	0.0001	0.0118

Letras diferentes en la misma columna difieren para Duncan $P < 0.05$; ± Error estándar.

a) Fracción soluble para $t=0$, (b) fracción insoluble pero potencialmente degradable, (a+b) fracción potencial de degradación, (DE) degradación efectiva calculada para una tasa fraccional de pasaje $0.02h^{-1}$.



Fuente: según modelo matemático propuesto por Ørskov y McDonald (1979).

Discusión

Al utilizar el contenido de materia seca, como indicador controlador de la calidad del proceso fermentativo (Vallejo, 1995), los valores obtenidos en este estudio sobrepasan el 25% de lo señalado por McDonald (1981), Boschini y Elizondo (2003), Huertas y Polo (2007), quienes refieren a este indicador como el de mayor interacción en los procesos de preservación, por los efectos restrictivos que ejercen en el crecimiento de los microorganismos; así como que intervine en la disminución de las pérdidas por efluentes, responsable de las pérdidas por respiración, del predominio de las bacterias ácido-lácticas, estrecha relación pH óptimo (3.9) y como factor necesario para la conservación del forraje ensilado por un periodo largo, variación que confirma cambio en la concentración de la MS durante la conservación.

De modo que el material ensilado en este estudio logra la categoría de excelente para ensilaje mixto con gramíneas tropicales y arbóreas, con valores de MS alrededor del 27%, según el sistema de evaluación de calidad desarrollado en Cuba por Wernlin y Ojeda (1992).

Los valores proteicos estuvieron en correspondencia con la participación y nivel de inclusión de la arbórea en la mezcla, lo que corrobora lo enunciado por numerosos autores (Cárdenas *et al.*, 2003; Pinto *et al.*, 2010), quienes refieren que la incorporación de la arbórea mejora la calidad, incrementa los niveles de proteína, carbohidratos fermentables y la conservación.

Los valores alcanzados en este estudio superan lo informado (> 11.0% PB) por Kato *et al.* (2006) en ensilajes de maíz mezclado con *Leucaena leucocephala*, *Acacia boliviana* y en diversas proporciones con *Morus alba*, por Santana (2000), en ensilajes mixtos con leucaena y gliricidia con King grass; ambos con alrededor del 12.0% PB, Pinto *et al.* (2010) en mezclas del *Pennisetum purpureum* con diferentes niveles de inclusión (20, 40, 60, 80%) con la *Leucaena leucocephala* (9.4 vs. 16.0% PB), *Guazuma ulmifolia* (8.0 vs. 12.6 % PB) y *Gliricidia sepium* (9.6 vs. 15.0% PB), así como lo enunciado por Alpízar *et al.* (2014) (11.51% PB) en mezclas ensiladas con 75% de morera:sorgo, y Gutiérrez *et al.* (2014) en ensilajes con *Tithonia diversifolia*: *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-169 de 8.0, 11.0, 14.0 y 17.0% PB, para niveles de inclusión del 20, 40, 60 y 80% de *Tithonia* en la mezcla, respectivamente.

Incluso, superiores a lo logrado por Mendieta-Araica *et al.* (2009) y Rodríguez (2010), al utilizar la planta entera de moringa, y sólo el follaje (hojas y tallos tiernos), con concentraciones promedio de 144 g kg⁻¹ MS. Lo alcanzado parece estar asociado con un aumento de la solubilidad de la pared celular, mayor disponibilidad de nutrientes (compuestos nitrogenados, energía), elementos que favorecen la proteólisis como resultado del incremento de la actividad enzimática de los microorganismo.

Este aumento en los valores de PB también pudo estar ligado al tipo de ensilaje (pre-secado), práctica de conservación que contribuye al incremento de la concentración del nitrógeno amoniacal y carbohidratos solubles; además de reducir la desaminación de los aminoácidos, elementos indispensables para lograr el éxito en los ensilajes (Michelena *et al.*, 2002; Ruiz *et al.*, 2009).

Las características de la cinética de degradación ruminal de la MS, en este estudio, mostró valores bajos para la fracción (a), la que pudiera atribuirse (aunque no determinadas), por las diferencias en el contenido de carbohidratos solubles o no estructurales de las mezcla (Pulido y Leaver, 2000); sin embargo, es necesario destacar que los valores máximos de degradación potencial en los ensilajes con participación de moringa, resultan similares a los valores reportados por Gutiérrez *et al.* (2013), de 65.10% con la planta sola, y edad similar a la de este estudio (60 días); lo que afirma que esta especie posee una pared celular que se degradan rápidamente, que puede ser utilizada por los microorganismos ruminales durante la digestión como fuente proteica y energética, y que los factores anti-nutricionales de la moringa no deben ser considerados de importancia como para afectar su digestibilidad (Reyes, 2004).

De igual modo, se observó que la dinámica de degradación ruminal parece corresponderse con la composición química de las mezclas y la inclusión de moringa, referido al incremento en la concentración de proteína y menor contenido de fibra, nutrientes beneficiosos para garantizar la actividad de los microorganismos ruminales (La O *et al.*, 2006), en comparación con el ensilado de *Pennisetum* solo. Elementos que parecieron condicionar una rápida degradación y aumento progresivo de la desaparición del material durante el tiempo incubación, con valores de degradación para la MS a las 72 h, superior al 60%; valor que, según Delgado *et al.* (2002), justifica la posibilidad de utilización de estas mezclas ensiladas en rumiantes.

Es preciso señalar que a pesar de la similitud alcanzada en los resultados de degradación efectiva con la participación de la moringa en la mezcla, en general, lo logrado parece estar asociado a la calidad de los forrajes utilizados, su alta concentración de amonio en el rumen, como elemento que debió contribuir al crecimiento de las poblaciones microbiana y su actividad ruminal (Souza *et al.*, 2002).

Conclusiones

La combinación del 40% de *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: 60% *Moringa oleifera* cv Supergenius en ensilaje mixto, mejora el valor nutritivo de la mezcla, en lo referente a la concentración PB, disminución de la FDN y alta degradación de la materia seca; práctica que indica una opción viable de conservación para forrajes arbóreos combinado con gramíneas tropicales.

Agradecimientos

Esta investigación agradece al proyecto “Obtención de productos que incrementen la disponibilidad y eficiencia de utilización de la proteína en rumiantes alimentados con dietas fibrosas”, perteneciente al Instituto de Ciencia Animal (ICA). A Cuba, por incluir el protocolo en los estudios básicos de la línea de investigación.

Literatura citada

- Alpizar, A.; Camacho, M.I.; Sáenz, C.; Campos, M. E.; Arece, J. y Esperance, M. (2014). Efecto de la inclusión de diferentes niveles de morera (*Morus alba*) en la calidad nutricional de ensilajes de sorgo (*Sorghum alnum*). *Rev. Pastos y Forrajes*. 37(1): 55-60.
- AOAC. (2005). *Association of Official Analytical Chemistry*. International Official Methods of Analysis. 15th Ed. The Association of Official Analytical Chemists: chapter Washington. U.S.A. 684 pp.
- Balzarini, G.M.; Casanoves, F.; Di Rienzo, J.A.; González, L.A. y Robledo, C.W. (2012). *InfoStad. Software estadístico. Manual del usuario*. Versión 1. Córdoba, Argentina.
- Boschini, C. y Elizondo, J. (2003). *Curso teórico y práctico de ensilaje de forrajes*. Serie Agrotecnológica 1. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 3-29 pp.
- Cárdenas, M. J.; Sandoval, C. J. y Solorio, F. J. (2003). Composición química de ensilajes mixtos de gramíneas y especies arbóreas de Yucatán, México. *Técnica Pecuaria en México*. 41(3): 283-294.
- Chen, B. (1997). *NEWAY version 5.0. A utility for processing data of feed degradability in vitro*. Rowett Research Institute. Aberdeen, Escocia. 29 pp.
- Delgado, D.; La O, O. y Santos, Y. (2002). Determinación del valor nutritivo del follaje de dos árboles forrajeros tropicales: *Brosimum alicastrum* y *Bauhini agalpinii*. *Rev. Cubana. Ciencia Agrícola*. 36(4): 391-395.
- Duncan, D.B. (1955). Multiple range and multiple F-tests. *Biometrics. Jour. Exp. Botanic*. 11:1-42.
- Francisco, G.; Simón, L. y Soca, M. (1998). Efecto de tres alturas de corte en el rendimiento de biomasa de *Leucaena leucocephala* cv. CNIA-250. *Rev. Pastos y Forrajes*. 21(4).
- Goering, H. K. y Van Soest, P.J. (1970). *Forage Fiber Analysis*. Agricultural Handbook, US. Department of Agriculture, No. 379. Washington. USA. p. 20.
- Gutiérrez, D.; Morales, A.; Elías, A.; García-López, R. y Sarduy, L. (2014). Composición química y degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca en ensilajes mixtos *Tithonia diversifolia*: *Pennisetum purpureum* cv. Cuba CT-169, inoculados con el producto biológico VITAFERT. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 48(4): 379-385.
- Gutiérrez, P.; Rocha, L.; Reyes-Sánchez, N.; Paredes, V. y Mendieta-Araica, B. (2013). Tasa de degradación ruminal de follaje de *Moringa oleifera* en vacas Reyna usando la técnica *in sacco*. *La Calera*. 12(18): 37-44.
- Hernández, I.; Benavides, J. E. y Simón, L. (1998). Manejo de defoliaciones de *Leucaena leucocephala* para la producción de forraje en el periodo seco en Cuba. Efecto de podas únicas en el rendimiento, la tasa de crecimiento y las variables gasométricas. *Rev. Pastos y Forrajes*. 21(3).
- Huertas, J. C. y Polo, E. A. (2007). Efecto de la adición morera (*Morus alba*) sobre la calidad del ensilaje de pasto *Pennisetum purpureum* OM.22. *Rev. PROMEGA. Panamá*. 4: 11.
- Kato, H.; Bareeba, F. B.; Ebong, C. y Sibiiti, E. (2006). Ensiling characteristics and milk producing capacity of browse/maize forage mixtures. *Livestock Research and Rural Development*. 18:6.
- La O, O.; Chongo, B.; Delgado, D.; Ruiz, T. y Ruiz, O. (2006). Fraccionamiento proteico y digestión de nutrientes de siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Rev. Cubana Ciencia Agrícola*. 40(3): 315-320.
- McDonald, I.M. (1981). A revised model for the estimation of protein degradability in rumen. *J. Agric. Sci.* 96(1): 251-252.
- McDonald, P. (1981). *The biochemistry of silage*. John Wiley and Sons. New York. USA. 226 pp.
- Mehrez, A. Z. y Ørskov, E. R. (1977). The use of a dacron bag technique to determine rate of degradation of protein and energy in the rumen. *J. Agric. Sci. Camb.* 88(3): 645-650.
- Mendieta-Araica, B.; Spöndly, E.; Reyes-Sánchez, N. y Spöndly, R. (2009). Silage quality when *Moringa oleifera* is ensiled in mixture with Elephant grass, sugar cane molasses. *Grass and Forage Science*. 64: 364-373.
- Michelena, J. B. y Molina, A. (1990). The effect of time of sun exposure of King grass (hybrid *Pennisetum*) on silage quality. *Cuban J. Agric. Sci.*, 24(2): 219-224.
- Michelena, J. B.; Senra, A. y Fraga, C. (2002). Effect of formic acid, propionic acid and predrying on the nutritive value of king grass (*Pennisetum purpureum*), silage. *Cuban J. Agric. Sci.* 36(3): 241-346.

- Nocek, J. E. y Russell, J. B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy. Sci.* 71(8): 2070-2107.
- Ojeda, F.; Montejo, I. y López, O. (2006). Estudio de la calidad fermentativa de la morera y hierba de guinea ensilada en diferentes proporciones. *Revista Pastos y Forrajes*. 29(2): 1-9.
- Ørskov, E. R. y McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*. 92(02): 499-503.
- Pinto, R.; Hernández, D.; Guevara, F.; Gómez, H.; Medina, F.; Hernández, A.; Jiménez, J.; Alfonso, E.; Mendoza, P. y Ruiz, B. (2010). Preferencia de ovinos por el ensilaje de *Pennisetum purpureum* mezclado con arbóreas forrajeras tropicales. *Livestock Research for Rural Development*. 22(6).
- Pulido, R. y Leaver, J. D. (2000). Degradabilidad ruminal del forraje disponible en la pradera y el aparentemente consumido por vacas lecheras. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 35(5): 1003-1009.
- Reyes, N. (2004). *Marango: cultivo y utilización en la alimentación animal*. Guía técnica No. 5. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 23 pp.
- Reyes, N.; Mendieta, B.; Fariñas, T. y Mena, M. (2008). Elaboración de microsilos para los ejercicios de descubrimiento y experimentación en fincas. En: *Guía de suplementación alimenticia estratégica para bovinos en época de seca*. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua, 63 pp.
- Rodríguez, R. (2010). *Estudio in vitro del valor nutritivo y de los efectos antinutricionales de cuatro leguminosas arbóreas tropicales con potencialidades como suplemento del Pennisetum purpureum (cv. CUBA CT-115)*. Tesis de doctorado. Medicina Veterinaria. Zaragoza, España.
- Ruiz, B.O.; Castillo, Y.; Anchondo, A.; Rodríguez, C.; Beltrán, R.; La O, O. y Payan, J. (2009). Efectos de enzimas e inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. *Archivos de Zootecnia*. 58(222): 163-172.
- Santana, A. (2000). *Mejoramiento del valor nutritivo de los ensilajes tropicales mediante mezclas de gramíneas y leguminosas*. Tesis de doctorado. Universidad Granma. Cuba.
- Souza, M. S.; Ezequiel, J. M. B.; Júnior, P. R. y Malheiros, E. B. (2002). Efeitos de fontes nitrogenadas com distintas degradabilidades sobre o aproveitamento da fibra, do nitrogênio e do amido em Rações para Bovinos. *Rev. Bras. Zootec.* 31(5): 2139-2148.
- Suárez, R.; Mejía, J.; González, M.; García, D. E. y Perdomo, D. A. (2011). Evaluación de ensilajes mixtos de *Saccharum officinarum* y *Gliricidia sepium* con la utilización de aditivos. *Rev. Pastos y Forrajes*. 34(1): 69-86.
- Toral, O. (2005). La utilización del germoplasma arbóreo forrajero. En: *Silvopastoreo: un nuevo concepto del pastizal*. EEPF Indio Hatuey. Matanzas, Cuba. 267 pp.
- Vallejo, M. A. (1995). *Efecto del premarchitado y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales*. Tesis de maestría. CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- Wernlin, C. y Ojeda, F. (1992). Research methodology for silage conservation and utilization. En: *Ruminant nutrition research. Methodological guidelines*. San José, Costa Rica. Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture. 350 pp.

Recepción: 30 de julio de 2014

Envío arbitraje: 29 de septiembre de 2014

Dictamen: 21 de octubre de 2014

Aceptación: 20 de noviembre de 2015

Influencia de hidróxido de calcio en el consumo de un suplemento activador del rumen basado en banano verde

Influence of calcium hydroxide intake of rumen activator supplement based in green banana

Alejandra Del Viento² y José Manuel Palma^{*1,2}

¹Centro Universitario de Investigación Agropecuaria (CUIDA)
Universidad de Colima

Tecomán, Colima, México.

²Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria (MIPPE)

Universidad de Colima

Tecomán, Colima, México.

*Correspondencia: palma@uol.mx

Resumen

Con el objetivo de evaluar el nivel de inclusión de hidróxido de calcio (cal) en el consumo de un Suplemento Activador de Rumen (SAR) basado en banano verde, se utilizaron 12 bovinos de 264 ± 55 kg de peso vivo en estabulación. El ensayo tuvo una duración de 21 días, donde se estudió la inclusión de 0; 3; 6 y 9% de cal como restrictor de consumo del SAR y se evaluó la dinámica de consumo (g/tratamiento/día), consumo del SAR (g/animal/día) y tiempo invertido en el consumo; estas dos últimas variables, así como la frecuencia de consumo fueron evaluadas por ocho horas seguidas en los últimos cinco días del experimento. En el consumo, la menor ingestión fue para los tratamientos con restrictor (3; 6 y 9 % de cal) con relación al control (0%) con valores de 36b, 27b, 30b y 120a g/animal/día ($P < 0.001$),

Abstract

The objective of this study was to evaluate the level of inclusion of calcium hydroxide (lime) in the intake "Supplement Rumen Activator" (SAR) based on green banana. 12 cattle 264 ± 55 kg of live weight in confinement were used. The experiment lasted 21 days, where the inclusion of lime in the SAR was of 0; 3; 6 and 9% lime as intake restrictor. Was evaluated consumer dynamics (g/treatment/day), consumption SAR (g/animal/day) and time spent on consumption (sec), the latter two variables were evaluated for eight hours in the last five days of the experiment. In the dynamics of consumption was the lowest intake restrictor for treatments (3; 6 and 9% lime), relative to the control (0 %) with values 36b, 27b, 30b and 120a g/animal/day ($P < 0.001$) average in 21 days and last five days were 26b, 19b, 22b and

como promedio en 21 días; y para los últimos cinco, los consumos fueron de 26b, 19b, 22b y 86a g/animal/8h ($P < 0.001$); para el tiempo invertido por animal (270, 321, 314 y 181 segundos/animal/8h; $P = 0.871$) como para la frecuencia de consumo (5, 7, 8 y 6 veces/animal/8 h; $P = 0.625$) no existió diferencia entre los tratamientos. Se logró restringir el consumo del SAR con el uso de la cal, con similar comportamiento para 3; 6 y 9% de inclusión, sin afectar la frecuencia, ni el tiempo de consumo.

Palabras clave

Conducta, ingestión, suplementación, bovinos, restrictor.

86a g/animal/day ($P < 0.001$); time spent intake the "SAR" for animal (270, 321, 314 and 181 sec/animal/treatment; $P = 0.871$) with for intake frequency (5, 7, 8 y 6 some/animal/8 h; $P = 0.625$). Lime consumption achieved restrict SAR, while the different inclusion levels were similar potential this restriction, without affecting their frequency and time intake.

Keywords

Behavior, intake, supplementation, bovine, restrictor.

Introducción

El Suplemento Activador Ruminal (SAR) es una estrategia que permite incrementar la respuesta productiva en los rumiantes; en particular, durante la época de estiaje (Jordán, 2001; Palma, 2011).

El consumo del SAR se debe realizar de forma intermitente, para garantizar el aporte continuo y la sincronización de nutrientes (Hall y Huntington, 2008). Esto evita variaciones bruscas de pH, incrementa el uso del nitrógeno, estimula el consumo y la digestibilidad del alimento fibroso (Galina *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2012).

Se utilizan diferentes métodos para restringir la ingestión del SAR; entre ellos, los de tipo físico, mecánico y químico. Entre estos últimos, se encuentran: el cloruro de sodio, sulfato de amonio, urea, fosfato diamónico e hidróxido de calcio (cal) (Aubel *et al.*, 2011; Schauer *et al.*, 2004).

Por otro lado, en la elaboración de este tipo de suplementos se utiliza la melaza como fuente de carbohidratos de fácil fermentación; pero debido a fluctuaciones en su disponibilidad y precio, se hace necesario incorporar otras fuentes energéticas. Este es el caso del banano verde de rechazo, producto del descarte de los empaques: posee un alto contenido de almidón (Pineda-Gómez *et al.*, 2014). Sin embargo, se desconoce qué cantidad de cal se necesita, para restringir el consumo voluntario combinado con banano verde en la elaboración del SAR.

El objetivo de este trabajo fue determinar el nivel de inclusión de hidróxido de calcio como restrictor del consumo de un Suplemento Activador de Rumen (SAR), basado en banano verde.

Materiales y métodos

Para esta prueba, se utilizaron 12 becerros de la raza *Brahman* en estabulación. Los animales pesaron 264 ± 55 kg peso vivo (PV). Se les proporcionó 7 kg/animal de heno picado de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115, que se cosechó a los 120 días de edad, con las siguientes características químicas: materia seca (MS) 27%; materia orgánica 90.63%; proteína cruda 7.07 %; energía metabolizable 2.28 Mcal/kg MS; fibra detergente neutro 66.89% y fibra detergente ácida 48.80%, ofertado dos veces al día y 4 kg de cada suplemento activador ruminal en forma granulada (16 kg en total; utilizando el 0% de cal como testigo) una vez al día (cuadro 1).

Se ofertó heno de CT-115 como base de la alimentación con la finalidad de mantener la misma calidad nutrimental durante el periodo de estudio; la oferta del SAR se calculó para el consumo de 1.30 kg de SAR/animal, lo que equivale al 20% de la dieta.

Las características del sistema de estabulación fueron: corral de tierra con sombra natural en todo el perímetro; espacio de 33 m²/animal, espacio en comedero para el consumo del heno y SAR de 0.50 y 0.25 m/animal, respectivamente; espacio en bebedero de 0.25 m/animal, el agua era potable y se ofertó sin restricción. Los comederos y el bebedero permanecieron en condiciones de sombra y los animales estuvieron en un solo grupo.

La evaluación se hizo con una prueba de cafetería, que consistió en la oferta simultánea de los SAR al grupo de animales. Los suplementos se rotaron diariamente, para evitar el acostumbamiento del lugar por los animales, para que éstos realizaran la selección de su preferencia.

El periodo de prueba fue de 21 días. Las variables evaluadas fueron: dinámica de consumo (g/animal/día⁻¹) y consumo (g/animal/día⁻¹) y durante los últimos cinco días del ensayo, de 8 am a 4 pm; se evaluó la frecuencia (veces de consumo/animal/8h⁻¹), cantidad (g/animal/8h⁻¹) y tiempo (segundos/animal/8h⁻¹) de consumo.

El consumo de los suplementos se estimó calculando la cantidad de alimento que quedó en los comederos, restándolo a la oferta y dividiendo el valor entre el total de los animales.

El análisis estadístico utilizado fue un ANDEVA para un diseño de medidas repetidas en el tiempo y comparación múltiple de medias mediante prueba Tukey ($P < 0.05$); para ello, se utilizó el paquete estadístico Statistix, versión 8 (Statistix, 2003).

Cuadro 1
Suplemento activador ruminal,
con diferentes inclusiones de cal como restrictor de consumo.

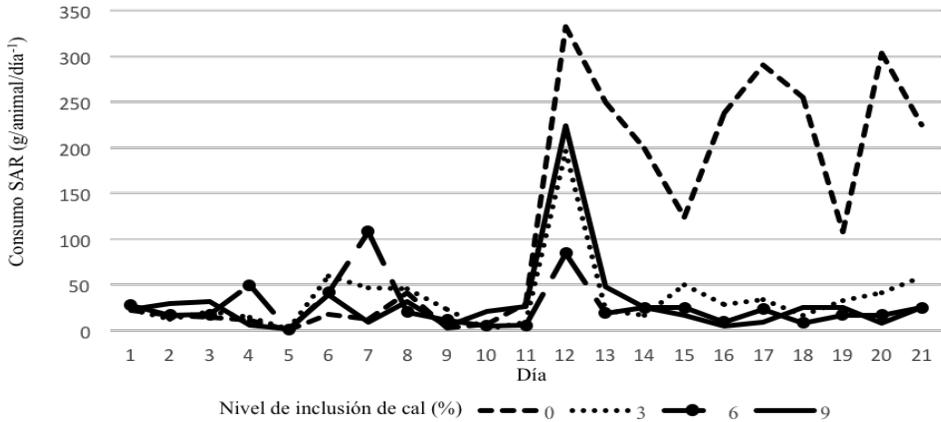
<i>Ingredientes</i>	<i>Inclusión base húmeda (%)</i>			
Cal (Ca(OH) ₂)	0.0	3.0	6.0	9.0
Banano verde	49.0	46.0	43.0	40.0
Pulido arroz	22.0	22.0	22.0	22.0
Maíz	10.0	10.0	10.0	10.0
Canola	4.5	4.5	4.5	4.5
Pollinaza	7.0	7.0	7.0	7.0
Urea	3.0	3.0	3.0	3.0
Fosfato monoamónico	2.0	2.0	2.0	2.0
Minerales ¹	1.0	1.0	1.0	1.0
Sal común	1.0	1.0	1.0	1.0
Sulfato amonio	0.5	0.5	0.5	0.5
Valor nutritivo y costo				
EM (Mcal/kg MS) ²	2.7	2.6	2.5	2.3
PC (%)	28.8	27.8	26.9	26.0
Costo/Kg BH (\$) ³	0.13	0.13	0.14	0.15

¹VIMIFOS (macro y micro minerales); ²EM= Energía metabolizable estimada basada en TND; ³Dólar estadounidense; PC= Proteína cruda; BH= Base húmeda.

Resultados

En la dinámica de consumo de los SAR con diferentes niveles de inclusión del restrictor, éstos tuvieron bajos consumos, diferente al testigo que evidenció dos etapas: la primera, hasta el día 11 con un bajo consumo similar al resto de los tratamientos; y una segunda, a partir del día 12, en donde se incrementó el consumo con un comportamiento oscilatorio (figura 1).

Figura 1
Dinámica de consumo del suplemento activador ruminal
sin cal o con diferente nivel de inclusión de cal.



El mayor consumo se obtuvo con el SAR sin cal y fue diferente respecto de los que incluyeron el restrictor tanto por día ($P < 0.001$) como en la evaluación de ocho horas ($P < 0.001$). Mientras que el tiempo dedicado al consumo y la frecuencia con la que accedían al suplemento los animales no se afectó (cuadro 2).

Cuadro 2
Frecuencia, cantidad y tiempo de consumo de los suplementos
por bovinos con diferentes niveles de inclusión de cal.

Cal (%)	Tiempo (segundos/animal/8h ⁻¹)	Frecuencia (veces/animal/8h ⁻¹)	Consumo (g/animal/8h ⁻¹)	Consumo (g/animal/día ⁻¹)
0	181	5	86 ^a	120 ^a
3	270	7	26 ^b	36 ^b
6	321	8	19 ^b	27 ^b
9	314	6	22 ^b	30 ^b
EEM	133	0.07	8.80	18.39
P	0.871	0.625	0.001	0.001

^{a,b} letras distintas indican diferencia estadística, prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Discusión

La combinación de cal como restrictor de consumo y del banano verde en el SAR, fue una estrategia que generó una nueva alternativa en la alimentación de rumiantes, dado que limitó la ingestión del suplemento, sin afectar el tiempo, ni la frecuencia de consumo. Esta restricción se asocia con el sabor amargo generado por la presencia de la cal, lo cual, originó astringencia (Tordoff, 2001). Otro aspecto relevante fue que el consumo se realizó varias veces al día, como se detectó en la frecuencia de consumo y en el tiempo que le dedicaron a su ingestión los bovinos.

El efecto de la inclusión de cal (3; 6 y 9 %) en el SAR originó valores de consumo de 0.027 a 0.036 kg/animal/día, menor a lo obtenido por Miller (1990), quien utilizó 5; 10 y 15% de cal con consumos de 2.077; 0.304 y 0.268 kg/animal/día, respectivamente, y al trabajo de Schauer *et al.* (2004), quienes utilizaron 7% de cal y obtuvieron consumos de 1.08 hasta 3.46 kg MS/día en diferentes épocas del año.

Por otro lado, en suplementos activadores ruminales —donde la cal se utilizó como restrictor— de 5 a 7%, el consumo osciló entre 0.800 a 2.500 kg/animal/día (Díaz *et al.*, 2013; Galina *et al.*, 2009; Palma, 2011). Estas diferencias se pueden atribuir a la incorporación de banano verde en la composición del SAR, en virtud de que este alimento tiene alto contenido de taninos (Velásquez, 2005). Previamente, se señaló que la incorporación de alimentos ricos en taninos restringen el consumo, como se demostró al incluir las vainas del árbol forrajero (*Caesalpinia coriaria*), como sustituto de la cal en un SAR, por su efecto astringente (Palma y Anguiano, 2013).

Se demostró que no es necesaria la compactación —como sucede con los bloques multinutricionales (BMN)— donde la dureza es uno de los principales factores que limita el consumo por los animales (Mejías *et al.*, 2007). En el caso del BMN, Osuna *et al.* (1999), registraron valores de consumo de 0.016 hasta 0.066 kg/100 kg de PV/día, con niveles de 7.5 a 10% de cal. Este resultado fue semejante a lo logrado en el presente ensayo, con 0.019 kg/100 kg de PV/día con la adición de la cal y de 0.084 g/100 kg de PV/día, sin su inclusión.

La dinámica de consumo de los diferentes SAR, se asocia con el proceso de eufagia en el inicio de la prueba, donde la exploración de nuevos alimentos provoca que éstos no se consuman o que su ingestión sea baja (Frutos *et al.*, 2001). Sin embargo, en la medida que pasó el tiempo, aquellos tratamientos que incluyeron la cal, mantuvieron bajos consumos.

Cabe mencionar que existe la posibilidad de acostumbramiento a la restricción de consumo generado por la cal (Schauer *et al.*, 2004), diferente a lo obtenido en el presente ensayo; esta explicación se puede deber al tiempo de duración entre ambas pruebas y la modificación de la calidad del forraje que registraron estos autores.

Conclusiones

La inclusión de 3; 6 y 9 % de cal ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y banano verde logró la restricción de la ingestión voluntaria del suplemento activador ruminal, sin afectar su frecuencia, ni el tiempo de consumo.

Literatura citada

- Aubel, N. A.; Jaeger, J. R.; Drouillard, J. S.; Schlegel, M. D.; Pacheco, L. A.; Linden, D. R.; Bolte, J. W.; Higgins, J. J. y Olson, K. C. (2011). Effects of mineral-supplement delivery system on frequency, duration, and timing of supplement use by beef cows grazing topographically rugged, native rangeland in the Kansas Flint Hills. *Journal Animal Science*. 89: 3699-3706.
- Díaz, A.; Castillo, E.; Martín, P.C. y Hernández, J.L. (2013). Preceba de toros mestizos lecheros en pastoreo con glycine (*Neonotonia wightii*) y gramíneas tropicales con suplemento activador del rumen. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 47(1): 23-26.
- Frutos, P.; Hervás, G.; Ramos, G.; Mantecon, A.R. y Giraldez, F.J. (2001). La selección de compuestos secundarios de las plantas. *Ovis*, 74:81-101.
- Galina, M.A.; Ortiz-Rubio, M. A.; Mondragón, F.; Delgado-Pertúñez, M. y Elías, A. (2009). Rendimiento de terneros alimentados con silo de maíz o láctico con un promotor de la fermentación ruminal. *Archivos de Zootecnia*. 58 (223): 383-393.
- Hall, M.B. y Huntington, G.B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal Animal Science*. 86:E287-E292.
- Jordán, H. (2001). *Suplemento granulado como activador ruminal*. Inventor: Jordán Vázquez, Humberto; (CU) 22660 A1 (21) No. de solicitud: 1997/050(51) Int. Cl: A23K 1/18. Oficina Cubana de la Propiedad Industrial. Certificado de Autor de Invención. La Habana, Cuba.
- Mejías, R.; Díaz, J.A.; Hechemendía, M.; Jordán, H.; García, R. y Rodríguez, J. (2007). Evaluación de propiedades físicas de bloques multinutricionales que incluyen zeolita y harina de caña: compactación y consumo en carneros estabulados. *Rev. Cubana de Ciencia Agríc.* 41(1): 35-40.
- Miller, B. (1990). *Feed intake limiting composition comprising calcium hydroxide for cattle*. Patent number 4,900,562. United States Patent.
- Osuna, D.B.; Collantes, D.; Connell, J.; Ventura, M. y Castro, C. (1999). Estrategias de suplementación alimenticia en rumiantes durante la época seca. I. Efecto de almacenamiento sobre la calidad del bloque nutricional elaborado con diferentes cantidades de melaza, cal y heno de leucaena (*Leucaena leucocephala*). *Revista Científica FCV-Luz*. 9 (2): 129-133.
- Palma, J.M. (2011). *Suplementos activadores del rumen como estrategias para el desarrollo de bovinos en sistemas doble propósito*. González-Stagnaró, C.; Madrid-Bury, N. y Soto-Belloso, E. Innovación y tecnología en la ganadería de doble propósito. Maracaibo, Venezuela. Ediciones Astro Data, S.A. Pp. 344-351.
- Palma, J.M. y Anguiano, A. (2013). *Sustitución de cal por fruto de Caesalpinia coriaria (Jacq.) Willd en suplementos activadores ruminales para ovinos*. XXIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal. La Habana, Cuba.
- Pineda-Gómez, P.; Ángel-Gil, N.; Valencia-Muñoz, C.; Rosales-Rivera, A. y Rodríguez-García, M. (2014). Thermal degradation of starch sources: Green banana, potato, cassava, and corn—kinetic study by non-isothermal procedures. *Starch*. 66: 691–699.
- Rodríguez, F.; Elías, A. y Chilibroste, P. (2012). Suplementación con activadores ruminales en terneras alimentadas con ensilaje de sorgo. *Revista Argentina de Producción Animal*. 32(2): 117-123.
- Schauer, C.S.; Lardy, G.P.; Slanger, W.D.; Bauer, M.L. y Sedivec, K.K. (2004). Self-limiting supplements fed to cattle grazing native mixed-grass prairie in the northern Great Plains. *Journal Animal Science*. 82: 298–306.
- Statistix. (2003). *Statistix analytical software*. Barland. International Inc. Tallase, Florida USA.
- Tordoff, M. (2001). Calcium: Taste, intake and appetite. *Physiological Reviews*. 81 (4): 1567-1598.
- Velásquez, Á. M. (2005). Extracción de taninos del banano verde de rechazo. *Revista Lasallista de Investigación*. 2(2): 8-14.

Recepción: 09 de diciembre de 2014

Envío arbitraje: 02 de febrero de 2015

Dictamen: 27 de abril de 2015

Aceptación: 07 de diciembre de 2015



Título: *Señora cara de papaya*
Técnica: Pintura batik
Medidas: 37 x 38 cm
Autor: César Lara González

Metabolitos sanguíneos en caprinos alimentados con mezclas integrales frescas con *Moringa oleífera*: *Pennisetum purpureum* Clon-OM22

Blood metabolites in goats fed with fresh integral mixtures with *Moringa oleífera*: *Pennisetum purpureum* CLONE-OM22

Nelson Norberto González González,¹
Delfín Gutiérrez González,² Roberto García López²
y Aníbal Fernández Mayer^{3*}

¹Asociación Cubana de Producción Animal
ACPA-Filial Mayabeque
nelsonng@infomed.sld.cu

²Instituto de Ciencia Animal (ICA)
Apartado Postal No.24
Carretera Central km 47½
San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

delfin@ica.co.cu / rglopez@ica.co.cu

³Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuarias (INTA)
Argentina.

*Correspondencia: afmayer56@yahoo.com.ar

Resumen

Se evaluó el comportamiento de metabolitos sanguíneos energéticos y proteicos con el uso de mezclas de *Moringa oleífera*: *Pennisetum purpureum* clon OM-22. Se utilizaron cuatro machos caprinos de raza Alpina, con 37.78 ± 4.87 kg de peso vivo, dos años de edad y alojados en jaulas metabólicas individuales, organizados en un diseño cuadrado latino (4x4). El tiempo experimental fue 60 días, con cuatro periodos de 15 días. Los tratamientos consistieron en la inclusión creciente de *Moringa oleífera* (MO20%, MO40%, MO80%) en sustitución de *Pennisetum purpureum* clon OM-22 (20:80, 40:60; 80:20%) en la mezcla integral y un testigo, al que se le ofertó concentrado comercial (6g kg PV⁻¹). La totalidad de los forrajes

Abstract

It was evaluated the behavior of energy and protein blood metabolites using mixtures of *Moringa oleífera*: *Pennisetum purpureum* clone OM-22. There were used four male goats breed Alpina, with 37.78 ± 4.87 kg of live weight, two years old and housed in individual metabolic pens, organized in a Latin square design (4 x 4). The experimental time was 60 days, divided into four periods of 15 days. Treatments consisted of increasing inclusion of *Moringa oleífera* (MO20%, MO40%, MO80%) instead of *Pennisetum purpureum* clone OM-22 (20:80, 40:60; 80:20%) in integral mixing, and a witness, he was offered commercial concentrate (6 kg PV⁻¹ g). All of the fresh forages were harvested, mashed (3-5 cm) and mixed

frescos fueron cosechados, molidos (3-5cm) y mezclados, ofertados a razón del 3% del peso vivo base seca, en dos ocasiones (10:30-16:30 horas) durante el día. El estado de los metabolitos sanguíneos fue evaluado 22 horas posteriores al consumo de alimento. Las concentraciones de Glucosa, Colesterol, Triglicéridos y Urea se mantuvieron dentro del rango fisiológico. Los valores de Urea y Colesterol mostraron una tendencia creciente con la moringa en la mezcla, a diferencia de los Triglicéridos, que disminuyeron. Los niveles de Creatinina en MO40 y MO80% superaron el límite fisiológico para la especie (59.7-134.8 $\mu\text{mol/l}$), indicando un posible fallo renal. Estos resultados permiten concluir que la *Moringa oleifera* con un nivel de inclusión del 20% constituye una alternativa alimentaria para caprinos; pero requiere de estudios para dilucidar niveles de Creatinina con la inclusión de 40 y 80% moringa.

Palabras clave

Bioquímica sanguínea, cabras, renal.

according to treatment offered at the rate of 3 % of the live weight on dry basis, on two occasions (10:30-16:30 hours) during the day. The status of blood metabolites was assessed 22 hours after consumption of food. The concentrations of glucose, cholesterol, triglycerides and urea were kept within the physiological range. Urea and cholesterol values showed a growing trend with the participation of the *Moringa* in the mix, in contrast to triglycerides that decreased. The levels of creatinine in treatments MO 40% and MO 80%, exceeded the physiological limit for the species (59.7-134.8 $\mu\text{mol/l}$), indicating possible kidney failure. These results allow concluding that the *Moringa oleifera* with a level of 20% is an alternative food for goats, but requires more in-depth studies to elucidate creatinine levels with the inclusion of 40 and 80% *Moringa*.

Keywords

Blood chemistry, goats, renal.

Introducción

La producción de pastos y forrajes tropicales durante el año está sometida a problemáticas que determinan variación en la calidad y disponibilidad de biomasa; principalmente, en la época de seca, lo que limita el desempeño productivo de los animales. Una estrategia para potenciar la disponibilidad y calidad de alimentos para rumiantes en la región, pudiera ser la utilización de árboles y arbustos forrajeros (Pezo, 1991). En este sentido la *Moringa oleifera* es un material con altos rendimientos, puede producir 68 ton/ha/año, equivalente a 15 ton de materia seca/ha/año, con capacidad de rebrote durante todo el año (Perdomo, 1991).

La moringa es un árbol originario de la India, ampliamente distribuido en muchas regiones tropicales, al oeste de África y en la región central de América y el Caribe (Freiberger *et al.*, 1998; Lockett *et al.*, 2000), con alto aporte de proteína y digestibilidad, fue utilizado como componente mejorador de una dieta con forraje de gramíneas en cabras (Manh *et al.*, 2005).

Aunque se conocen las ventajas de esta especie arbórea en la alimentación animal, no se ha determinado la influencia directa de su consumo en el perfil metabólico sanguíneo, como forma de evaluar el estado nutricional de los animales y desórdenes metabólicos que puedan presentarse en rumiantes (en particular, con la especie caprina).

Al considerar lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo determinar los efectos producidos por los diferentes niveles de inclusión de *Moringa oleífera* en mezcla integral con *Pennisetum purpureum*, como dieta básica, en el comportamiento de algunos metabolitos.

Materiales y métodos

El experimento se desarrolló durante los meses de mayo-junio de 2014, en el Departamento de Manejo y Alimentación de Rumiantes, perteneciente al Instituto de Ciencia Animal (ICA) de Cuba, situado en el km 47.5 de la Carretera Central; a 22° 53' de latitud norte y los 82° 02' de longitud oeste, y 92 msnm; con temperatura ambiente 25.5°C, humedad relativa 80 % y precipitación 158.85 mm, para el período que duró el experimento; en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque de la República de Cuba.

Se trabajó con las plantas forrajeras, *Moringa oleífera*, variedad supergenio y *Pennisetum purpureum* clon OM-22, de aproximadamente 50 y 27 días de edad, respectivamente; cultivadas sobre suelo ferralítico rojo típico, de rápida desecación y de perfil uniforme (Hernández *et al.*, 1999), sin fertilización, ni riego.

Se utilizaron cuatro machos caprinos de la raza Alpina, peso vivo promedio de 37.78 ± 4.87 kg (15.21 ± 1.48 kg PV⁰⁷⁵), dos años de edad y alojados en jaulas metabólicas, organizados en un diseño cuadrado latino (4x4). Previo al inicio del experimento (30 días), se realizó un examen clínico general y un análisis de sangre para determinar el estado de salud; para el control de parásitos, los animales fueron tratados con ivermectina (0.2 mg kg PV⁻¹) y praziquantel (10 mg kgPV⁻¹). De igual modo, como dosis única, se suministraron 2 ml de vitamina A, D₃, E, y al finalizar cada periodo, se realizó doble aplicación de vitaminas del complejo B (3 ml animal); los animales fueron pesados antes del comienzo del experimento y al finalizar cada periodo, para ajustar consumo y tener criterio sobre estado físico de los animales.

El experimento tuvo una duración de 60 días, distribuidos en cuatro períodos de 15 días cada uno (10 de adaptación, cinco de recolección de datos). Los tratamientos experimentales consistieron en el uso de cuatro mezclas integrales frescas, con la inclusión básica de niveles crecientes de *Moringa oleífera* (MO20%, MO40%, MO80%) en reemplazo del *Pennisetum purpureum* (0:100, 20:80, 40:60 y 80:20%); el concentrado se ofreció al testigo en una sola ocasión (10:30 horas), a razón de 6 g kg PV⁻¹. Todos los animales tuvieron acceso a sal común y agua a libre voluntad.

Los forrajes fueron cosechados de forma manual, molidos en un molino mecánico, hasta alcanzar un tamaño de partícula aproximado de 3.0-5.0 cm, mezclados según el tratamiento. La determinación del extracto etéreo se realizó a la materia seca (MS) de los forrajes de *Moringa* y *Pennisetum* por el método descrito por la AOAC (1995), la proteína bruta (PB) por el método de Kjeldahl, fibra en detergente neutra (FDN) por el método de Van Soest (1975); mientras que el contenido de carbohidratos estructurales y no estructurales, según Sniffen *et al.* (1992) y Hall *et al.* (1999), y el extracto libre de nitrógeno por diferencia (ELN=100-%H-%C-%PB-%EE-%FB). En la cuadro 1 se presenta la composición química de los alimentos.

La mezcla integral lograda, según tratamiento (*Moringa* en sustitución de *Pennisetum*), se ofertó a razón del 3% del peso vivo, base seca, más un 25% por encima, para garantizar selección y un nivel de rechazo al día siguiente por los animales. La frecuencia de distribución de la dieta basal, a partes iguales fue dos veces al día (10:30-16:30 horas); se removió el material de comederos, en dos ocasiones por día.

La recolección de orina se realizó durante los últimos cinco días correspondientes a cada periodo: se colocó un cubo plástico debajo de la jaula metabólica en el conducto de salida para la orina, cada 24 horas, con el auxilio de una probeta con escala de medición se registró el volumen excretado; para tener criterio sobre el agua bebida, los recipientes destinados para el suministro de agua eran estándar, se midió cada 24 horas durante cinco días, al final de cada periodo, con ayuda de una regla; la diferencia entre la oferta y consumo, previa determinación de la correspondencia entre centímetro y volumen según bebedero (1 centímetro = 250 ml); el agua contenida en los alimentos se calculó a partir del porcentaje de humedad de las mezclas.

Al final de cada periodo, el último día de los cinco destinados a recolección de muestras, mediante una venopunción yugular, se obtuvieron muestras de sangre entre las 8:00-8.30 horas (22 horas luego de la oferta del alimentos). Fueron extraídos 3 ml de sangre por animal/tratamiento en tubos de vidrio sin anticoagulante, y trasladados de inmediato al laboratorio a temperatura de refrigeración (2-8°C) para la posterior centrifugación y obtención de suero (3.000 rpm x 15 min), para determinar mediante pruebas específicas, en un equipo marca Hitachi de fabricación china (automatic Analyzer 902®): Glicemia, Colesterol, Triglicéridos, Urea y Creatinina; para la determinación del pH sanguíneo se extrajo 1 ml de sangre animal/tratamiento con anticoagulante, para realizar gasometría, en equipo marca Cobas P1200®, de fabricación china.

Análisis estadístico

A la información resultante se le aplicó análisis de varianza; y, en caso necesario, dócima de Duncan (1955), para expresar las diferencias entre medias; las cuales fueron procesadas mediante INFOSAT (Balzarini *et al.*, 2001). De igual modo, se determinaron correlaciones para definir el grado de dependencia entre variables; las cuales fueron calculadas mediante el programa estadístico STATGRAPHICS plus v-5.1.

Resultados

El cuadro 1 muestra la composición química y digestibilidad de los alimentos empleados en las mezclas, destacándose el 19% de proteína bruta del forraje de *Moringa*, en contraste con el 4% presente en el forraje de *Pennisetum*.

Se muestran (en el cuadro 2), el valor medio y el error estándar (EE) de los metabolitos sanguíneos analizados en los cuatro tratamientos estudiados, respecto de los valores encontrados y con relación a los límites fisiológicos para la especie caprina (Glucosa 2.7-4.2 mmol/l, Colesterol 1.7-3.5 mmol/l, Triglicéridos 0.4-0.8 mmol/l, Urea 4.5-9.2 mmol/l y para Creatinina 59.7-134.8 μ mol/l), se aprecian diferencias significativas

($P < 0.0001$) sólo para la Creatinina; evidenciándose un incremento de su valor cuando aumenta el consumo de moringa en la ración.

La glucosa no mostró diferencia estadística significativa entre tratamientos, con valores dentro del rango normal. La concentración de colesterol total difiere ($P < 0.0510$). De igual modo, los triglicéridos difieren ($P < 0.0392$), con valores dentro del límite fisiológico.

En lo que respecta a la Urea como elemento orgánico, los valores encontrados se encierran dentro del rango fisiológico reportado para la especie (4.5-9.2 mmol/l); no existe diferencia entre los tratamientos donde participa la moringa, tampoco difieren los grupos tratados con 20 y 40% moringa con el grupo control; existen sólo diferencias ($P < 0.0914$) entre el grupo control y el tratamiento donde se empleó 80% moringa; este último es el de mayor valor (6.85 mmol/l).

Luego de realizado el balance alimentario, teniendo en consideración el aporte de proteína de la ración correspondiente a cada tratamiento, se muestran (en el cuadro 3) los valores de proteínas (gramos por día contenidos en cada tratamiento); donde se pueden observar las diferencias entre requerimientos, según NRC (2005) y el aporte de las raciones.

El cuadro 4, se muestra los resultados de la correlación entre consumo proteico (base seca) de Moringa y Urea sanguínea, lo cual demuestra una relación fuerte y positiva en los tratamientos donde se incluyó 40 y 80% de moringa.

En el cuadro 5, se exponen los valores sobre consumo de agua, volumen de orina y aporte húmedo de las mezclas, expresados en litros; la mayor es la diuresis en el tratamiento con participación de 80% de Moringa, con menor consumo de agua bebida.

Cuadro 1
Composición química y digestibilidad de los alimentos empleados en las mezclas.

Alimentos	% MS	% PB	EM, Mcal	% FDN	% CHOT	% CNF	% ELN	% DMS
<i>Pennisetum purpureum</i>	26.40	4.0	1.89	81.84	-	-		52.49
<i>Moringa oleífera</i>	21.28	19.0	2.34	66.34	76.37	11.50	41.45	64.93
Concentrado	88.10	16.45	2.45	8.50	-	-	-	-

EM: energía metabolizable, PB: proteína bruta, CHOT: carbohidratos estructurales totales, CNF: carbohidratos no fibrosos, ELN: extracto libre de nitrógeno, DMS: digestibilidad de la materia seca.

Cuadro 2
Valores medios de la composición química
de metabolitos sanguíneos en cada tratamiento aplicado.

Indicadores	Moringa : Pennisetum (BS)				EE±	p
	0:100	20:80	40:60	80:20		
Glucosa, mmol/L	3.53	3.90	4.15	3.55	0.33	0.5378
Colesterol, mmol/L	3.10 ^a	3.58 ^b	3.68 ^b	3.70 ^b	0.13	0.0510
Triglicéridos, mmol/L	0.73 ^b	0.85 ^d	0.79 ^c	0.70 ^a	0.028	0.0392
Urea, mmol/L	4.55 ^a	5.25 ^{ab}	5.48 ^{ab}	6.85 ^b	0.51	0.0914
Creatinina, μmol/l	94.88 ^a	91.73 ^a	149.20 ^b	150.67 ^b	6.18	0.0001
pH	7.40	7.42	7.43	7.41	0.012	0.7574

Letras diferentes difieren para Duncan $P < 0.05$; ± Error estándar; BS, base seca.

Cuadro 3
Balance alimentario, según aporte de proteína
de la ración correspondiente a cada tratamiento.

Proporción, BS Moringa: Pennisetum	Requerimiento g día ⁻¹ (NRC, 2005)	Aporte, g día ⁻¹	Diferencia
0:100	75.85 ^a	75.58 ^a	0.27
20:80	79.54 ^b	87.11 ^a	6.81
40:80	80.23 ^b	123.59 ^b	42.21
80:20	81.38 ^b	219.99 ^c	138.61
±EE	0.68	4.60	
P	<0.0001	<0.0001	

Letras diferentes difieren para Duncan $P < 0.05$; ± Error estándar; BS, base seca.

Cuadro 4
Correlación entre consumo proteico (base seca) de moringa y urea sanguínea.

<i>Proporción, Base seca</i> <i>Moringa : Pennisetum</i>	<i>Aporte Proteína</i> <i>(según balance alimentario)</i>	<i>Urea</i> <i>mmol/l</i>
20:80	87.11	0.44
40:80	123.59	0.55*
80:20	219.99	0.99***

***P<0.001, *P<0.05 difieren para Duncan P<0.05; \pm Error estándar.

Cuadro 5
Consumo de agua, volumen de orina
y aporte húmedo de las mezclas (expresadas en litros).

<i>Indicadores</i>	<i>Moringa : Pennisetum Base seca</i>				<i>EE\pm</i>	<i>p</i>
	0:100	20:80	40:60	80:20		
Consumo agua (bebida)	0.220 ^b	0.210 ^b	0.150 ^b	0.060 ^a	0.025	0.0050
Consumo agua (alimento)	3.10 ^a	3.70 ^b	3.90 ^b	4.78 ^c	0.08	0.0001
Volumen orina, litros	0.900 ^{ab}	0.610 ^a	1.07 ^{bc}	1.33 ^c	0.11	0.0005
Humedad mezcla, %	73.60 ^a	74.60 ^b	75.60 ^c	77.90 ^d	0.18	0.0001

Letras diferentes difieren para Duncan P<0.05; \pm Error estándar; BS, base seca.

Discusión

Luego de realizado el análisis estadístico correspondiente, en el cuadro 2 se presentan valores de los metabolitos energéticos y proteicos sanguíneos examinados en este estudio. Dentro de los energéticos, los valores de glucosa aún no muestran diferencia estadística significativa entre tratamientos, se mantienen dentro del rango normal (2.78-4.16 vs. promedio: 3.78 ± 1.05 mmol/L) de lo planteado por Kaneko *et al.* (2005), y enunciado por Ríos *et al.* (2006) en diferentes sistemas de producción de caprinos (2.7-3.7mmol/L); pero similares a los encontrados por Posada *et al.* (2012) en cabras lactantes (10-70 días post parto), alimentadas con ensilaje de maíz (30%), forrajes frescos de pasto maralfalfa (40%) y botón de oro (20%), (2.98-3.59 mmol/L).

De forma general, estos valores indican un balance energético positivo, que debió estar acompañado por un aporte nutricional de energía, y donde no fue necesario metabolizar las reservas corporales de glucosa para atender los requerimientos energéticos del animal (García, 1976); a pesar del estrés que pudo haber causado la oferta diferen-

ciada de alimento, como resultado de los cambios en los niveles de inclusión de *Moringa* entre tratamientos, práctica que puede afectar el balance energético del animal, según lo planteado por Gioffredo (2011).

La ausencia de diferencia estadística en la glucosa plasmática pudo coincidir con el eficiente control homeostático que debieron alcanzar los animales (Posada *et al.*, 2012), indicador que pudiera justificarse con el valor medio (7.42 ± 0.04) de pH sanguíneo alcanzado en este estudio; y que están dentro del rango (7.35-7.45) de lo enunciado por Alonso (2009).

Sin embargo, la concentración de colesterol total difiere ($P < 0.051$), a la vez que aumentan los valores dentro del rango fisiológico en correspondencia con los consumos de *Moringa*. Lo alcanzado en los grupos tratados supera el rango establecido por Kaneko *et al.* (2005), de 2.07-3.37 *vs.* promedio: 3.50 ± 1.02 mmol/L; pero dentro del rango fisiológico de lo planteado por Posada *et al.* (2012) para cabras en lactación de las razas Saanen (2.15-4.11 mmol/L) y Alpina (1.71-4.26 mmol/L) y el Manual Merck (1993), con 1.78-6.16 mmol/L. Según Ríos *et al.* (2006), un aumento del colesterol estaría asociado con un incremento del aporte energético de la ración.

De igual modo, los triglicéridos difieren ($P < 0.0392$), con valores dentro del límite (0.4-0.8 *vs.* promedio: 0.77 ± 0.34 mmol/L) de lo citado por Cabiddu *et al.* (1999), con excepción de MO20%; pero superiores a cabras en lactación de lo planteado por Varas *et al.* (2014), de 0.22 y 0.29 mmol/L en caprinos sometidos a sistemas extensivos de producción y Posada *et al.* (2012), para cabras Saanen (0.21-0.28 mmol/L) y Alpina (0.27-0.32 mmol/L), respectivamente; según el propio autor, las variaciones en la concentración de este metabolito durante la lactación y producción de leche, están asociadas con la síntesis de lipoproteínas requeridas para el transporte de lípidos. El comportamiento de este metabolito, como indicador primario del aporte energético de la dieta, pudiera afirmar el balance energético positivo alcanzado en este estudio (Mazur *et al.*, 2009).

En lo que respecta a la Urea como elemento orgánico, los valores encontrados se encierran dentro del rango (3.6-7.1 *vs.* promedio: 5.31 ± 1.39 mmol/L), citado por Kaneko *et al.* (2005). El comportamiento estadístico diferenciado ($P < 0.0914$), pudo estar asociado con el incremento de utilización del material nitrogenado de la ración (Fernández del Palacio *et al.*, 1991) y la saturación de la capacidad de utilización del amoníaco por los microorganismos ruminales (Wittwer, 2000; Balikci, 2007), como resultado en algún momento, de un déficit de energía de fácil asimilación por los microorganismos ruminales; como muestran los resultados de la regresión de la urea plasmática con la glucosa y colesterol ($y = 5.61102 - 2.15103 \text{ Gluc} + 2.26974 \text{ Col.}; \pm \text{EE} = 0.93; R^2 = 0.66; P < 0.0078$).

Aunque en los grupos tratados con *Moringa* se observa una respuesta lineal y positiva entre los niveles de glucosa y colesterol total ($y = 0.351244 + 0.965254x, \pm \text{EE} = 0.57, r = 0.89, R^2 = 0.79, P < 0.0001$), en correspondencia con la participación en la mezcla y consumo de *Moringa*; lo cual indica la no movilización energética, como resultado del aporte suficiente de la ración, y que los animales mantuvieran similar peso corporal; a diferencia de lo reportado por Varas *et al.* (2007) en estudios realizados sobre meta-

bolitos sanguíneos (energético y proteico), con cabras criollas, alimentados con pastura natural en sistema extensivo, donde la concentración de glucosa estuvo por debajo (1.74 mmol/L), valor cercano al límite de desnutrición (1.70 mmol/L), según O'Doherty y Crosby (1998) y el colesterol dentro del rango (1.71-4.26 mmol/L), repuesta considerada como signo de lipomovilización, debido al pobre aporte energético de la dieta. Una mejora en la condición corporal exhibe una tendencia a optimizar la disponibilidad energética, como resultado del aumento y disminución de glucosa y urea, respectivamente (Varas *et al.*, 2007).

Según Colin-Schoellen *et al.* (1998), la concentración de urea sanguínea es utilizada para evaluar el metabolismo proteico, metabolito originado del amonio absorbido por el rumen o del catabolismo de aminoácidos; en ambas vías, la ingesta de energía y proteínas puede modificar el contenido de urea. El incremento de urea podría disminuir la síntesis de proteína microbiana y aumentar los niveles de amonio ruminal (Blowey *et al.*, 1973), efectos que fueron enunciados por Ríos *et al.* (2001), en cabras estabuladas de la raza Saanen, en correspondencia con el aumento en la contribución y consumo de proteína dietaria, aspectos que se pueden relacionar con la concentración de urea reportada en el presente estudio.

Por otra parte, la correlación lograda entre el aporte proteico de la ración y la urea sanguínea muestra una relación significativa y positiva en los tratamientos MO40% y MO80% (cuadro 4). Resultados que confirman el aporte básico de nitrógeno al rumen, para favorecer la degradación de proteína y contribuciones no despreciables de nitrógeno no degradado en rumen, y digerido en el intestino como consecuencia del incremento y velocidad de degradabilidad de la proteína y materia seca, en correspondencia con la participación de la *Moringa* en la dieta. Dichos resultados corroboran lo alcanzado por (García *et al.*, 2008), en cuanto a degradabilidad de la proteína y velocidad de degradación de la MS de *Moringa* (66.30% DGPB, 0.091% h⁻¹), en similitud con la Morena (68.60% DGPB, 0.087% h⁻¹), y donde la proteína dietética tuvo un efecto sobre la motilidad ruminal y tasa de pasaje de los alimentos (Kil *et al.*, 1994).

En cuanto a la creatinina, los valores encontrados en MO20% y testigo, están dentro del rango a los reportados por Raviart *et al.* (1987), de 70-132 $\mu\text{mol/l}$ en hembras Saanen; pero, en su generalidad, superiores al valor medio (80.08 $\mu\text{mol/l}$) enunciados por Fernández-Palacio *et al.* (1991) en machos caprinos de la raza Murciano-Granadina. Los altos valores acumulados de este desecho sérico pudieron estar determinados por una disminución del filtrado glomerular (Leibholz, 1965; Gioffredo, 2011), situación que pudo ocurrir cuando se incrementó el nivel de *Moringa* (MO40%; MO80%) en la mezcla.

Si bien el nitrógeno ureico no pueda ser una preocupación importante para valorar la función renal en rumiantes, debido al reciclaje de urea sanguínea en rumen (Packet y Groves, 1965), en este estudio se prefirió descartar la posibilidad de que el incremento de los niveles de urea —producto de la ingestión proteica y aumento de su catabolismo— produjera una disminución en la reabsorción tubular y disfunción renal, postulados que coinciden con lo enunciado por González de Buitrago *et al.* (1998), queda justificado este análisis al analizar los valores de creatinina sérica y su relación con la concentración

de urea, en el propio tratamiento MO80%; donde se aprecia una relación moderadamente fuerte y positiva ($r= 0.70$, $P < 0.0117$) entre ambas variables, evento que pudiera indicar una posible afectación renal (Castañeda, 2011).

Al respecto, Adelaja *et al.* (2014), cuando suministraron extracto metanólico de *Moringa oleifera* (250-750 mg/kilogramo de peso corporal), a ratas Wistar adultas, durante 21 días, los exámenes histológicos de los riñones arrojaron aumento de los espacios capsulares, asociado con el incremento de urea sanguínea.

La información brindada en el cuadro 5 refiere a los volúmenes producidos de orina, que están dentro del rango (0.500-1.5) de lo reportado por Raggi y Boza (2014); a su vez, muestran una tendencia creciente con el consumo de *Moringa*, presentando los grupos tratados MO40% MO80%, valores más altos ($P < 0.0005$); elementos que podrían evidenciar un efecto diurético, más aún si se considera la similitud en el aporte de humedad entre las mezclas ($75.38 \pm 1.75\%$), el volumen de agua ingerida, incluida la predicción del agua contenida en la cantidad de alimento consumido.

Conclusiones

La inclusión de *Moringa oleifera* en la mezcla integral fresca con *Pennisetum purpureum* clon OM-22, mantuvo los niveles sanguíneos de Urea, Glucosa, Colesterol y Triglicéridos dentro los límites fisiológicos. La Creatinina y la diuresis fueron superiores en los animales que consumieron las mezclas 40 y 80% *Moringa: Pennisetum*, y se pudiera relacionar con fallo renal. La *Moringa oleifera* es una opción para la alimentación de caprinos en la zona tropical, según los resultados obtenidos en este trabajo; el 20% de inclusión en la dieta, garantiza la estabilidad metabólica de los caprinos en condiciones similares a las empleadas en este estudio. Se recomiendan estudios más integradores para dilucidar niveles de Creatinina con relación a la inclusión de 40 y 80% *Moringa* en mezcla integral.

Literatura citada

- Adelaja, A. A.; Kamal, O. G.; Mubarak, O. A.; Comfort, S. O.; Olaiy, A. G. O. y Bernard-Ufuoma, B. E. (2014). *Moringa oleifera* impairs the morphology and functions of the Kidney in adult Wistar rats. *International Journal of Morphology*. 32(2): 469-474.
- Alonso, O. (2009). *Fisiopatología veterinaria*. Ed. Félix Valera. La Habana. Cuba. 197 pp.
- AOAC. (1995). *Official methods of analysis*. 11th. (Ed.) Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C. 37-38 pp.
- Balikci, E.; Yildiz, A. y Gürdo an, F. (2007). Blood metabolite concentrations during pregnancy and postpartum in Akkaraman ewe. *Small Ruminant Research*. 67(2-3): 247-251.
- Balzarini, G.M.; Casanoves, F.; Di Rienzo, J.A.; González, L.A. y Robledo, C.W. (2001). *InfoStat. Software estadístico. Manual del usuario*. Versión 1. Córdoba. Argentina.
- Blowey, R. W.; Wood, D. W. y Davis, J. R. (1973). A nutritional monitoring system for dairy herds, based on blood glucose, urea and albumin levels. *Veterinary Record*. 92: 691-696.
- Cabiddu, A.; Branca, A.; Decandia, M.; Pes, A.; Santucci, P.M.; Masoero, F. y Calamari, L. (1999). Relationship between body condition score, metabolic profile, milk yield and milk composition in goats browsing a Mediterranean shrubland. *Livestock Production Science*. 61: 267-273.
- Castañeda, A. (2011). *Importancia de los metabolitos como: glucosa, proteínas totales, triglicéridos, urea y*

- creatinina en dos tratamientos t1: ovejas gestantes y t2: paridas. Disponible en la red mundial en: <http://www.engormix.com/MA-ovinos/articulos/importancia-metabolitos-como-glucosa-t3047/p0.htm> (Consultada el 25 de julio de 2014).
- Colin-Schoellen, O.; Jurjanz, S. y Laurent, F. (1998). Nitrogen supply and fermentencible nitrogen deficit in total mixed ratio for dairy cows: Influence on milk yield and composition. *Rencontre Recherche Ruminants*. 5: 22.
- Duncan, D.B. (1955). Multiple ranges and multiple F test. *Biometrics*. 11: 1.
- Fernández-Palacio, M. J.; Montes, A. M.; Gutiérrez-Panizo, C.; Bayón, A.; Bernal, L. J. y Sotillo, J. (1991). Biochemical parameters in male goat of the murciano-granadina breed. *Anales de veterinaria de Murcia*. 6(7): 3-7.
- Freiberger, C.E.; Vanderjagt, D. J.; Pastuszyn, A.; Glew, R. S.; Mounkaila, G.; Millson, M. y Glew, R. H. (1998). Nutrient content of the edible leaves of seven wild plants from Niger. *Plant Foods Human Nutrition*. 53: 57-69.
- García, D. E.; Medina, G.M.; Clavero, T.; Cova, L.J.; Domínguez, C. y Baldizán, A. (2008). Caracterización nutritiva del follaje de seis especies forrajeras con énfasis en sus perfiles polifenólicos. *Rev. Cient. Maracaibo*. 18: 2.
- García, P. P. (1976). Cetosis bovina. *Boletín informativo Consejo General Colegio Veterinaria*. España. 43(78): 204-205.
- Gioffredo, J. J. (2011). *Sanidad en ovinos y caprinos*. Enfermedades metabólicas. Disponible en la red mundial en: <http://www.produccion-animal.com.ar> (Consultado el 23 de abril de 2014).
- González de Buitrago, J. M.; Arilla, F. E. y Sánchez, P.A. (1998). *Bioquímica clínica*. McGraw Hill Interamericana. España. 191-193 pp.
- Hall, M. B.; Hoover, W. H. y Jennings, J. P. (1999). A method for partitioning neutral detergent soluble carbohydrates. *Journal Science Food Agriculture*. 79: 2079-2086.
- Hernández, A.; Pérez, J. M. y Busch, O. (1999). *Nueva versión de la genética de los suelos de Cuba*. En: Memorias AGROINFOR-MINAG. Instituto de Suelos. Cuba. 64 pp.
- Kaneko, J.J. (2005). *Clinical chemistry of domestic animals*. Ed. Academic Press. New York. 886-891 pp.
- Kil, S. J. y Fruetschel, M.A. (1994). Involvement of opioid peptides from casein on reticular motility and digest passage in steers. *Dairy Sci*. 77: 111-123.
- Leibholz, J. (1965). The free amino acid occurring in the blood plasma and rumen liquor of the sheep. *Aust. J. Agric. Res*. 16: 973-979.
- Lockett, C. T.; Calvert, C. C. y Grivetti, L. E. (2000). Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria. *Int. J. Food Sci. Nutr*. 51: 195-208.
- Manh, L. H.; Dung, N. X. y Ngoi, T. P. (2005). Introduction and evaluation of *Moringa oleifera* for biomass production and as feed for goats in the Mekong Delta. *Livestock Research for Rural Development*. 17: 9-18.
- Mazur, A.; Ozgo, M. y Rayssiguier, Y. (2009). Altered plasma triglyceride-rich lipoproteins and triglyceride secretion in feed-restricted pregnant ewes. *Veterinary Medicine*. 54: 412-418.
- Merck Inc. (1993). *El manual Merck de Veterinaria*. Océano/Centrum. España. 1993-2092 pp.
- National Research Council (2005). *Nutrient requirements of ruminants in undeveloping countries*. Int. Feed-stuffs Ints. Utah. Agric. Exp. Sta. 5 ta Univ. Legon. EU. 380 pp.
- O'doherty, J. V. y Crosby, T. F. (1998). Blood metabolite levels in late pregnant ewes as indicators of nutritional status. *Animal Science*. 66: 675-683.
- Packett, L. V. y Groves, J. D. D. (1965). Urea recycling in the ovine. *J. Anim. Sci*. 24: 341.
- Perdomo, P. (1991). *Adaptación edáfica y valor nutritivo de 25 especies y accesiones de leguminosas arbóreas y arbustivas en dos suelos contrastantes*. Tesis de licenciatura en Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Fac. de Ciencias Agrop. Colombia. 128 pp.
- Pezo, D. (1991). Producción ganadera en un contexto agroforestal. *Rev. Chasqui* 25: 1-2.
- Posada, R.; Noguera, R. y Bedoya, O. (2012). Perfil metabólico de cabras lactantes de las razas Saanen y Alpina. *Livestock Research for Rural Development*. 24(10).
- Raggi, L. y Boza, J. (2014). *Constantes fisiológicas de la cabra*. Disponible en la red mundial en: <http://>

- www.revistas.uchile.cl/index.php/MMV/article/view/4871/4757 (Consultado el 31 de julio de 2014).
- Raviart, I.; Bezille, P.; Braun, J. P.; Thouvenot, J.P.; Burgat, V. y Rico, A. (1987). Profils biochemiques plasmatiques des chevreaux nouveaun-nes et des meres dans la periode peri-partum. *Rec. Méd. Vét.* 163(5): 547-553.
- Ríos, C.; Marín, M.P. y Murasso, M. y Rudolph, W.F. (2001). Concentraciones de urea sanguínea y leche de cabra y su correlación en sistemas intensivos lecheros de la región metropolitana. *Archivos de Medicina Veterinaria.* 16: 52-57.
- Ríos, C.; Marín, M. P.; Catafau, M. y Wittwer, F. (2006). Concentraciones sanguíneas de β -hidroxibutirato, NEFA, colesterol y urea en cabras lecheras de tres rebaños con sistemas intensivos de producción y su relación con el balance nutricional. *Archivos de Medicina Veterinaria.* 38: 19-23.
- Sniffen, C. J.; Van Soest, P. J.; Fox, D. y Russel, J. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70(3): 562-577.
- Van Soest, P.J. (1975). *Physico-chemical aspects of fibre digestion.* En: McDonald, I.W. y Warner, A.C.I. (Eds.). *Digestion and metabolism in the ruminant.* Sydney: Univ. of New England Publ. Unit. 351-365 pp.
- Varas, M.; Martínez, P.; Brizuela, E.R.; Chagra, D. y Colomer, J. (2014). *Metabolitos sanguíneos de cabras en pastoreo extensivo en el Valle Antinaco – Los colorados, La Rioja–Argentina.* Disponible en la red mundial en: <http://www.aleprycs.net/documents /21709/27370/ NUTRICION. pdf> (Consultado el 20 de julio de 2014).
- Varas, R. A.; Ricarte, E. P. y Chagra, D. (2007). Concentraciones de metabolitos sanguíneos en cabras criollas con sistemas extensivos de producción en el SO de La Rioja, Argentina. *Rev. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.* 15: 473.
- Wittwer, F. (2000). *Empleo estratégico de indicadores bioquímicos en el control de problemas metabólicos nutricionales en bovinos.* En: XIII Reunión Científico- Técnica. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Merlo, San Luis. Argentina.
- Van Soest, P. J. (1975). Physico-chemical aspects of fibre digestion. En: *Digestion and metabolism in the ruminant.* McDonald, I. W. y Warner, A. C. I. (Eds.). The University of New England Publishing Unit, Armidale. 351-356 pp.

Recepción: 17 de diciembre de 2014
Envío arbitraje: 16 de febrero de 2015
Dictamen: 09 de noviembre de 2015
Aceptación: 04 de diciembre de 2015

Factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador

Factors that affect the hygienic-sanitary quality of raw milk commercialized in Calceta-Bolivar-Manabi, Ecuador

Diana C. Cedeño Alcívar,* Lenin A. Vera Macías, Pablo I. Gavilanes López, Julio V. Saltos Solórzano, Rosanna K. Loor Cusme, José F. Zambrano Ruedas, Francisco M. Demera Lucas, Alex M. Almeida Vera y Juan C. Moreira Palacios

Carrera de Agroindustrias
Escuela Superior Politécnica Agropecuaria
de Manabí “Manuel Félix López”
Campus Politécnico El Limón
km 2.7 Calceta-El Morro–El Limón
sector La Pastora-Manabí, Ecuador
*Correspondencia: carolina71992@gmail.com

Resumen

El objetivo de esta investigación fue determinar los factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda comercializada en la parroquia Calceta del cantón Bolívar, Ecuador. Se efectuó un diagnóstico mediante fichas de observación en 23 fincas y 30 lugares de expendio. Se evaluó el grado de contaminación microbiana de 30 muestras tomadas en los lugares de expendio (15 en el mercado municipal y 15 en las tiendas), mediante recuento en placa por siembra de aerobios mesófilos (NTE INEN 1529-5), *Staphylococcus aureus* (NTE INEN 1529-14), coliformes totales (NTE INEN 1529-7) y *Salmonella* (NTE INEN 1529-15). Para el procesamiento de los datos, se utilizó estadística descriptiva y análisis de

Abstract

The objective of this research was to determine the factors that affect the hygienic-sanitary quality of raw milk sold in the sock of the Bolívar canton parish. It was a diagnosis through sheets of observation on 23 farms and 30 places of sale of this parish. We assessed the level of microbial contamination of 30 samples taken from places of sale (15 samples in the municipal market) and 15 samples in stores using plate count by planting of aerobic mesophyll (NTE INEN 1529-5), *Staphylococcus aureus* (NTE INEN 1529-14), total coliforms (NTE INEN 1529-7) and *Salmonella* (NTE INEN 1529-15). Data processing was used for cluster analysis and descriptive statistics using Microsoft Excel 2010 and statistical software SPSS v.21. The

conglomerados, apoyándose con *Microsoft Excel 2010* y el *software* estadístico *SPSS v.21*. Los resultados encontrados fueron: mal manejo de la leche cruda, inadecuada infraestructura en lugares de producción y de comercialización, altos recuentos de UFC/ml en las muestras analizadas de leche cruda con un valor de 1.6×10^6 UFC/ml —el mismo que supera lo establecido por la NTE INEN 9 (2012)— que es de 1.5×10^6 UFC/ml. Por otra parte, se diseñó y entregaron 53 instructivos: 23 de Buenas Prácticas de Ordeño (tomado del *Codex Alimentarius*) y 30 de Buenas Prácticas de Comercialización (establecido por la NTE INEN 2687); por lo que se concluye que la ausencia de higiene tanto en las personas como en los utensilios y la inadecuada operación durante el ordeño, manejo y comercialización, afectan la calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador.

Palabras clave

Diagnóstico, fincas, expendio, contaminación, UFC/ml.

found results were mishandling of raw milk, inadequate infrastructure in places of production and marketing, high counts of CFU/ml in the analyzed samples of raw milk with a value of 1.6×10^6 CFU/ml, which exceeds the established by the NTE INEN 9 (2012), which is 1.5×10^6 CFU/ml, on the other hand was designed and delivered educational 53, 23 good practices of milking taken from *Codex Alimentarius* and 30 good practices of established marketing by the NTE INEN 2687, for which it is concluded the lack of hygiene in people as in kitchenware and improper operation during milking, handling and marketing affecting the hygienic-sanitary quality of raw milk in Calceta-Bolivar – Manabi, Ecuador.

Keywords

Diagnosis, farms, dispensing, pollution, CFU/ml.

Introducción

Agudelo y Bedoya (2005), manifiestan que la leche de vaca es un alimento de primera necesidad y de gran demanda por su alto valor nutricional, que se refleja en sus componentes; además, es considerada un alimento básico en la dieta de niños, ancianos, enfermos, y en general de toda la población. La leche cruda es un medio propicio e idóneo para el crecimiento y desarrollo de microorganismos causantes de la alteración de este alimento.

Estudios han demostrado que los principales factores que afectan la calidad de la leche cruda se debe al deficiente manejo en las etapas de ordeño, transporte y procesamiento de esta materia prima (Vittori *et al.*, 2008), todos éstos están asociados a la presencia de microorganismos de origen fecal, como *Salmonella* (Ekici *et al.*, 2004). Por su parte, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se relacionan con infecciones de la ubre (mastitis), piel, mucosas, y tracto respiratorio de los animales, así como del propio ser humano; mientras la presencia de *Salmonella* implica falta de inocuidad de los alimentos (Signorini *et al.*, 2008), lo que afecta directamente a las características sensoriales de la leche mediante la aparición de sabores rancios o picantes en la misma (Ma *et al.*, 2000).

Con referencia a lo anterior, en la parroquia Calceta del cantón Bolívar, la leche es recibida en los bordillos de las veredas del mercado municipal, los cuales se encuentran

en condiciones inadecuadas, principalmente por la presencia de residuos orgánicos de vegetales y vísceras de pescado que son desechados por los vendedores; esto genera olores desagradables y focos de contaminación. Todo esto, sumado al deficiente manejo de la leche en su obtención, altera sus características microbiológicas.

Por otro lado, Martínez *et al.* (2014), también les atribuyen a una inadecuada conservación, manejo, limpieza y desinfección de los utensilios, el incumplimiento de las normas de higiene y manipulación en los puntos de venta, uso de utensilios inadecuados (generalmente plásticos); y, unido a la carencia de agua potable, detergentes y desinfectantes necesarios para una adecuada sanitización. Dadas las condiciones que anteceden, se planteó como objetivo determinar los factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en la parroquia Calceta del cantón Bolívar (Ecuador).

Materiales y métodos

En la parroquia Calceta existen 40 fincas productoras de leche: 17 la entregan a los centros de acopio y las 23 restantes la comercializan; estas últimas, consideradas en esta investigación, se encuentran distribuidas en los sectores: Guabal (1), Sarampión (4), La Juanita (1), El Paraíso (1), La Palizada (2), vía a Quiroga, Platanales (1), Zapote (2) vía a Loma seca, Las Delicias (2), El Corozo (2), vía a Miraflores, Arrastradero (2), Cabello (1), Gramal (1), El Limón (1), aledañas a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Mocochal (1), vía al cementerio y Quinta El Rocío (1), vía al cantón Junín; así como también se desarrolló en 15 lugares de expendio de leche en el mercado municipal, y en 15 tiendas distribuidas en diferentes sectores, como: Barrio Norte (3), Santa Lucía (1), San Bartolo (3), Zona Central (5), Las Mercedes (1) y Platanales (2). En estos lugares se identificaron las fuentes de contaminación mediante fichas de observación y sólo la toma de muestra se hizo en la fase de expendio (mercado municipal y tiendas) para la evaluación microbiana en el laboratorio de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López ESPAM-MFL, ubicada en la parroquia Calceta-Cantón Bolívar-Provincia Manabí (Ecuador).

Diagnóstico descriptivo

El diagnóstico descriptivo se efectuó en las fincas y en los lugares de expendio, mediante fichas de observación, donde se incluyeron los siguientes indicadores: ubicación y limpieza de las zonas destinadas al ordeño, comercialización de la leche cruda, equipos y utensilios empleados en la recolección, almacenamiento, transporte y comercialización de este alimento, suministros de agua y prácticas generales de higiene en todo el manejo de la leche cruda.

Toma de muestras

De las 23 fincas en las que se distribuye leche, en el mercado y tiendas de la parroquia Calceta, se recolectaron 30 muestras en envases plásticos estériles: 15 de leche cruda (29 ± 1 °C) en el mercado municipal y 15 de leche cruda (4 °C) en las tiendas; las mismas que fueron llevadas en refrigeración al laboratorio para ser analizadas.

Técnicas analíticas

Para el recuento en placa de aerobios mesófilos, se utilizó el procedimiento descrito por la Norma Técnica Ecuatoriana 1529-5 (2012); para el de placa de coliformes totales, se determinó mediante el procedimiento descrito por la NTE INEN 1529-7 (2013); el de placa de *Staphylococcus aureus*, se aplicó la técnica de la NTE INEN 1529-14 (2013); y el de placa de *Salmonella spp.*, se realizó mediante la técnica de la NTE INEN 1529-15 (2013).

Elaboración de los instructivos

Se elaboraron dos instructivos: el primero, “Buenas prácticas de ordeño”, que se basó en el *Codex Alimentarius* (2004); y el segundo, “Buenas prácticas de comercialización”, basado en la NTE INEN 2687 (2013); los cuales, posteriormente, fueron entregados a los productores y comercializadores de leche cruda.

Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se utilizó estadística descriptiva y análisis de conglomerados utilizando *Microsoft Excel 2010* y el *software* estadístico SPSS v.21.

Resultados

Diagnóstico en el ordeño, recolección, transporte y almacenamiento

Los resultados obtenidos en el diagnóstico efectuado en el ordeño, recolección, transporte y almacenamiento mostraron que el 65% de las fincas se encuentran cerca de escuelas, canchas deportivas y otras fincas; mientras que el 83% no realizan limpieza y sanitización de las salas de ordeño, ya que éstas no son construidas bajo techo y con paredes, sino con cercas de caña, madera y alambre de púas y los pisos son de tierra; de la misma manera, el 70% de las áreas de ordeño tienen presencia de animales domésticos (como perros y aves de corral).

El 100% de las fincas realizan ordeño manual y la leche se almacena en tanques de acero galvanizado, ya que no disponen de equipos de ordeño mecánico y de almacenamiento con refrigeración; el 78 % de los equipos y utensilios en el ordeño, recolección, almacenamiento y transporte no se limpian y desinfectan debidamente, lo que evidencia la presencia de estiércol en baldes recolectores de leche.

El 65% de las fincas disponen de agua suficiente, pero no apta debido a que emplean agua de pozo que no es tratada; y en lo que respecta al 78% no cuentan con pilas de agua con pisos, paredes y techo sanitizable, que permitan enfriar la leche después de ser ordeñada.

En lo que concierne al lugar de ordeño, el 83 % no se mantienen limpios y libres de acumulaciones de estiércol, orina y residuos de alimentos del ganado; asimismo, el 65 % de los productores no realizan desinfección de ubres en toda la rutina de ordeño, sólo se efectúa antes de éste; por su parte, el 35% de los equipos y utensilios empleados en el ordeño, recolección, almacenamiento y transporte no son adecuados, ya que presentan

acumulaciones de grasa láctea en el interior y exterior de estos recipientes; también se evidenció que el 17 % de los productores no filtran la leche antes de depositarla en los tanques de almacenamiento, y el 65 % no aplican normas de higiene (como lavado de manos y brazos en la rutina de ordeño).

Diagnóstico en los lugares de expendio (mercado municipal y tiendas)

En el mercado municipal el 100 % de las áreas destinadas a la comercialización no se encontraron ubicadas en lugares limpios, ordenados, construidos con materiales sanitizables y con disposición de agua potable, debido a que éstas se encontraban cerca de puestos de venta de comida, legumbres y pollo, así como también áreas ubicadas en los bordillos de las veredas en el exterior del mercado; asimismo, el 53 % no limpian y desinfectan las áreas de expendio, el 100 % de éstas se encuentran cerca de desagües, recipientes sucios, tachos de basura, dinero y fundas plásticas con otros productos.

El 20 % de las tiendas no se encuentran ubicadas en zonas adecuadas, debido a que algunas de ellas están cerca de puestos de venta de frutas, vegetales y carnes.

El 87 % de los equipos y utensilios empleados en el mercado municipal, para el almacenamiento de leche, no son los adecuados debido a que éstos son de plástico; y, en algunos casos, el 20 % utilizan recipientes reutilizados de pesticidas. Se confirmó que el 100 % no cumple con una adecuada limpieza y desinfección.

Por su parte, el 13 % de los equipos y utensilios empleados en las tiendas no son los adecuados, ya que manejan recipientes plásticos reutilizados que no son desinfectados correctamente (botellas de agua y gaseosa); y en cuanto a la limpieza y desinfección, el 20 % no cumple con esta actividad.

En el mercado municipal el 100 % de los comerciantes de leche realizan el envasado en fundas plásticas limpias y en buen estado; asimismo, el 100 % realizan el expendio sin refrigeración y las áreas donde se comercializan no se mantienen limpias ni ordenadas y, los comerciantes de leche no usan la vestimenta apropiada para efectuar el expendio de este alimento.

Se evidenció que el 100 % de los comercializadores de leche en las tiendas realizan el envasado en fundas plásticas limpias y en buen estado; en cambio, no usan la vestimenta adecuada para efectuar el expendio de este alimento. En lo que respecta a la refrigeración, el 27 % de las tiendas no cumplen con esta actividad; de igual manera, el 33 % no realiza la comercialización de leche en áreas limpias y ordenadas.

Evaluación microbiana

Como se observa en la figura 1, las muestras de leche cruda del mercado municipal, se produjeron tres *clusters*: el primero, se conformó por las muestras 1,7 y 11, que resultaron ser las menos contaminadas, con una media de 1.067×10^6 UFC/ml (aerobios mesófilos), 1.767×10^4 UFC/ml (coliformes totales) y 9.333×10^2 UFC/ml (*Staphylococcus aureus*); mientras, el segundo *cluster* conglomeró las muestras 4, 10, 3, 14, 9, 2, 12 y 6, que resultaron estar contaminadas con una media de 1.582×10^6 UFC/ml (aerobios mesófilos), 9.000×10^4 UFC/ml (coliformes totales) y 3.538×10^6 UFC/ml

(*Staphylococcus aureus*); y, finalmente, el tercer *cluster* conglomeró las muestras 5, 8, 13 y 15, que resultaron ser las más contaminadas, con una media de 2.282×10^6 UFC/ml (aerobios mesófilos), 9.850×10^4 UFC/ml (coliformes totales) y 4.325×10^3 UFC/ml (*Staphylococcus aureus*).

En la figura 2, de manera semejante, el análisis del *cluster* efectuado a las muestras de leche cruda tomadas en las tiendas, se conformaron por tres *clusters*; donde el primer agrupamiento se dio por la muestra 5, el cual es el más bajo de todos los conglomerados, ya que presenta una media de 9.000×10^4 UFC/ml (aerobios mesófilos), $<1.0 \times 10^1$ UFC/ml (coliformes totales) y 4.500×10^3 UFC/ml (*Staphylococcus aureus*); seguido del segundo conglomerado, formado por las muestras 3, 7, 8, 9 y 10, las cuales fueron las menos contaminadas, con una media de 8.300×10^5 UFC/ml (aerobios mesófilos), 2.000×10^2 UFC/ml (coliformes totales) y 1.200×10^2 UFC/ml (*Staphylococcus aureus*); y el tercer conglomerado, formado por las muestras 4, 13, 15, 2, 6, 14, 11, 12 y 1, que resultaron ser altamente contaminadas, con una media de 1.622×10^6 UFC/ml (aerobios mesófilos), 3.978×10^4 UFC/ml (coliformes totales) y 3.878×10^3 UFC/ml (*Staphylococcus aureus*).

Figura 1
Cluster formado de la evaluación microbiana
de las muestras de leche cruda tomadas en el mercado municipal.

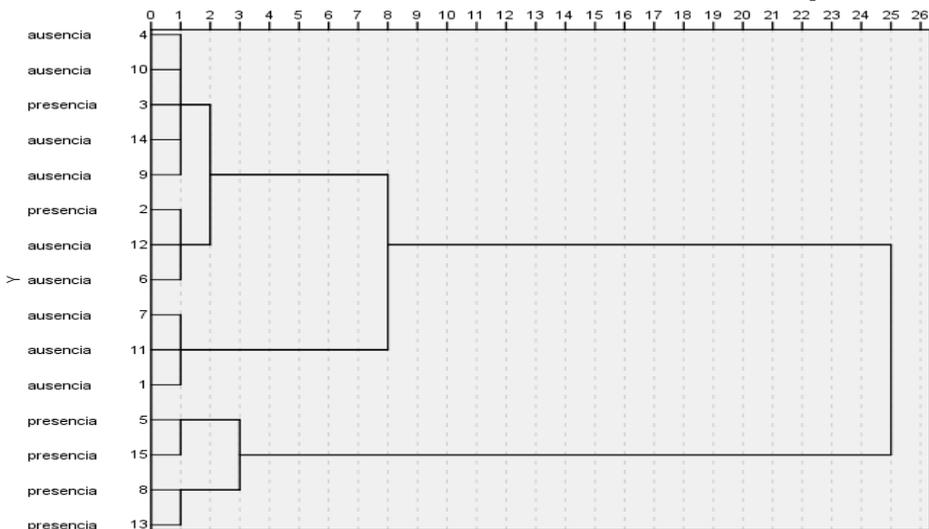
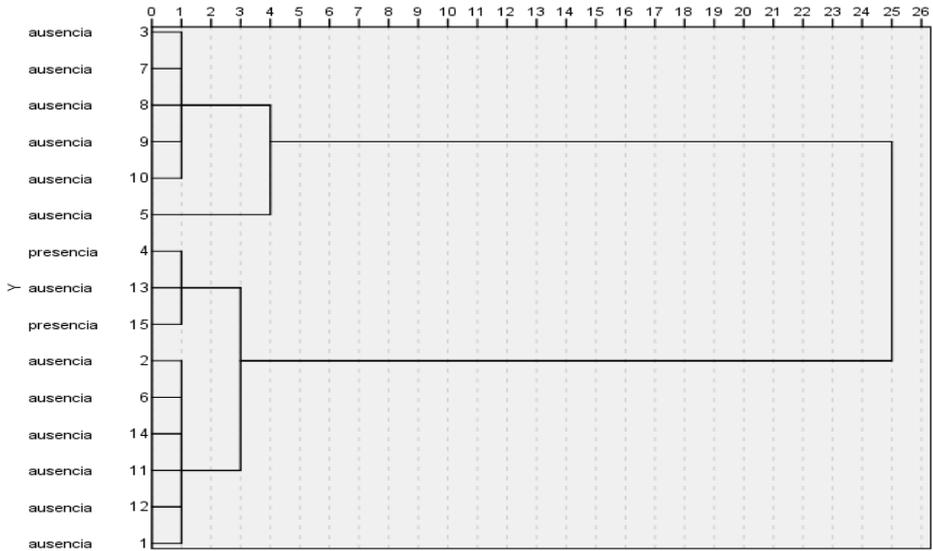


Figura 2
 Cluster formado de la evaluación microbiana
 de las muestras de leche cruda tomadas en las tiendas.



En este estudio se encontró presencia de *Salmonella* en las muestras de leche cruda con mayor carga microbiana y ausencia en las que presentaron menor recuento de UFC/ml, tanto en el mercado (40 %), como para las tiendas (17 %). En el caso de este microorganismo no se cuantificó, debido a que según el RTCR (2006), este parámetro microbiológico sólo se evalúa como positivo o negativo en leche cruda.

El cuadro 1 muestra las medias de los microorganismos analizados, encontrándose recuentos de aerobios mesófilos 1.67×10^6 UFC/ml en el mercado municipal y 1.26×10^6 UFC/ml en las tiendas; recuentos de coliformes totales 7.78×10^4 UFC/ml (mercado municipal), 2.39×10^4 UFC/ml (tiendas); finalmente, en recuentos de *S. aureus* 3.23×10^3 UFC/ml (mercado municipal) y 2.67×10^3 UFC/ml (tiendas).

Cuadro 1
Unidades formadoras de microorganismos presentes
en muestras de leche cruda tomadas en el mercado municipal y tiendas.

<i>Muestra relacionada</i>	<i>Media de las muestras analizadas UFC/ml</i>	<i>n</i>
Aerobios mesófilos (mercado municipal)	1.67 x 10 ⁶	15
Aerobios mesófilos (tiendas)	1.26 x 10 ⁶	15
Coliformes totales (mercado municipal)	7.78 x 10 ⁴	15
Coliformes totales (tiendas)	2.39 x 10 ⁴	15
<i>Staphylococcus aureus</i> (mercado municipal)	3.23 x 10 ³	15
<i>Staphylococcus aureus</i> (tiendas)	2.67 x 10 ³	15

Manejo adecuado de la leche cruda

Para contribuir con el manejo adecuado, en cuanto a la higiene y sanidad de la leche cruda producida y comercializada en la parroquia Calceta del Cantón Bolívar, se entregó un instructivo de “Buenas Prácticas de Ordeño” (cuadro 2) a los productores, basado en el *Codex Alimentarius* (2004) y un instructivo de “Buenas Prácticas de Comercialización” (cuadro 3) a los comercializadores, basado en la NTE INEN 2687 (2013), donde se hizo énfasis principalmente en aplicar Buenas Prácticas de Higiene en todo el manejo de la leche, en lo correspondiente al ordeño y a la comercialización.

Cuadro 2

Instructivo de “Buenas Prácticas de Ordeño”, basado en el *Codex Alimentarius* (2004).

Instructivo de Buenas Prácticas de Ordeño

Este instructivo de “Buenas Prácticas de Ordeño” está basado en el *Código de Prácticas de Higiene para la Leche y los Productos Lácteos – Codex Alimentarius* (CAC/RCP 57-2004). Está elaborado con la finalidad de dar a conocer a los productores de leche cruda, de la parroquia Calceta del cantón Bolívar, las actividades que comprenden las Buenas Prácticas de Ordeño, en las que se toma en cuenta la higiene personal y la manipulación higiénico-sanitaria de este alimento; así como la limpieza y desinfección del área de ordeño, factores claves para la producción de un alimento de calidad.

1. Arrear las vacas

- Realice el arreado de las vacas con tranquilidad y buen trato, para evitar el estrés de los animales.



2. Amarrar la vaca

- Utilice sogas limpias, en buen estado y sin alteraciones.
- Haga un lazo en las patas y cola de la vaca.



3. Lavarse las manos y brazos

- Utilice jabón, agua potable o tratada con cloro.
- Lávese las manos antes del ordeño y siempre que sea necesario.



4. Realizar la prueba de mastitis

- Utilice una vasija de fondo oscuro.
- Retire los tres primeros chorros de leche de cada pezón.
- Observe su aspecto: si está alterada, con presencia de grumos, pus, color amarillo o textura acuosa, es señal de mastitis clínica.



5. Soltar el ternero (chivo)

- La presencia del ternero ayuda a liberar las hormonas involucradas en el proceso de bajada de la leche.



Continúa en la página siguiente

Viene de la página anterior

6. *Amarrar el ternero*

- Amarre el ternero cerca de la madre; así, ella estará más tranquila, permitiendo el ordeño con facilidad.



7. *Lavar los pezones de la vaca*

- Utilice agua tratada con cloro.
- Nunca remoje las zonas más altas de la ubre.
- Lave sólo los pezones (no la ubre).



8. *Secar los pezones de la vaca*

- Utilice toallas de papel desechables.
- Seque completamente los pezones, para evitar que caiga agua en la leche.
- Sólo debe ordeñar vacas que tengan los pezones limpios y secos.



9. *Ordeñe las vacas*

- Utilice baldes de acero inoxidable, aluminio o acero galvanizados limpios, en buen estado y sin alteraciones (no oxidado).
- En caso de usar baldes plásticos, éstos deben de estar en buen estado (sin ralladuras), limpios y de uso exclusivo para la leche.
- Realice el ordeño de forma constante y sin interrupción.
- Antes y después de cada ordeño, lávese las manos con agua limpia.
- Utilice ropa blanca o colores claros, no use joyas (anillos, pulseras, reloj, entre otros).



10. *Filtrar la leche*

Utilice filtros limpios, en buen estado y sin alteraciones (ya sean de *nylon*, acero inoxidable o plástico); preferiblemente, use filtros desechables para eliminarlos después de cada uso.



Continúa en la página siguiente

Viene de la página anterior

11. *Sellar los pezones de la vaca*

- Si realizó el ordeño sin ternero, efectúe el sellado de los pezones introduciéndolos (cada uno de ellos) en un recipiente pequeño con una solución desinfectante con base de tintura de yodo comercial.
- Prepare la solución desinfectante según las indicaciones del fabricante del producto.
- Si realizó el ordeño con ternero, no es necesario realizar el sellado de los pezones; ya que, cuando él mama, los pezones de la vaca los sella automáticamente con su saliva.



12. *Desamarrar las patas y cola de la vaca*

- Realice el desamarrado de las patas y cola de la vaca con tranquilidad.
- Permítale al ternero que mame el resto de la leche contenida en la ubre.



13. *Enfriar la leche*

- Realice el enfriamiento en un máximo de tres horas después del ordeño, a una temperatura de 4°C o inferior a ésta, hasta que la leche sea recolectada.
- Utilice tanques de almacenamiento limpios, en buen estado y sin alteración: preferiblemente, en acero galvanizado o inoxidable con tapa.
- En caso de no tener equipos de enfriamiento, coloque la leche en un tanque dentro de una pila con agua fresca, hasta el momento en que se transporte a la quesería o lugar de expendio (mercado o tiendas).



14. *Lavar los utensilios de ordeño*

- Utilice agua limpia y jabón.
- Lave los utensilios por dentro y por fuera.
- Revise el fondo de los recipientes, de manera que no queden residuos de leche.



Continúa en la página siguiente

Viene de la página anterior

15. *Limpiar el área de ordeño*

- Mantenga el lugar de ordeño siempre limpio y seco.
- Todos los días, después de ordeñar, retire residuos de estiércol, tierra, alimentos o basura.
- Utilice los residuos de estiércol para abono de los cultivos.



16. *Transportar la leche*

- Utilice recipientes limpios, en buen estado y sin alteraciones.
- Limpie el vehículo transportador diariamente, antes y después del transporte de la leche.
- No transporte otros alimentos, ni animales (cerdos, aves de corral, vacas, entre otros), así como objetos contaminantes (bombas de mochila, insumos agrícolas, recipientes sucios, entre otros) junto con la leche.



Cuadro 3

Instructivo de “Buenas Prácticas de Comercialización”, basado en la NTE INEN 2687 (2013).

Instructivo de Buenas Prácticas de Comercialización de leche cruda

Este instructivo de “Buenas Prácticas de Comercialización” está basado en la NTE INEN 2687 (2013). Requisito para mercados saludables. Está elaborado con la finalidad de dar a conocer a los comercializadores de leche cruda, de la parroquia Calceta del cantón Bolívar, las actividades que comprenden las Buenas Prácticas de Comercialización, al tomar en cuenta la higiene personal y la manipulación higiénico-sanitaria de la leche; así como la limpieza y desinfección del área de expendio, factores claves para la comercialización de un producto de calidad.

1. *Lavar y limpiar el área de expendio*

- Mantenga el área de expendio libre de la presencia de objetos no deseables (dinero, recipientes sucios, entre otros).
- Elimine desechos orgánicos (migas de alimentos y legumbres) de las superficies (mesas).
- Utilice agua potable y detergente.



2. *Recibir la leche*

- Reciba la leche en áreas limpias.
- Adquiera leche fresca, con olor suave, lácteo característico, y libre de olores extraños, con color blanco opalescente o ligeramente amarillento y con aspecto homogéneo, libre de materias extrañas.



Continúa en la página siguiente

Viene de la página anterior

3. *Envasar la leche*

- Realice el envasado con utensilios limpios.
- Utilice envases de buena calidad.
- Si utiliza fundas plásticas para el envasado, no la sople.



4. *Refrigerar la leche*

- Se recomienda que utilice envases individuales para su almacenamiento.
- No la almacene junto a otros alimentos.



5. *Lavar los utensilios*

- Utilice agua potable y detergente.
- Seque los utensilios con un paño limpio.



Continúa en la página siguiente

Viene de la página anterior

6. *Limpiar el refrigerador*

- Retire y lave, con agua y detergente, todas las partes desmontables del refrigerador.
- Seque todas las partes del refrigerador con un paño limpio.
- Asegúrese de limpiar el interior y las puertas del refrigerador.



7. *Practicar hábitos de higiene*

- Lávese las manos y desinféctelas, antes y después de la manipulación de la leche.
- Procure usar ropa de trabajo adecuada (ropa blanca o colores claros).
- Para el caso de las damas: procure mantener el cabello recogido, preferiblemente con una cofia.
- Evite malas prácticas: como rascarse la cabeza, tocarse la nariz, entre otros.
- Debe mantener las uñas cortas y sin esmalte.
- Evite el uso de joyas: como anillos, pulseras, reloj, entre otros.
- Evite fumar, comer o masticar chicle, estornudar o toser.
- Lávese las manos después de la manipulación de dinero o designe a otra persona para que lo manipule.
- Evite la manipulación de leche o alimentos si presenta heridas en sus manos; y si lo hace, mantenga las heridas cubiertas.



Discusión

La calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda comercializada en la parroquia Calceta no está dentro de los límites permitidos por la NTE INEN 9 (2012), ya que ésta establece $1,5 \times 10^6$ UFC/ml para aerobios mesófilos en leche cruda, y los recuentos encontrados en este estudio presentaron valores de 1.67×10^6 UFC/ml de aerobios mesófilos en el mercado municipal, la cual está fuera de este límite permitido; mientras que los valores encontrados en las tiendas, 1.26×10^6 UFC/ml de aerobios mesófilos, se encuentran por debajo de la NTE INEN 9 (2012). Sin embargo, esto no indica que la leche expandida en las tiendas sea de buena calidad, debido a que presentó altos recuentos de coliformes totales: 2.39×10^4 UFC/ml y 2.67×10^3 UFC/ml *S. aureus*, que —según el RTCR (2006)— el recuento de coliformes totales no debe de exceder de 2.0×10^3 UFC/ml y el de *S. aureus* 5.0×10^2 UFC/ml, según el Reglamento Costarricense que se tomó de referencia, porque la NTE INEN 9 (2012) no lo establece.

De la misma forma, Álvarez *et al.* (2012), consideran como leche cruda de buena calidad un recuento de 10.000 UFC/ml de aerobios mesófilos, valor que está por debajo de los encontrados en el mercado municipal y las tiendas de la parroquia Calceta, que fueron 1.67×10^6 UFC/ml y 1.26×10^6 UFC/ml aerobios mesófilos, respectivamente; los altos conteos de UFC son generados por la inadecuada higiene del personal, así como los utensilios en la obtención y comercialización de la leche.

En las fincas de la parroquia Calceta, la presencia de estiércol en las áreas de ordeño, la falta de lavado de pezones, la insuficiente higiene del personal lechero indican presencia de coliformes, con valores de 7.78×10^4 UFC/ml en las muestras de leche cruda tomadas en el mercado municipal; y 2.39×10^4 UFC/ml en las muestras de leche cruda tomadas en las tiendas. Moreno *et al.* (2007), determinaron que en fincas donde se practicaba el secado de los pezones, se disminuía el número de coliformes a 7.8×10^4 UFC/ml en comparación con las fincas donde no se implementaba esta práctica, debido a que encontraron altos recuentos de coliformes, de 1.3×10^5 UFC/ml; lo cual, atribuyen Calvino *et al.* (1998; 2001), se debe a la falta de higiene de los establecimientos lecheros, así como en el sistema de obtención de la leche; además, Valero *et al.* (2012) indican la falta de implementación de Buenas Prácticas de Ordeño, lo cual, favorece el crecimiento de *S. aureus*, debido a que en su estudio en fincas a nivel de cuartos mamarios encontraron 2.12×10^3 UFC/ml hasta 8.29×10^3 UFC/ml.

En lo que respecta a *Salmonella*, el Reglamento Técnico Costarricense (2006) establece que la leche cruda que se comercializa directamente para consumo humano, debe tener ausencia de este microorganismo; por lo cual, ninguna de las muestras tomadas en el mercado municipal y tiendas son aptas para consumo, debido a que se encontró presencia de *Salmonella* en seis muestras de leche cruda expandida en el mercado municipal y dos en las tiendas; el manejo inadecuado que se le puede dar a la leche cruda hace que se atribuya la presencia de este microorganismo; es así como Espinosa *et al.* (2014) demostraron que brotes por *Salmonella spp* dieron lugar a 46 casos (80.70 % del total de casos), debido al consumo de queso fresco producido con leche cruda no higienizada, procedente de una granja y adquirido por venta ambulante.

Conclusiones

En el presente estudio se encontraron resultados positivos microbiológicos en ciertas zonas de producción (como lavado de pezones antes del ordeño, filtración de la leche y lavado de manos del personal lechero); sin embargo, la inadecuada manipulación de la leche durante la comercialización hace que se alteren las características microbiológicas de ésta, desmejorando así su calidad.

La falta de higiene en algunos lugares de producción, la deficiente manipulación e higiene de los utensilios empleados, así como también la higiene del personal interviniente en la producción y comercialización de la leche cruda favorecen los altos recuentos encontrados de aerobios mesófilos, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y presencia de *Salmonella*.

La calidad higiénico-sanitaria de la leche en Calceta-Bolívar-Manabí (Ecuador), se ve afectada por la ausencia de higiene tanto en las personas como en los utensilios; asimismo, por una inadecuada operación durante el ordeño, manejo y comercialización.

Literatura citada

- Agudelo, D. y Bedoya, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*. 2(1):38-42.
- Álvarez, G.; Herrera, J.; Bastida, A. y Barreras, A. (2012). Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. *Revista Médica Veterinaria*. 44(3):237-242.
- Calvinho, L. F.; Canavesio, V. R. y Aguirre, N. (1998). Análisis de leche del tanque de frío: Una herramienta para detectar problemas y proponer soluciones. *Publicación Miscelánea*. 89:73-74.
- Calvinho, L. F.; Canavesio, V. R. y Aguirre, N. (2001). Análisis de leche de tanque de frío. *Chacra*. 843: 70.
- Codex Alimentarius. (2004). *Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos*. <http://www.codexalimentarius.org> (Consultada el 19 agosto de 2014).
- Espinosa, L.; Varela, C.; Martínez, E. y Cano, R. (2014). Brotes de transmisión alimentaria asociados al consumo de leche cruda, España 2002-2012. *Boletín epidemiológico semanal*. 22(10):116-129.
- Ekici, K.; Bozkurt, H. e Iseyici, O. (2004). Isolation of Some Pathogens from Raw Milk of Different Milch Animals. *Revista Journal of nutrition*. 3(3): 161-162.
- Ma, Y.; Ryan, C.; Barbano, D.; Galton, D.; Rudan, M. y Boor, K. (2000). Effects of somatic cell count on quality and shelf life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy science*. 83(2): 264-274.
- Martínez, A.; Villoch, A.; Ribot, A. y Ponce, P. (2014). Diagnóstico de Buenas Prácticas Lecheras en una cooperativa de producción. *Revista de Salud Animal*. 36(1):14-18.
- Moreno, F.; Martínez, G.; Mancera, V.; Ávila, L. y Vargas, M. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*. 1(14):61-83.
- NTE INEN 9. (2012). *Leche cruda. Requisitos*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 16 de abril de 2014).
- NTE INEN 1529-5. (2012). *Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 9 de mayo de 2014).
- NTE INEN 1529-7. (2013). *Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 9 de mayo de 2014).
- NTE INEN 1529-15. (2013). *Salmonella. Método de detección*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 9 de mayo de 2014).
- NTE INEN 1529-14. (2013). *Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 9 de mayo de 2014).

- NTE INEN 2687. (2013). *Mercados saludables. Requisitos*. <http://www.normalizacion.gob.ec/> (Consultada el 19 de agosto de 2014).
- RTCR (Reglamento Técnico Costarricense). (2006). *Leche cruda y leche higienizada*. <http://www.pgrweb.go.cr> (Consultada el 29 de octubre de 2014).
- Signorini, M.; Sequeira, G.; Bonazza, J.; Santina, R.; Martí, L.; Frizzo, L. y Rosmini, M. (2008). Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias en la producción primaria de leche. *Revista Científica, FCV-LUZ*. 18(2):207-217.
- Valero, K.; Rivera, J.; Valbuena, E; Boscán, L.; Valeris, R.; Castro, G. y Briñez, W. (2012). Caracterización bioquímica y producción de enterotoxinas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche cruda y queso fresco artesanal en fincas del estado de Zulia. *Revista FCV-LUZ*. 22(4):303-314.
- Vittori, J.; Schocken-Iturrino, R.; Poiatti, M.; Pigatto, C.; Chioda, T.; Martins, C.; Rojas, G. y Ferreira, A. (2008). Microbiological quality of UHT goat milk: research of bacteria *Staphylococcus*, *Bacillus* and *Clostridium* genus. *Revista Ciencia rural*. 38(3): 761-765.

Recepción: 18 de junio de 2015

Envío arbitraje: 30 de julio de 2015

Dictamen: 16 de noviembre de 2015

Aceptación: 22 de noviembre de 2015

Aproximación al uso de hongos entomopatógenos y vacunas para el control sostenible de garrapatas en sistemas ganaderos: revisión*

Approach to the use of entomopathogenic fungi and vaccines paragraph sustainable control of ticks in farming systems: review

Ana Carolina Moncada González,^{1,3} David Villar Argai,² Jenny Jovanna Chaparro Gutiérrez,² Joaquín Angulo Arizala³ y Liliana María Mahecha Ledesma^{3*}

¹Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de producción Agropecuaria – CIPAV
Área de ganadería sostenible
Cali, Colombia.

²Grupo Véricel
Escuela de Medicina Veterinaria-Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia.

³Grupo GRICA, Escuela de Producción Animal
Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia
Medellín, Colombia.

*Correspondencia: liliana^{mahecha}ledesma@gmail.com
Estudio de revisión

Resumen

La resistencia desarrollada por las garrapatas frente a los acaricidas de síntesis, hace necesario replantear las estrategias utilizadas actualmente para su control. Los programas de manejo integrado de parásitos se presentan como una alternativa que, al promover estrategias de control basadas en la ecología y la epidemiología de cada especie de parásito, reducen el riesgo de desarrollo de resistencia. Dichas estrategias incluyen la aplicación de vacunas antigarrapata y hongos entomopatógenos que afectan la viabilidad y la reproducción en las garrapatas. Sin embargo, la información obtenida entre estudios sobre hongos y vacunas ha sido inconsistente, por lo que hoy en día ambas representan áreas de investigación bastante activas. El propó-

Abstract

Resistance developed by ticks to acaricides, makes necessary to think again ectoparasite control strategies traditionally used in livestock farming. Integrated parasite management techniques, appear as an alternative, due to the low risk of resistance developing because of their control strategies based on the ecology and epidemiology of ticks. These strategies include the application of anti-tick vaccines and entomopathogenic fungi which affect tick viability and reproduction. Although encouraging results have been obtained from their use, information gleaned from studies of these strategies has been inconsistent, which makes this a very active research area. These review has the purpose of studying the mechanisms of action from

sito de este trabajo consistió en realizar una revisión descriptiva sobre los mecanismos de acción de la vacuna antigarrapata y los hongos entomopatógenos, en la búsqueda de una posible complementariedad que permita el diseño de planes de aplicación conjunta, con miras a mejorar los resultados de control en sistemas ganaderos. En la primera parte del documento se revisa la actual problemática asociada al uso y abuso de los acaricidas de síntesis, haciendo un énfasis particular en el tema de resistencia; posteriormente, se describen los mecanismos de acción de hongos y vacunas que afectan la reproducción y supervivencia en garrapatas, y se incluye información relevante sobre su eficacia. Se espera que la información aquí recolectada, sirva como base para elaborar estudios que permitan identificar la utilidad de los hongos entomopatógenos y las vacunas antigarrapata al interior de los programas de manejo integrado de parásitos en ganadería.

Palabras clave

Beauveria bassiana, control integrado de parásitos, *Metarhizium anisopliae*, resistencia a antiparasitarios, *Rhipicephalus microplus*.

entomopathogenic fungi and antitick vaccines, in search for a supportive interaction between both strategies, in the order to improve control results. In the first section of this document, a descriptive review of the problems associated with the use an abuse of acaricides, with an emphasis on resistance is performed; action mechanisms through which fungi and vaccines affect the reproduction and survival of ticks are described and relevant information about their effectiveness is completed. Thus, it is hoped that the information obtained support new studies that allow to understand how the combined use of fungi and vaccines may be utilized to improve levels of control of tick populations in livestock farms.

Keywords

Beauveria bassiana, Integrated Parasite Control, *Metarhizium anisopliae*, antiparasite resistance, *Rhipicephalus microplus*.

Introducción

R*hipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae), más conocida como la garrapata común del ganado, es un parásito hematófago obligado, especie específica de los bovinos e importante vector de los hemoparásitos *Babesia* sp. (Piroplasmida: Apicomplexa) y *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). Su ciclo de vida se caracteriza por ser de un solo hospedero y estar compuesto por una fase parásita y otra no parásita; en la primera fase se presentan los estadios de larva, ninfa y gonandro o adulta ingurgitada, según se diferencie en macho o hembra; en la segunda fase, pasa por los estadios de kenogina (hembra totalmente ingurgitada que se desprende de su hospedero, lista para ovipositar en el ambiente), huevo y larva (Ullmann *et al.*, 2008).

Diferenciar la fase del ciclo de vida donde se encuentran las garrapatas es fundamental para el desarrollo de las estrategias de control más adecuadas; por ejemplo, no sería recomendable tratar las formas de vida libre en las praderas, por medio de la aplicación de los mismos productos utilizados sobre los animales, ya que éstos suelen ser poco selectivos y se desconoce cómo afectan a otras especies y al ambiente (Khan *et al.*, 2012).

Una característica ecológica fundamental a tener en cuenta para el control de *R. microplus*, es la duración de su ciclo de vida. Éste puede variar, dependiendo de factores ambientales externos, como la temperatura y la humedad (Sonenshine *et al.*, 2002; Anderson y Magnarelli, 2008), pero por lo general, puede durar de meses a años. La fase parásita del ciclo, que es en la que se enfocan la mayoría de programas de control convencional (Benavides, 2009), puede durar entre tres a cuatro semanas (Iowa State University, 2007). Con base en esta información, cualquier estrategia a implementar contra *R. microplus*, debe actuar para controlar las poblaciones por periodos superiores a la duración de la fase parásita; y así, se logra reducir tanto las poblaciones sobre los animales, como las larvas presentes en las praderas.

Los costos económicos asociados al control de *R. microplus* superan los US\$ 109 miles de millones de dólares anuales a nivel global (Avendaño y Correa, 2002), y es probable que debido al desarrollo de resistencia, estos valores se incrementen en los próximos años. La reducción y aún ausencia de efectividad que se evidencia en la actualidad respecto del uso de sustancias acaricidas de síntesis, motiva a los ganaderos poco informados y bajo un inadecuado acompañamiento técnico, a aumentar la concentración y frecuencia en la aplicación de acaricidas; lo cual convierte el control parasitario en un círculo vicioso, donde cada vez se requiere de un mayor consumo de productos, lo que además de incrementar los costos económicos para el productor, tiene implicaciones negativas sobre el ambiente, y la salud tanto de los animales, como de los propios operarios y los consumidores.

Por otra parte, algunos acaricidas y pesticidas orgánicos, tienen un efecto bioacumulativo en tejidos, como el músculo y la glándula mamaria de los animales expuestos a éstos. Al consumir carne y leche, estas sustancias pueden ser biomagnificadas en los seres humanos, exponiendo la salud de los consumidores a mediano y largo plazo. Sustancias de uso común para el control de ectoparásitos —como las cipermetrinas, el clorpirifos y el diazinón— presentan altos coeficientes de partición octanol/agua ($\log K_{ow}$), indicativo de un considerable potencial de acumulación en el suelo y en los tejidos de los seres vivos (Narváez *et al.*, 2012).

La adopción de estrategias de producción que coexistan en armonía con las dinámicas ecológicas, presentes al interior de los agroecosistemas, podría ser parte de la solución a la problemática planteada. Un ejemplo de esto son los sistemas silvopastoriles en ganadería, los cuales generan una amplia variedad de beneficios gracias a la articulación del componente árbol dentro del paisaje ganadero; entre los que se destacan aquellos asociados al control de ectoparásitos, como son la recuperación de aves e insectos que actúan como enemigos naturales de las garrapatas (biodiversidad funcional), ayudando a mantener las poblaciones bajo control, y una mayor oferta de alimento y mejores condiciones de confort para los animales en las praderas, así como reduciendo el estrés y fortaleciendo el sistema inmune; por lo que se disminuye la susceptibilidad de los animales frente a las altas infestaciones (Murgueitio y Giraldo, 2009).

A pesar de los beneficios mencionados, las menores temperaturas y tasas de evapotranspiración, que se dan en respuesta a un mayor sombrión al interior de los sistemas silvopastoriles, facilita la supervivencia de las garrapatas, principalmente en sus formas de vida libre, por lo que es necesario complementar dichos beneficios con otras estrategias de control.

El fomento de sistemas ganaderos más sostenibles, así como la reducción, o aun completa eliminación en el uso de pesticidas que puedan afectar el ambiente y la salud animal y humana, son algunos de los objetivos propuestos por el gremio ganadero en Colombia; específicamente, en su Plan Estratégico de la Ganadería (PEGA) 2019 (FEDEGAN, 2006). Éste surge en respuesta a la necesidad de mejorar la eficiencia de la industria ganadera en el país y aumentar su competitividad en los mercados internacionales; por tanto, la inocuidad de los productos de origen animal se convierte en un tema clave dentro de estos programas, y el uso irracional de agroquímicos y medicamentos veterinarios es una práctica que no tendría lugar en ellos (FEDEGAN, 2006).

Por lo expuesto anteriormente, es necesario investigar en nuevas estrategias de control que logren reducir la dependencia a los acaricidas de síntesis en los programas de control de garrapatas, y que respondan de manera satisfactoria a las nuevas demandas de producción. La adopción de los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) usados en producción agrícola, surge como una alternativa interesante; incluso, algunos autores ya han adaptado la sigla MIP —en veterinaria— como Manejo Integrado de Parásitos (Benavides, 2009). El MIP promueve un abordaje integral del problema de las parasitosis, enfocándose en la ecología y la epidemiología del parásito.

La idea consiste en implementar diversas estrategias de manejo que se adapten según las necesidades y capacidades del productor; entre algunas de éstas, cabe mencionar el uso de razas de ganado resistentes a las altas infestaciones, programas de rotación y descanso de praderas, implementación de plantas repelentes como el pasto *Melinis minutiflora* (Thompson *et al.*, 1978; Mwangi *et al.*, 1995; Fernández-Ruvalcaba *et al.*, 2004); pastoreo alternado con otras especies animales productivas (ovinos); recuperación de las poblaciones de enemigos naturales como aves, hormigas y otros (Giraldo y Uribe 2007; Murgueitio y Giraldo, 2009); inmunización, aplicación de fitoquímicos y uso de biopesticidas como los hongos entomopatógenos *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) (Mondal *et al.*, 2013).

La presente revisión tiene como objetivo identificar una posible complementariedad entre los mecanismos de acción de hongos entomopatógenos y la vacuna antigarrapatas en el control de *R. microplus*, en la búsqueda por mejorar los resultados de control en los programas de manejo integrado de garrapatas en sistemas ganaderos; y que dicha información sirva como punto de partida para la elaboración de estudios que permitan verificar su aplicabilidad en condiciones de campo.

Mecanismos de resistencia

El desarrollo de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se da como resultado de la eliminación constante de individuos genéticamente susceptibles a cualquiera de estas sustancias, fomentando la supervivencia de los individuos insensibles (resistentes) (Alonso-Díaz *et al.*, 2006). Los mecanismos que confieren la resistencia varían entre individuos, y los mejor descritos, hasta el momento, incluyen la insensibilidad en el sitio de acción, la resistencia metabólica y la disminución en la permeabilidad de la cutícula de la garrapata (Alonso-Díaz *et al.*, 2006; Guerrero *et al.*, 2012b).

Para el caso de los piretroides, la resistencia está dada por la modificación del sitio donde actúa el acaricida, para reducir su sensibilidad a dicha sustancia. Esta modificación es atribuida a una mutación puntual en un aminoácido, que puede presentarse en uno de los distintos dominios del gen que codifica para los canales de sodio voltaje-dependientes ubicados en las células del sistema nervioso del parásito (Jonsson *et al.*, 2010; Lovis *et al.*, 2012); la resistencia metabólica se da por el desarrollo de estrategias de desintoxicación más eficientes, o por la capacidad para secuestrar sustancias acaricidas, gracias a la acción de varios complejos enzimáticos como las citocromo P450 esterasas, la glutatión S-transferasa (Alonso-Díaz *et al.*, 2006; Díaz, 2012; Guerrero *et al.*, 2012b) y los transportadores ABC (Pohl *et al.*, 2012). Como último mecanismo, está el aumento en la concentración lipídica de la cutícula de la garrapata, fenómeno que reduce la capacidad de penetración de los acaricidas a través de ésta (Alonso-Díaz *et al.*, 2006).

La detección de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se da por medio de la aplicación de técnicas *in vitro* como la prueba de inmersión de adultas (AIT), la prueba de inmersión de larvas y la prueba del paquete de larvas (FAO, 2004). Gracias a estas técnicas, se han logrado identificar numerosas poblaciones de garrapatas resistentes a la mayoría de moléculas acaricidas que hoy en día se encuentran en el mercado.

Los casos de resistencia reportados en América Latina son múltiples y se extienden a lo largo del continente. El primer caso de resistencia a ivermectinas en México, fue reportado para varias poblaciones de garrapatas en el estado de Yucatán (Pérez-Cogollo *et al.*, 2010). Estudios realizados en el estado de Veracruz (México), identificaron poblaciones de garrapatas multiresistentes a compuestos organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz y lactonas macrocíclicas (Fernández-Salas *et al.*, 2012). En un estudio realizado en cinco estados de Brasil, se reportó la existencia de poblaciones de *R. microplus* resistentes a los piretroides sintéticos, al amitraz y a los organofosforados, con frecuencias del 94, 88 y 82%, respectivamente (Lovis *et al.*, 2013).

En seis regiones diferentes del estado de San Pablo (Brasil), otro estudio reveló que el 83% de la población de garrapatas estudiada mostró resistencia a la Cipermetrina, 86% a la Deltametrina y un 65% al Clorpirifos; sumado a esto, se identificó que el 50% de la población fue resistente tanto a los piretroides sintéticos como a los organofosforados; es decir, presentaron resistencia múltiple (Mendes *et al.*, 2011).

Por otra parte, Pohl *et al.* (2012) reportan en Brasil una cepa de *R. microplus* denominada “Jaguar”, la cual presenta resistencia a compuestos organofosforados, piretroides sintéticos, amitraz y lactonas macrocíclicas.

Estudios recientes sobre esta misma cepa reportan, además, resistencia al fluazurón, un regulador de crecimiento con propiedades acaricidas que hasta ahora no había presentado problemas de resistencia (Reck *et al.*, 2014). Estudios realizados en Argentina, registraron la existencia de una cepa de *R. microplus* denominada “Santo Tomé”, resistente al amitraz y a la cipermetrina (Cutullé *et al.*, 2013). También se reportó resistencia al fipronil en México (Miller *et al.*, 2013), Brasil (Castro-Janer *et al.*, 2010a; Lovis *et al.*, 2013) y Uruguay (Castro-Janer *et al.*, 2010b).

En Colombia, el desarrollo de poblaciones de garrapatas resistentes a los acaricidas se viene registrando hace más de una década. En 1993, Betancourt identificó la existencia de poblaciones resistentes a la flumetrina, deltametrina, alfacipermetrina y lamdacialotrina en ocho cepas diferentes de *R. microplus*. En otros estudios, Benavides *et al.* (2000) identificaron en la cepa montecitos de *R. microplus*, multiresistencia a organofosforados, piretroides sintéticos y al amitraz. En un estudio *in vitro* realizado a partir de garrapatas recolectadas en 71 explotaciones ganaderas ubicadas en diferentes regiones de Colombia, Araque *et al.* (2014) estimaron una eficacia mayor al 90% para el amitraz en sólo 3% de las muestras recolectadas.

Recientemente, se evidenció una reducción en la eficacia de las láctonas macrocíclicas, cipermetrina y amitraz para controlar las infestaciones por garrapatas en sistemas ganaderos ubicados en dos municipios del departamento de Antioquia (López *et al.*, 2015). En la actualidad, no se cuenta con la suficiente información para entender a cabalidad el estatus de Colombia frente al problema de resistencia, y aunque existen algunos estudios puntuales donde se ha identificado la baja efectividad en los acaricidas de uso más común, aún es necesario realizar estudios que permitan identificar la magnitud del problema a nivel nacional (Díaz, 2012).

Vacunas para el control de R. microplus

La idea de usar vacunas para el control de garrapatas, surgió desde el año 1918, cuando se observó que el ganado expuesto de forma repetida a infestaciones por *R. microplus*, presentaba un número cada vez menor de garrapatas en las posteriores infestaciones (Akhtar *et al.*, 2010). Varias décadas después, el antígeno Bm86 fue aislado a partir de garrapatas semiingurgitadas, lo que representó una nueva era para el desarrollo de vacunas comerciales, como TickGARD™ y GAVAC® (Pruett, 2002). Sin embargo, aunque estas vacunas lograron comercializarse, nunca alcanzaron un 100% de eficacia, por lo que la búsqueda de nuevos antígenos que confieran una protección completa frente a las infestaciones por garrapatas continúa siendo un área de investigación bastante activa (Guerrero *et al.*, 2012a).

El mecanismo por medio del cual las vacunas logran conferir inmunidad al hospedero varía, dependiendo de si se usan antígenos de exposición natural o antígenos ocultos. Los primeros, corresponden a péptidos y proteínas normalmente secretados por la glándula salival de la garrapata, los cuales son tomados por las células dendríticas de la piel del hospedero para procesarlos; y, posteriormente, presentarlos ante los linfocitos T, preparando una respuesta inmune mediada por células a nivel local, que afecta el aparato bucal de la garrapata inhibiendo su fijación, y por ende, su alimentación (Nuttall *et al.*, 2006).

Por su parte, los antígenos ocultos se definen como moléculas antigénicas presentes en los órganos internos de la garrapata, que de forma natural nunca entran en contacto con su hospedero. Un ejemplo de ellos es la proteína Bm86, presente en las células intestinales de *R. microplus*. En este caso, los anticuerpos generados son consumidos durante el proceso de alimentación del parásito y actúan al llegar al lumen intestinal, reaccionando con el tejido, generando lesiones y pérdida de la función en el epitelio. El efecto final es

la disminución o aun inhibición del consumo de sangre por la garrapata, lo que afecta su supervivencia y capacidad reproductiva (Rodríguez-Valle, 2000; Willadsen, 2004).

Los resultados reportados sobre la efectividad de las vacunas son variables y se expresan generalmente como mortalidad de las garrapatas y de los huevos, reducción en el peso de la hembra ingurgitada y en el peso de la masa de huevos; aumento en el periodo de alimentación de la garrapata e inhibición de la muda (Nuttall *et al.*, 2006). La tendencia es a investigar nuevos antígenos que confieran una mayor protección, con el fin de crear vacunas multiantigénicas que logren afectar diferentes estructuras en la garrapata, aumentando así su efectividad (Almazán *et al.*, 2010). En esta búsqueda, Patarroyo *et al.* (2002), evaluaron el efecto de algunos polipéptidos derivados del antígeno Bm86, obteniendo una eficacia del 81% para un péptido sintético denominado SBm7462.

Algunos autores afirman que la efectividad de las vacunas antigarrapata depende, en gran medida, de que los antígenos que las conforman sean obtenidos de la cepa específica de garrapata que se quiere controlar (Guerrero *et al.*, 2012a); sin embargo, un estudio realizado en Brasil con vacunas elaboradas a partir de la cepa de *R. microplus* denominada “Campo Grande” y usada sobre garrapatas de la misma cepa, sólo registró una efectividad del 31% (Cunha *et al.*, 2012).

A pesar del bajo nivel de eficacia obtenido, los autores concluyeron que dicho antígeno podría ser usado como parte de una vacuna multiantigénica. El uso de una vacuna compuesta por las proteínas recombinantes cisteína endopeptidasa degradante de vitelina y pro-catepsina de yema de huevo de boophilus (VTDCE y BYC, por sus siglas en inglés, respectivamente) obtenida de *R. microplus*, y glutatión S-transferasa obtenida de *Haemaphysalis longicornis* (GST-HI, por su sigla en inglés), generó en los animales expuestos una reducción de hasta el 62% en los niveles de infestación, con una persistencia en el efecto de hasta tres meses (Parizi *et al.*, 2012). Canales *et al.* (2009), observaron una eficacia del 85 y del 71% sobre *R. microplus*, a partir de la aplicación de vacunas elaboradas con el antígeno Bm86 y su ortólogo Ba86, respectivamente.

En el cuadro 1 se aprecia, de forma resumida, la eficacia de algunos de los principales antígenos identificados en los últimos cinco años.

Cuadro 1
Eficacia de diferentes antígenos evaluados para el control de *R. microplus*.

<i>Cepa de R. microplus</i>	<i>Antígeno</i>	<i>Eficacia*</i>	<i>Referencia</i>
Campo Grande	Bm86	31%	Cunha <i>et al.</i> , 2012
México	EF1a-MSP1a	38%	Almazán <i>et al.</i> , 2012
	BM95-MSP1a	64%	
	SUB-MSP1a	81%	
Porto Alegre	rGST-HI	57%	Parizi <i>et al.</i> , 2011
Línea IVRI-I	Bm86	45%	Kumar <i>et al.</i> , 2012
n.e.**	BM95	81,27%	Kumar <i>et al.</i> , 2009
Campo Grande	rRmLTI	32%	Andreotti <i>et al.</i> , 2012
Línea IVRI-I	rBmSu	40.65%	Shakya <i>et al.</i> , 2014

*Eficacia: Hace referencia al efecto sobre la inhibición de la reproducción en garrapatas adultas.

**n.e: no especificada.

A pesar de que muchos antígenos promisorios que se han identificado para la elaboración de vacunas antigarrapata, los bajos porcentajes de eficacia obtenidos en muchos estudios y la variabilidad de los resultados de acuerdo a las cepas evaluadas, indican que aún queda un largo camino por recorrer en este campo de la investigación para, al fin, obtener un método de control efectivo y con una adecuada relación costo-beneficio que le permita ser manufacturado a escala industrial y que presente resultados replicables entre aplicaciones (Guerrero *et al.*, 2012a).

Hongos entomopatógenos y control de *R. microplus*

La primera descripción sobre un organismo entomopatógeno fue realizada en el año 1935, cuando el naturalista italiano Agostino Bassi observó cómo una enfermedad que él mismo denominó “mal del sueño” o “muscardina”, afectaba al gusano de seda y era capaz de contagiar a otros individuos al ponerlos en contacto con un cadáver infectado. Dicho organismo correspondía al hongo *Beauveria bassiana* (Lord, 2005; Steinhaus, 1956).

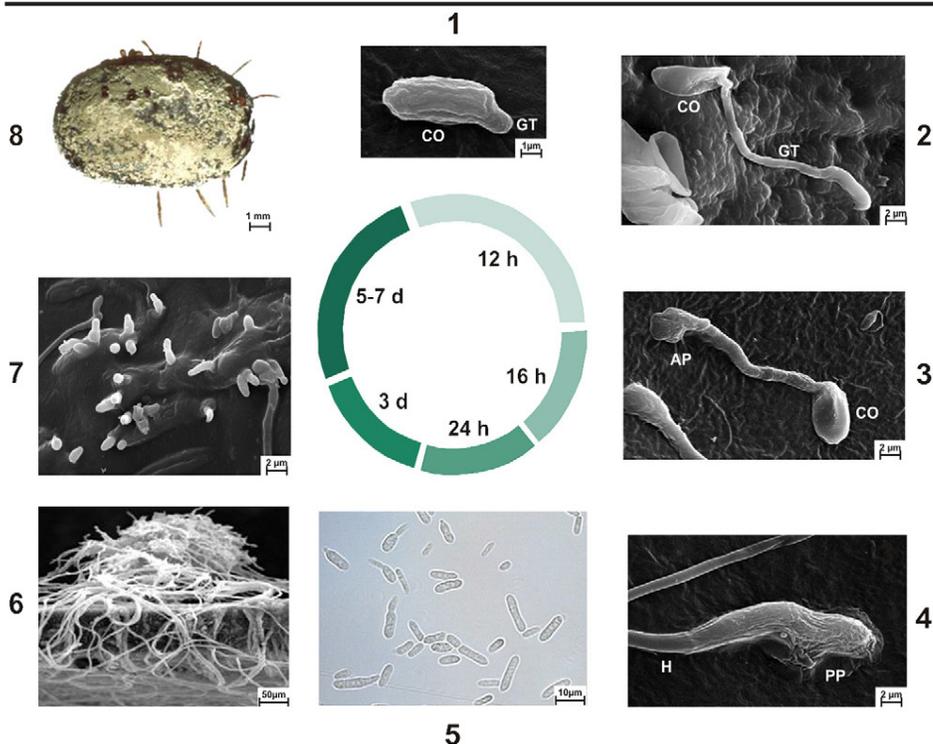
Posteriormente, *Metarhizium anisopliae* fue descrito a partir de las observaciones realizadas por el entomólogo ruso Eli Metchnikoff, a una enfermedad presentada por el “escarabajo de los granos” *Anisoplia austriaca*. Entre 1879 y 1884, Metchnikoff junto a su discípulo Krassiltschik, fueron los primeros en proponer el uso de microorganismos causantes de enfermedades en insectos, como estrategia para el control de plagas en los cultivos agrícolas (Hoddle y Driesche, 2009; Lord, 2005). En 1974, el uso de organismos entomopatógenos para el control de parásitos en el ganado fue reportado en la Unión Soviética, con preparaciones como Entobacterin y Dendrobacillin, elaboradas a partir de esporas y endotoxinas de *Bacillus thuringiensis*, y Boverin, una solución de conidias del hongo *B. bassiana* (Abdigoudarzi, 2009).

La infección de *R. microplus* por los hongos entomopatógenos *B. bassiana* y *M. anisopliae* (figura 1), comienza con la adhesión de las conidias del hongo a la cutícula de la garrapata y su colonización inmediata, proceso que dura alrededor de 24 horas (Kurtti y Keyhani, 2008) y que consiste en la identificación de un hospedero sensible para germinar y comenzar a formar hifas hasta crear una estructura denominada apresorio (Leemon y Jonsson, 2012). Dicha estructura, es responsable de la penetración del hongo a la cavidad interna de la garrapata, gracias a la liberación de enzimas lipolíticas y proteolíticas que van perforando la cutícula; y, a su vez, generan sustancias nutritivas que promueven el desarrollo de las hifas (Beys da Silva *et al.*, 2010).

En la fase siguiente, el hongo comienza a infectar todos los órganos internos de la garrapata, diferenciando las hifas a cuerpos levaduriformes o blastosporas, las cuales logran burlar el sistema inmune de la garrapata, gracias a la producción de destruxinas, citocalacinas y proteína tipo colágeno MCL1 (Schrank y Vainstein, 2010; Téllez-Jurado *et al.*, 2009).

Finalmente, se da la muerte de la garrapata por la acción de los metabolitos tóxicos secretados por el hongo, dando inicio a una fase de emergencia de micelios, los cuales perforan el tegumento entre las 48 y 60 horas siguientes para infectar nuevos individuos y comenzar nuevamente con el ciclo (Ojeda-Chi *et al.*, 2011; Schrank y Vainstein, 2010).

Figura 1
Etapas de la infección por *M. anisopliae* sobre *R. microplus*.



(1) Adherencia de conidias a la cutícula del hospedero; (2) Germinación de conidias; (3) Diferenciación de tubos de germinación en apesorio; (4) Penetración de la cutícula; (5) Diferenciación de hifas a blastosporas y cuerpos hifales; (6) Colonización del hospedero; (7) Reemergencia de micelios; (8) Producción de conidias en el cadáver de la garrapata. CO-conidia; GT –Tubo germinal; AP- apesorio; H- hifa; h- horas; d- días.

Fuente: tomado de Schrank, A. y Vainstein, M. H. "Metarhizium anisopliae enzymes and toxins" (Elsevier, 2010). Todos los derechos reservados. Licencia de uso N. 3671930465327.

Aunque muchos bioensayos con hongos entomopatógenos han mostrado gran potencial para el control de *R. microplus* (cuadro 2), son necesarios más estudios que validen su eficacia en campo. Tan sólo tres de los 171 bioplaguicidas con base de hongos, comercializados mundialmente para combatir plagas de cultivos agrícolas, afirman poder controlar garrapatas (Fernandes *et al.*, 2012).

Para mencionar algunos de los ensayos en campo y realizados directamente sobre los animales, se incluye el estudio de Alonso-Díaz *et al.* (2007), realizado en bovinos del trópico mexicano, donde se logró demostrar una eficacia transitoria de entre el 40-91%, en reducción del número de garrapatas, cuando se aplicaban de forma repetida (cada 15 días) suspensiones de 1×10^8 conidias/mL de la cepa Ma34 de *M. anisopliae* directamente sobre los animales.

Asimismo, Leemon *et al.* (2008) obtuvieron mortalidades hasta del 100% en garrapatas colectadas tres días después de la aplicación de suspensiones de *M. anisopliae* (cepas ARIM10 y ARIM16) en una prueba de estable. Este porcentaje de mortalidad disminuyó con los días, lo que llevó a los investigadores a concluir que había una interacción entre el ambiente, las garrapatas sobre el animal y los hongos, que condicionaban la efectividad de estos últimos. En cuanto a la reducción de las poblaciones de larvas en las praderas, ensayos realizados en parcelas experimentales infestadas con larvas de *R. microplus*, obtuvieron una eficacia en la reducción de hasta el 94%, con formulaciones elaboradas a partir de conidias de *M. anisopliae* y salvado de trigo (Ángel-Sahagún *et al.*, 2010).

Estudios más recientes muestran que, aparte de la cepa concreta del hongo, la formulación de los productos es crítica para aumentar la resistencia de las conidias a las condiciones ambientales presentes en campo, y favorecer su adhesión a la cutícula de las garrapatas. De hecho, los estudios realizados con conidias suspendidas en aceite mineral (Camargo *et al.*, 2012; Camargo *et al.*, 2014) o aplicadas localmente con gel de celulosa polimerizada (Reis *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009) han sido mucho más promisorios que los de suspensiones acuosas.

El producto brasileño comercial Metarril® SP Orgánico, diseñado frente a plagas agrícolas, ha mostrado que cuando se aplica directamente a bovinos, con un 10% de aceite mineral y 1% de Tween 80, es eficaz reduciendo el número de garrapatas en hasta un 50% durante tres semanas, después de una sola aplicación (Camargo *et al.*, 2014).

Los autores concluyeron que los adyuvantes (aceite y Tween 80) son imprescindibles para proteger a las conidias de las altas temperaturas, los rayos UV y favorecer la adhesión a la superficie de las garrapatas. En dichos estudios se emplearon cepas virulentas de *M. anisopliae*; y actualmente ya están descritos los marcadores genéticos y/o bioquímicos que permiten valorar la patogenicidad del hongo frente a *R. microplus* (Perinotto *et al.*, 2014).

De la cepa también dependerá qué tan segura es la aplicación de estos hongos para el ambiente, ya que algunas pueden ser altamente patógenas para especies benéficas dentro de los ecosistemas (Khan *et al.*, 2012; Schrank y Vainstein, 2010). No obstante, aunque se cuenta con un considerable volumen de información sobre estudios realizados con *M. anisopliae* para el control de *R. microplus*, no ocurre lo mismo para el hongo *B. bassiana*, del cual, a excepción del trabajo publicado por Ren *et al.* (2012), donde se evalúa la virulencia de varias cepas chinas de este hongo, se cuenta con poca información específica publicada para *R. microplus*.

En el cuadro 2, se resumen algunos estudios que reportan los resultados de la aplicación *in vitro* de *M. anisopliae* sobre la mortalidad y la reproducción en *R. microplus*.

Cuadro 2
Evaluación de la eficacia *in vitro*
de varias cepas de *M. anisopliae* aplicadas sobre *R. microplus*.

<i>Cepa de M. anisopliae</i>	<i>Mortalidad</i>	<i>Eficacia*</i>	<i>Referencia</i>
Ma 959	100%	93.69%	Camargo <i>et al.</i> , 2012
E6, CARO14, CG47 y CG97	90-100%	n.e.	Lubeck <i>et al.</i> , 2008
E6S1	100%	n.e.	Frazzon <i>et al.</i> , 2000
Ma34 + Ma14	90%	67.7-100%	Ojeda-Chi <i>et al.</i> , 2010
Ma.AT04	100%	n.e.	Ren <i>et al.</i> , 2012
CG 37, CG 384 y IBCB 481	100%	n.e.	Quinelato <i>et al.</i> , 2012
JS101-1B, KK104-2, AB101C-2, JS101C-4, KK104-1, AB101C-1, MB101C-1, JS101-1A, JS201C-1, BD101C-2, BN101C-2, AB101C-3, FR202-8, FR202-4 y FR202-2	100%	n.e.**	Leemon y Jonsson, 2008

*Eficacia: Hace referencia al efecto sobre la inhibición de la reproducción en garrapatas adultas.

**n.e. no evaluada.

A raíz de la problemática de resistencia, es muy probable que, en un futuro próximo, se extienda el uso de productos elaborados a partir de hongos entomopatógenos; sobre todo, a medida que se mejore la calidad y eficacia de las formulaciones actuales y se establezcan programas de control integrado, específicos para cada sistema productivo. Un beneficio adicional de estas formulaciones, es que pueden aplicarse en conjunto con acaricidas de síntesis, sin verse afectados en su viabilidad ni efectividad (Schumacher y Poehling, 2012), lo que los hace útiles en programas de transición hacia sistemas de producción más sostenibles.

Consideraciones finales

El uso de vacunas y hongos entomopatógenos, como parte de una estrategia de manejo integrado de garrapatas, se presenta como una opción para disminuir la dependencia en la aplicación de acaricidas de síntesis y para lograr un control efectivo de las poblaciones de garrapatas y otros parásitos en el mediano y largo plazo. Sin embargo, aún es necesario continuar con la búsqueda de antígenos más efectivos para la producción de vacunas, y de los protectores adecuados para mejorar el desempeño de los hongos entomopatógenos en condiciones de campo.

Es importante aclarar que, aunque en esta revisión sólo se profundizó en el tema de vacunas y hongos, existen otras estrategias que cumplen con los principios de los programas de manejo integrado; entre los que se destacan: el uso de razas resistentes a las infestaciones y al hemoparasitismo, el apoyo en la biodiversidad funcional dentro de sistemas de pastoreo

complejos (por ejemplo, los sistemas silvopastoriles); la preservación de poblaciones refugio, y otras tantas estrategias que en muchos casos hacen parte del conocimiento tradicional, y que debido a las agresivas estrategias de mercado implementadas en el marco de una ganadería industrializada, es cada vez más escaso entre los productores.

En síntesis, la solución a los problemas asociados al control parasitario que se experimentan en la actualidad, sólo podrán ser solucionados si productores y profesionales del gremio comprenden que no es posible realizar un control parasitario “sencillo”, y que la única manera de lograr un control verdadero y sostenible, es entendiendo la complejidad de los parásitos y de sus interacciones con el hospedero y el ambiente; y, con base en esto, aplicar soluciones igualmente complejas, pero no menos eficientes, que propendan no por la eliminación completa de los parásitos, sino más bien por el control de sus poblaciones en niveles que no afecten la salud y la productividad de los animales.

Para concluir, en esta revisión de estudios se evidencia que los mecanismos de acción tanto de vacunas como de hongos entomopatógenos, actúan por vías totalmente independientes; por un lado, las vacunas estimulan el sistema inmune del hospedero para producir anticuerpos que, al ser consumidos por la garrapata durante su proceso de alimentación, reaccionan con diferentes tejidos necesarios para su reproducción y viabilidad; por su parte, los hongos entomopatógenos entran en contacto con la cutícula de la garrapata, proliferan sobre ésta, perforándola e invadiendo sus órganos vitales, afectando así su supervivencia, gracias a la liberación de metabolitos tóxicos.

Por lo anterior, es de considerarse que el uso conjunto de vacunas y hongos debería mejorar los resultados de control respecto a su aplicación independiente en los programas de control de garrapatas en ganadería. No obstante, en la actualidad no se encuentran estudios donde se evalúe la aplicación combinada de ambos tratamientos; por lo que se considera necesario el desarrollo de nuevas investigaciones que comparen el efecto de la aplicación conjunta, y por separado de vacunas y hongos, para así confirmar si, efectivamente, existe un efecto complementario entre ambas estrategias.

Literatura citada

- Abdigoudarzi, M. (2009). Laboratory Study on Biological Control of Ticks (Acari: Ixodidae) by Entomopathogenic Indigenous Fungi (*Beauveria bassiana*). *Iranian J Arthropod-Borne Dis.* 3:36–43.
- Akhtar, M.; Muhammad, F.; Lodhi, L.A.; Hussain, I. y Anwar, M.I. (2010). Immunity against ticks - A Review. *Pak Vet J.* 31(1):9–16.
- Almazán, C.; Lagunes, R.; Villar, M.; Canales, M.; Rosario-Cruz, R.; Jongejan, F. y de la Fuente, J. (2010). Identification and characterization of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* candidate protective antigens for the control of cattle tick infestations. *Parasitol Res.* 106(2):471–9.
- Almazán, C.; Moreno-Cantú, O.; Moreno-Cid, J.A.; Galindo, R.C.; Canales, M.; Villar, M. y de la Fuente, J. (2012). Control of tick infestations in cattle vaccinated with bacterial membranes containing surface-exposed tick protective antigens. *Vaccine* 30(2):265–72.
- Alonso-Díaz, M.A.; García, L.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R.; Ángel-Sahagún, C.A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Fragosó-Sánchez, H. (2007). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Vet Parasitol.* 147(3-4):336–40.

- Alonso-Díaz, M.A.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Fragoso-Sánchez, H. y Rosario-Cruz, R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch Med Vet.* 38(2):105–13.
- Anderson, J. F. y Magnarelli, L.A. (2008). Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am.* 22(2):195–215.
- Andreotti, R.; Cunha, R.C.; Soares, M.A.; Guerrero, F.D.; Leite, F.P.L. y Pérez de León A. (2012). Protective immunity against tick infestation in cattle vaccinated with recombinant trypsin inhibitor of *Rhipicephalus microplus*. *Vaccine* 30(47):6678–85.
- Ángel-Sahagún, C.A.; Lezama-Gutiérrez, R.; Molina-Ochoa, J.; Pescador-Rubio, A.; Skoda, S.R.; Cruz-Vázquez, C.; Lorenzoni, A.G.; Galindo-Velasco, E.; Fragoso-Sánchez, H. y Foster, J.E. (2010). Virulence of Mexican isolates of entomopathogenic fungi (Hypocreales: Clavicipitaceae) upon *Rhipicephalus* = *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae and the efficacy of conidia formulations to reduce larval tick density under field conditions. *Vet Parasitol.* 170: 278–286.
- Araque, A.; Ujueta, S.; Bonilla, R.; Gómez, D. y Rivera, J. (2014). Resistencia a acaricidas en *Rhipicephalus (boophilus) microplus* de algunas explotaciones ganaderas de Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica* 17 (1): 161 – 170.
- Avendaño-Reyes, L. y Correa-Calderón, A. (2002). *Diseases of dairy animals | Parasites, External: Tick Infestations*. En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). John W. Fuquay (Ed.). Academic Press. San Diego. P 253-257.
- Benavides, E.; Rodríguez, J.L. y Romero, A. (2000). Isolation and partial characterization of the Montecitos strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1877) multiresistant to different acaricides. *Ann N Y Acad Sci.* 916:668–671.
- Benavides, E. (2009). Manejo integrado de los parásitos externos del ganado (I). *Carta Fedegan.* 115:1–3.
- Betancourt, J. (1993). *Susceptibilidad de varias cepas de Boophilus microplus a diferentes compuestos acaricidas*. Disponible en la red mundial en: URL:<http://201.234.78.28:8080/jspui/handle/123456789/4010> (Consultada el 17 de junio de 2013).
- Beys da Silva, W.O.; Santi, L.; Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2010). *Metarhizium anisopliae* lipolytic activity plays a pivotal role in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infection. *Fungal Biol.* 114(1):10–5.
- Camargo, M.G.; Marciano, A.F.; Sá, F.A.; Perinotto, W.M.S.; Quinelato, S.; Gólo, P.S.; Angelo, I.C.; Prata, M.C.A. y Bittencourt, V.R.E.P. (2014). Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. *Vet Parasitol.* 205:271–276.
- Camargo, M.; Gólo, P.; Angelo, I.; Perinotto, W.M.S.; Sá, F.A.; Quinelato, S.A. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Effect of oil-based formulations of acaripathogenic fungi to control *Rhipicephalus microplus* ticks under laboratory conditions. *Vet Parasitol.* 188:140–147.
- Canales, M.; Almazán, C.; Naranjo, V.; Jongejan, F. y de La Fuente, J. (2009). Vaccination with recombinant *Boophilus annulatus* Bm86 ortholog protein, Ba86, protects cattle against *B. annulatus* and *B. microplus* infestations. *BMC Biotechnol.* 9(29):1-8.
- Castro-Janer, E.; Martins, J.R.; Mendes, M.C.; Namindome, A.; Klafke, G.M. y Schumaker, T.T.S. (2010a). Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using *in vitro* larval bioassays. *Vet Parasitol.* 173(3-4):300–306.
- Castro-Janer, E.; Rifran, L.; González, P.; Piaggio, J.; Gil, A. y Schumaker, T.T.S. (2010b). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. *Vet Parasitol.* 169(1-2):172–177.
- Cunha, R.; Pérez de León, A.; Leivas, F.; Da Silva, L.; dos Santos, A. y Andreotti, R. (2012). Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. *Rev Bras Parasitol Vet. Jaboticabal.* 21 (3):254–62.
- Cutullé, C.; Lovis, L.; D'Agostino, B.I.; Balbiani, G.G.; Morici, G.; Citroni, D.; Reggi, J. y Caracostantogolo, J.L. (2013). *In vitro* diagnosis of the first case of amitraz resistance in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. *Vet Parasitol.* 192(1-3):296–300.
- Díaz, E. (2012). Mecanismos moleculares y bioquímicos de resistencia a acaricidas en la garrapata común de los bovinos *Rhipicephalus microplus*. *Rev Colomb Cienc Anim.* 5(1):72–81.
- FAO. (2004). *Module1 ticks. Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention*. En: Resistance management and integrated parasite control in ruminants: Guidelines. p 25–77. Disponible en la red mundial en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ag014e/ag014e00.pdf> (Consultada el 17 de junio de 2013).

- FEDEGAN. (2006). *Plan estratégico de la ganadería colombiana al 2019*. Editorial Sanmartín Obregon and Cia. Bogotá, Colombia. 296 pp.
- Fernandes, É.K.K.; Bittencourt, V.R.E.P. y Roberts, D.W. (2012). Perspectives on the potential of entomopathogenic fungi in biological control of ticks. *Exp Parasitol*. 130(3):300–5.
- Fernández-Ruvalcaba, M.; Preciado-De-La Torre, F.; Cruz-Vázquez, C. y García-Vázquez, Z. (2004). Antitick effects of *Melinis minutiflora* and *Andropogon gayanus* grasses on plots experimentally infested with *Boophilus microplus* larvae. *Exp Appl Acarol*. 32(4):293–299.
- Fernández-Salas, A.; Rodríguez-Vivas, R.I. y Alonso-Díaz, M.A. (2012). First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Vet Parasitol*. 183(3-4):338–42.
- Frazzon A.P.G.; vaz JR.I.; masuda A.; Schrank A.; Vainstein M.H. 2000. *In vitro* assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol* 94: 117-225.
- Giraldo, C. y Uribe, F. (2007). *Manejo integrado de garrapatas en sistemas sostenibles de producción ganadera*. Red Electrónica de Garrapatas y Enfermedades Transmitidas por Garrapatas para América latina y El Caribe. FAO. pp 1–12.
- Guerrero, F.D.; Miller, R.J. y Pérez de León, A. (2012a). Cattle tick vaccines: many candidate antigens, but will a commercially viable product emerge? *Int J Parasitol*. 42(5):421–7.
- Guerrero, F.D.; Lovis, L. y Martins, J.R. (2012b). Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Brazilian J Vet Parasitol*. 21(1):1–6.
- Hoddle, M.S. y Van Driesche, R.G. (2009). *Biological control of insect pests*. En: *Encyclopedia of Insects* (Second Edition). Vincent H. Resh/Ring T. Cardé (Eds.), Academic Press, San Diego. P 91-101.
- Iowa State University. (2007). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Factsheet. Disponible en la red mundial en: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/boophilus_microplus.pdf (Consultada el 26 de mayo de 2015).
- Jonsson, N.N.; Cutullé, C.; Corley, S.W. y Seddon, J.M. (2010). Identification of a mutation in the para-sodium channel gene of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* associated with resistance to flumethrin but not to cypermethrin. *Int J Parasitol*. 40(14):1659–64.
- Khan, S.; Guo, L.; Maimaiti, Y.; Mijit, M. y Qiu, D. (2012). Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. *Mol Plant Breed*. 3(7):63–79.
- Kumar, A.; Garg, R.; Yadav, C.L.; Vatsya, S.; Kumar, R.R.; Sugumar, P.; Chandran, D.; Mangamoorib, L.N. y Bedarkar, S.N. (2009). Immune responses against recombinant tick antigen, Bm95, for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in cattle. *Vet Parasitol*. 165(1-2):119–24.
- Kumar, B.; Murugan, K.; Ray, D.D. y Ghosh, S. (2012). Efficacy of rBm86 against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (IVRI-I line) and *Hyalomma anatolicum anatolicum* (IVRI-II line) infestations on bovine calves. *Parasitol Res*. 111(2):629–35.
- Kurti, T.J. y Keyhani, N.O. (2008). Intracellular infection of tick cell lines by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Microbiology* 154: 1700–1709.
- Leemon, D.M. y Jonsson, N.N. (2012). Comparison of bioassay responses to the potential fungal biopesticide *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Lucilia cuprina*. *Vet Parasitol*. 185:236-247.
- Leemon, D.M. y Jonsson, N.N. (2008). Laboratory studies on Australian isolates of *Metarhizium anisopliae* as a biopesticide for the cattle tick *Boophilus microplus*. *J. Invertebr Pathol*. 97(1):40–9.
- Leemon, D.M.; Turner, L.B. y Jonsson, N.N. (2008). Pen studies on the control of cattle tick (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) with *Metarhizium anisopliae* (Sorokin). *Vet Parasitol* 156: 248–260.
- López, A.; Villar, D.; Chaparro, J.; Miller, R. y Pérez de León, A.A. (2015). Reduced efficacy of commercial acaricides against populations of resistant cattle tick *Rhipicephalus microplus* from two municipalities of Antioquia, Colombia. *Environ Health Insights* 8(2):71-80.
- Lord, J.C. (2005). From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. *J Invertebr Pathol*. 89(1):19–29.
- Lovis, L.; Mendes, M.C.; Perret, J.-L.; Martins, J.R.; Bouvier, J.; Betschart, B. y Sager, H. (2013). Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Brazilian field populations. *Vet Parasitol*. 191(3-4):323–31.

- Lovis, L.; Guerrero, F.D.; Miller, R.J.; Bodine, D.M.; Betschart, B. y Sager, H. (2012). Distribution patterns of three sodium channel mutations associated with pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* populations from North and South America, South Africa and Australia. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2:216–224.
- Lubeck, I.; Arruda, W.; Souza, B.K.; Stanisquasi, F.; Carlini, C.R.; Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2008). Evaluation of *Metarhizium anisopliae* strains as potential biocontrol agents of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the cotton stainer *Dysdercus peruvianus*. *Fungal Ecol.* 1:78–88.
- Mendes, M.C.; Lima, C.K.P.; Nogueira, A.H.C.; Yoshihara, E.; Chiebao, D.P.; Gabriel, F.H.L.; Ueno, T.E.H.; Namindome, A. y Klafke, G.M. (2011). Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol.* 178(3-4):383–388.
- Miller, R.J.; Almazán, C.; Ortiz-Estrada, M.; Davey, R.B.; George, J.E. y Pérez de León, A. (2013). First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. *Vet Parasitol.* 191(1-2):97–101.
- Mondal, D.B.; Sarma, K. y Saravanan, M. (2013). Upcoming of the integrated tick control program of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India. *Ticks Tick Borne Dis.* 4(1-2):1–10.
- Murgueitio, E. y Giraldo, C. (2009). Sistemas silvopastoriles y el control de parásitos. *Carta FEDEGAN.* 115: 1–3.
- Mwangi, E.N.; Essuman, S.; Kaaya, G.P.; Nyandat, E.; Munyinyi, D. y Kimondo, M.G. (1995). Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. *Trop Anim Health Prod.* 27:211–216.
- Narváez, J.F.; Palacio, J.A. y Molina, F.J. (2012). Persistencia de plaguicidas en el ambiente y su ecotoxicidad: una revisión de los procesos de degradación natural. *Gestión y Ambiente.* 15(3): 27-38.
- Nuttall, P. A.; Trimnell, A. R.; Kazimirova, M. y Labuda, M. (2006). Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases. *Parasite Immunology.* 28:155–163.
- Ojeda-Chi, M.M.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Galindo-Velasco, E. y Lezama-Gutiérrez, R. (2010). Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Vet Parasitol.* 170(3-4):348–354.
- Ojeda-Chi, M.M.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Galindo-Velasco, E.; Lezama-Gutiérrez, R. y Cruz-Vásquez, C. (2011). Control de *Rhipicephalus microplus* (Acari : Ixodidae) mediante el uso del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Revisión. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2(2):177–192.
- Parizi, L.F.; Utiumi, K.U.; Imamura, S.; Onuma, M.; Ohashi, K.; Masuda, A. y da Silva Vaz Jr, I. (2011). Cross immunity with *Haemaphysalis longicornis* glutathione S-transferase reduces an experimental *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation. *Experimental Parasitology* 127: 113–118.
- Parizi, L.F.; Reck, J.; Oldiges, D.P.; Guizzo, M.G.; Seixas, A.; Logullo, C.; de Oliveira, P.; Termignoni, C.; Martins, J.R. y da Silva, I. (2012). Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. *Vaccine* 30(48):6912–7.
- Patarroyo, J.H.; Portela, R.W.; de Castro, R.O.; Pimentel, J.C.; Guzmán, F.; Patarroyo, M.E.; Vargas, M.I.; Prates, A.A. y Dias Mendes, M.A. (2002). Immunization of cattle with synthetic peptides derived from the *Boophilus microplus* gut protein (Bm86). *Vet Immunol Immunopathol.* 88:163–72.
- Pérez-Cogollo, L.C.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Ramírez-Cruz, G.T. y Rosado-Aguilar, J.A. (2010). Survey of *Rhipicephalus microplus* resistance to ivermectin at cattle farms with history of macrocyclic lactones use in Yucatan, Mexico. *Vet Parasitol.* 172(1-2):109–113.
- Perinotto, W.M.S.; Gólo, P.S.; Coutinho Rodrigues, C.J.B.; Sá, F.A.; Santi, L.; Beys da Silva, W.O.; Junges, A.; Vainstein, M.H.; Schrank, A.; Salles, C.M. y Bittencourt, V.R. (2014). Enzymatic activities and effects of mycovirus infection on the virulence of *Metarhizium anisopliae* in *Rhipicephalus microplus*. *Vet Parasitol.* 203:189–196.
- Pohl, P.C.; Klafke, G.M.; Júnior, J.R.; Martins, J.R.; da Silva Vaz, I. y Masuda, A. (2012). ABC transporters as a multidrug detoxification mechanism in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol Res.* 111(6):2345–2351.
- Pruett, J.H. (2002). Immunological intervention for the control of ectoparasites of livestock - A review. *Vet Parasitol.* 16(1):1–10.

- Quinelato, S.; Gólo, P.S.; Perinotto, W.M.S.; Sá, F.A.; Camargo, M.G.; Angelo, I.C.; Moraes, A.M.L. y Bittencourt, V.R.E.P. (2012). Virulence potential of *Metarhizium anisopliae* s.l. isolates on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. *Vet Parasitol.* 190:556–65.
- Reck, J.; Klafke, G.M.; Webster, A.; Dall’Agnol, B.; Scheffer, R.; Souza, U.A.; Corassini, V.B.; Vargas, R.; dos Santos, J.S. y de Souza Martins, J.R. (2014). First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet Parasitol.* 201:128–36.
- Reis, R.C.S.; Fernandes, É.K.K. y Bittencourt, V.R.E.P. (2008). Fungal formulations to control *Rhipicephalus sanguineus* engorged females. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1149:239–241.
- Ren, Q.; Sun, M.; Guan, G.; Li, Y.; Liu, Z.; Liu, A.; Ma, M.; Niu, Q.; Liu, J.; Yin, H. y Luo, J. (2011). Biological control of engorged female *Haemaphysalis qinghaiensis* (Acari: Ixodidae) ticks with different chinese isolates of *Beauveria bassiana*. *Parasitol Res.* 109(4):1059–1064.
- Rodríguez-Valle, M. (2000). *Respuesta inmunológica contra garrapatas*. Biotecnol Apl. Disponible en la red mundial en: <https://tspace.library.utoronto.ca/html/1807/21814/ba00068.html> (Consultada el 17 de junio 17 de 2013).
- Schrank, A. y Vainstein, M.H. (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56(7):1267–1274.
- Schumacher, V. y Poehling, H-M. (2012). *In vitro* effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. *Fungal Biol.* 116(1):121–132.
- Shakya, M.; Kumar, B.; Nagar, G.; de la Fuente, J. y Ghosh, S. (2014). Subolesin: a candidate vaccine antigen for the control of cattle tick infestations in Indian situation. *Vaccine* 32(28):3488–3494.
- Sonenshine, D.E.; Nicholson, W.L. y Lane, R.S. (2002). *Ticks (Ixodida)*. En: *Medical and Veterinary Entomology*, Gary Mullen and Lance Durden (Eds.), Academic Press, San Diego. P. 517-558.
- Souza, E.J.; Costa, G.L.; Bittencourt, V.R.E.P. y Fagundes, A.S. (2009). Ação do fungo *Beauveria bassiana* associado a gel polimerizado de celulose no controle do carrapato *Anocentor nitens* em teste de campo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61(1):163-169.
- Steinhaus, E. (1956). Microbial Control-The emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *HILGARDIA* 26(2):107–160.
- Téllez-Jurado, A.; Cruz, M.G.; Mercado, Y.; Torres, A.A. y Arana-Cuenca, A. (2009). Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Rev Mex Micol.* 30:73 – 80.
- Thompson, K.C.; Roa E.J. y Romero N.T. (1978). Anti-tick grasses as the basis for developing practical tropical tick control packages. *Trop Anim Health Pro.* 10:179–182.
- Ullmann, A. J.; Stuart, J.J.; Hill, C.A.; Tick-Hunter, W. y Cole, C. 2008. Genome Mapping and Genomics in Arthropods. En: *Genome Mapping and Genomics in Animals*. C. Cole y Hunter, W. (Eds.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 103-117.
- Willadsen, P. (2004). Anti-tick vaccines. *Parasitology.* 129(7):S367–S387.

Recepción: 09 de julio de 2015

Envío arbitraje: 17 de septiembre de 2015

Dictamen: 11 de noviembre de 2015

Aceptación: 18 de noviembre de 2015



Título: *Caballo de hierro*
Técnica: Pintura al carbón
Medidas: 50 x 60 cm
Autor: César Lara González

Crecimiento, supervivencia y condición del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae) en el estero La Piedra, Sinaloa, México

Growth, survival and condition
of the pen shell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae)
in La Piedra estuary, Sinaloa, México

Andrés Martín Góngora-Gómez,¹ Juan Antonio Hernández-Sepúlveda,¹ Ana Laura Domínguez-Orozco,¹ Brenda Paulina Villanueva-Fonseca² y Manuel García-Ulloa^{1*}

¹ Instituto Politécnico Nacional
Centro Interdisciplinario de Investigación
para el Desarrollo Integral Regional (Unidad Sinaloa)
Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes No. 250
Guasave, Sinaloa, México.

² Universidad de Occidente (Unidad Guasave)
Avenida Universidad No. 109
Fraccionamiento Villa Universidad
Guasave, Sinaloa, México (C. P. 81048).

*Correspondencia: turbotuag@hotmail.com

Resumen

Se evaluó el crecimiento y la supervivencia del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) cultivado durante 15 meses (mayo 2010–agosto 2011), en el estero La Piedra, municipio de Guasave, Sinaloa, México. Se adquirieron 3,000 semillas (61.50 ± 0.5 mm de longitud, 4.98 ± 0.2 g de peso promedio). Se registró la temperatura ($26.15 \pm 6.35^\circ\text{C}$), el oxígeno disuelto (6.94 ± 1.67 mg/L), pH (6.79 ± 1.5) y la salinidad del agua (32.25 ± 7.25 ups) quincenalmente. Los valores de crecimiento finales fueron de 193.17 ± 11.50 mm, para la altura de la concha, y 156.54 ± 25.30 g para el peso. Se encontraron diferencias significativas en la altura de la concha y el peso total a lo largo

Abstract

Growth and survival of the pen shell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) cultured in La Piedra estuary, Guasave Municipality, Sinaloa, Mexico, were evaluated during 15 months (mayo 2010–agosto 2011). Three thousand small pen shells (61.50 ± 0.5 mm shell height, 4.98 ± 0.2 g total weight) were used. Water temperature ($26.15 \pm 6.35^\circ\text{C}$), dissolved oxygen (6.94 ± 1.67 mg/L), pH (6.79 ± 1.5) and salinity (32.25 ± 7.25 ups) were obtained each two weeks. The final growth values (shell height and total weight) were 193.17 ± 11.50 mm and 156.54 ± 25.30 g, respectively. There were significant differences for the shell height and total weight throughout the culture ($P < 0.05$).

del cultivo ($P < 0.05$). La tasa de crecimiento fue de 0.29 mm/d y 0.33 g/d para la altura de la concha y el peso, respectivamente. La relación morfométrica longitud-peso fue alométrica (2.39), y mostró una correlación positiva ($r = 0.88$). La supervivencia final fue de 92.79%. Los resultados muestran que en el estero La Piedra, Sinaloa, *A. maura* no alcanzó la talla comercial (≥ 200 mm) después de 15 meses de cultivo; presumiblemente, por la presencia de contaminantes en el agua. Se recomienda la realización de futuros cultivos de *A. maura* en el estero, considerando el efecto de las variables del medio ambiente en su crecimiento.

Palabras clave

Bivalvos, callo de hacha, cultivo, mortalidad, crecimiento.

Growth rates were 0.29 mm/d and 0.33 g/d for the shell height and total weight, respectively. The morphometric relationship between the shell height and total weight showed allometry (2.39) and a positive correlation ($r = 0.88$). Final survival was 92.79 %. The results show that *A. maura* did not reach the commercial size (> 200 mm shell height) after 15 culture months in La Piedra estuary, Sinaloa, probably due to the presence of pollutants in the water. It is recommended further cultures of *A. maura* in the estuary with relation to the environmental parameters to properly evaluate its growth.

Keywords

Bivalve, pen shell, culture, mortality, growth.

Introducción

El callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) se ha constituido como uno de los moluscos más importantes de la costa noroeste del Pacífico Mexicano, no sólo por su demanda local, sino por el alto precio en el mercado internacional. El interés por su cultivo inició desde la década de los 80's, cuando se produjeron las primeras semillas en laboratorio, y en los 90's se consolidó la producción comercial de juveniles (Góngora-Gómez *et al.*, 2012). Los principales lugares de engorda se ubican en los estados de Sonora y Baja California, a lo largo de los dos litorales del Golfo de Cortés, donde se ha originado la mayor cantidad de información científica en poblaciones silvestres, la cual se refiere a su biología (Flores-Higuera, 2004; Arrieche *et al.*, 2010), reproducción (Ángel-Pérez *et al.*, 2007; Camacho-Mondragón *et al.*, 2012; 2015) y estructura poblacional (Ahumada-Sempoal *et al.*, 2002).

A pesar de los esfuerzos realizados para el manejo de reproductores y producción de semilla de este molusco bajo condiciones controladas (González-Corona, 2003; Robles-Mungaray, 2004), existen todavía algunos aspectos biotecnológicos pendientes a fin de proponer su producción comercial sostenible; tales como la relación de su crecimiento en conjunto con variables del medio ambiente.

Por otro lado, la poca investigación documentada acerca de su crecimiento en cultivo está constituida por reportes de difusión o trabajos de tesis (Miranda-Baeza, 1994; Robles-Mungaray, 2004; Almaraz-Salas, 2008; Corrales-Serna, 2010) que vinculan la academia con los productores; pero en muchos casos, dichos reportes no representan bases que solidifiquen su tecnología de engorda, la cual se ha desarrollado a base de prueba y error. Hasta hace poco, Góngora-Gómez *et al.* (2011) reportaron el crecimiento de *A.*

maura a diferentes densidades en el estado de Sinaloa, en un cultivo comercial en el municipio de Navolato, durante 2008-2009.

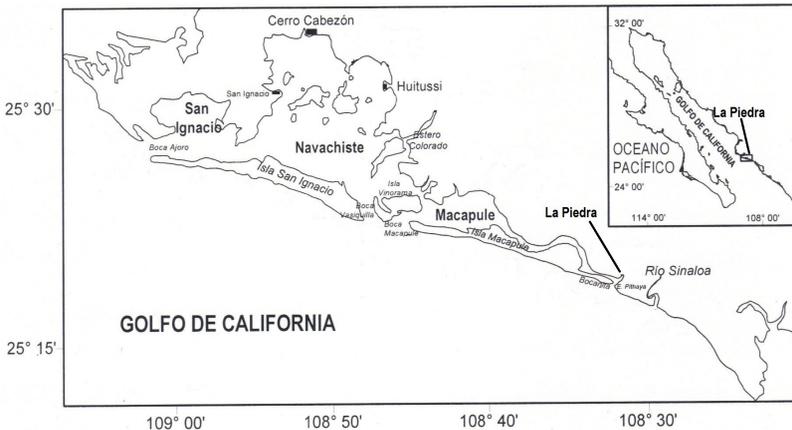
Algunos de los aspectos biotecnológicos básicos en la producción comercial que requieren ser atendidos para establecer el conocimiento de su cultivo, están enfocados a su desarrollo en función del tiempo y de nuevos sitios potenciales de cultivo. Sorprendentemente, y a pesar de su importancia comercial, existe poca información acerca de las respuestas biológicas de *A. maura* a la tecnología de producción, considerando la relación de su crecimiento, supervivencia y condición con la elección del sitio de cultivo.

De esta manera, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el crecimiento, supervivencia y condición de *A. maura* bajo las condiciones tradicionales de cultivo comercial en la región (canastas suspendidas en línea madre y siembra en parques de arena), en el estero La Piedra, municipio de Guasave, Sinaloa (México), de mayo de 2010 a agosto de 2011.

Materiales y métodos

El cultivo se realizó en el estero La Piedra, dentro de la Laguna Macapule, situada en el norte del estado de Sinaloa (figura 1), entre los paralelos 25° 21' y 25° 24' de latitud N y 108° 30' y 108° 45' de longitud O.

Figura 1
Localización del sitio de cultivo de *A. maura*
en el estero La Piedra, Sinaloa, México.



Se utilizaron 3,000 semillas de *A. maura* (promedio inicial de 62.60 ± 7.78 mm para la altura de la concha y 4.98 ± 2.05 g para el peso total) adquiridos en el Centro de Reproducción de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES), del Instituto de Acuicultura de Sonora, situado en Bahía Kino, Sonora, México. Los callos fueron transportados en seco y a baja temperatura hasta el lugar de cultivo. Después, los organismos fueron aclimatados siguiendo la metodología propuesta por Gallo-García *et al.* (2001),

repartidos dentro de bolsas-mosquitero de 2 mm de diámetro (20 X 20 cm), a una densidad de 200 organismos/bolsa. Las bolsas que contenían los ostiones fueron colocadas dentro de canastas ostrícolas para formar módulos o unidades de cultivo; las cuales fueron mantenidas en suspensión (línea madre) durante dos meses. Los módulos se limpiaron cada 15 días, para evitar la presencia de parásitos y contabilizar los animales muertos.

Después de dos meses de cultivo en suspensión y cuando alcanzaron una talla mayor de 75 mm de longitud total, los callos se sembraron en la arena, en la zona intermareal del estero, durante 14 meses hasta la cosecha. Las pinas fueron extraídas de las canastas y enterradas en el sustrato arenoso dentro de un área de 56 m² (3 m de largo, 3 m de ancho y 2 m de altura), a una densidad de 18 callos/m² y a una distancia mínima de 20 cm entre ellos. El sistema de cultivo, usando las canastas durante los dos primeros meses y después en la arena, se practicó conforme a tecnología previa reportada (Miranda-Baeza, 1994; Góngora-Gómez *et al.*, 2011).

Parámetros físicos y químicos

Se registraron los parámetros físicos y químicos al momento de la siembra y cada quince días, hasta el final del cultivo. La temperatura del agua y la concentración de oxígeno disuelto fueron obtenidos con un oxímetro (YSI, 55/12FT, Ohio 4587); en el caso de la salinidad, se utilizó un refractómetro de precisión (Atago, S/Mill); el potencial de hidrógeno (pH) se midió con un potenciómetro (Hanna, HI 8314); y en cada muestreo se determinaron la transparencia del agua y la profundidad con un disco Secchi.

Crecimiento y supervivencia

Cada mes, se midieron y pesaron *in situ* 50 organismos de *A. maura*. Las biometrías se realizaron con una regla Vernier digital (Mitutoyo, CD-8" CS) para determinar la altura, longitud y ancho de la concha. Se utilizó una balanza granataria (OHAUS, Scout Pro SP 2001) para la obtención del peso total de cada organismo, previo secado con papel absorbente. Con los datos de medición, se analizó la relación longitud-peso total con una regresión exponencial mediante la fórmula:

$$Y = aX^b,$$

Donde, a = ordenada al origen y b = pendiente. Cuando el valor de $b = 3$, el tipo de crecimiento es isométrico, y cuando $b \neq 3$ el crecimiento es alométrico.

El modelo fue ajustado considerando la mayor correlación (r) y error residual (Bhujel, 2008).

La mortalidad fue determinada por el número de conchas vacías colectadas de los muestreos mensuales hasta el término del estudio (Almaraz-Salas, 2008). Simultáneamente, se revisó el estado físico de los mismos para detectar la presencia de organismos competidores y depredadores.

Índice de condición

Para obtener el índice de condición (IC; Walne y Mann, 1975), se utilizó el tejido suave y las conchas de 30 individuos seleccionados aleatoriamente en cada muestreo. El tejido suave fue secado en una estufa por 48 h a 80°C, para obtener el peso seco. El IC fue calculado con la fórmula $CI = P1 \times 100/P2$; donde: P1 es el peso seco del tejido suave y P2 es el peso seco de las conchas (g).

Análisis de datos

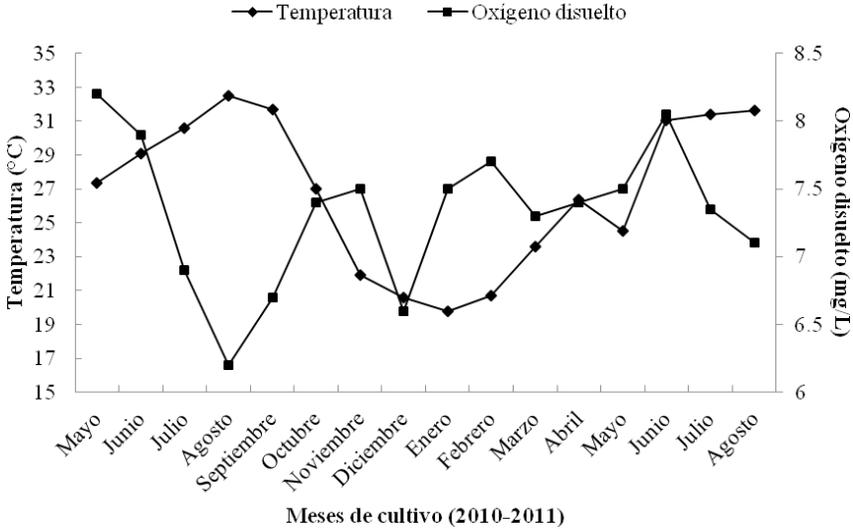
Para este trabajo sólo se consideró la altura de las valvas y el peso total de cada organismo muestreado, y en cada biometría se calculó el valor promedio y la desviación estándar de cada variable. Para analizar los datos de crecimiento se aplicó un ANOVA de una vía, empleando como factor el tiempo de cultivo. Cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó una prueba *a posteriori* de Tukey ($\alpha = 0.05$). Con la altura de la concha y el peso total, se analizó la relación longitud-peso total, mediante la aplicación de una regresión exponencial ($Y = aX^b$).

Para determinar el grado de asociación de crecimiento del callo con la temperatura del agua, se realizó una correlación de Pearson ($r, \alpha = 0.05$). Los datos de supervivencia expresados en porcentaje fueron transformados arcoseno para ser normalizados (Zar, 1996). También se obtuvo la correlación entre la temperatura del agua con la altura de las conchas y el peso total de los callos para cada muestreo. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Statgraphic Plus, ver. 5 (Statistical Graphics Corp., Herndon, VA, USA).

Resultados

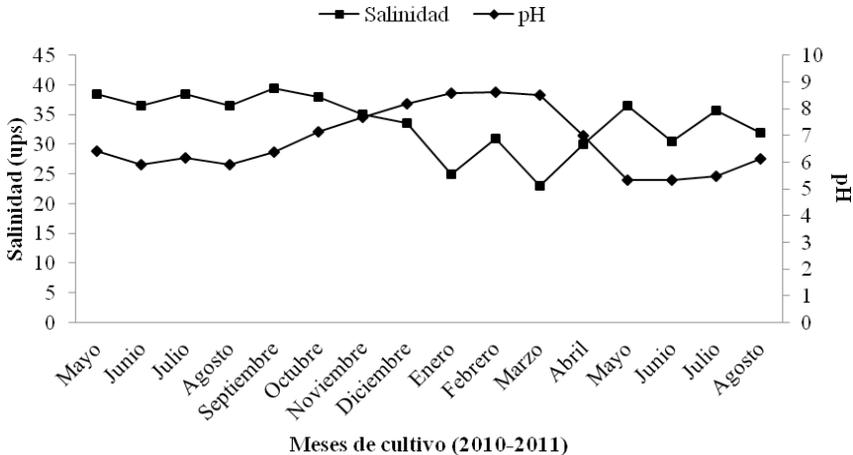
La temperatura del agua durante el cultivo fluctuó: desde 19.8°C (registrado en enero de 2011) hasta 32.5°C (obtenido en agosto de 2010); mientras que para el oxígeno disuelto (mg/L), se obtuvo la más alta concentración (8.2 mg/L) en el mes de mayo de 2010, y la más baja (6.2 mg/L) en agosto de 2010 (figura 2).

Figura 2
 Temperatura del agua (°C) y oxígeno disuelto (mg/L) registrados en el cultivo de *A. maura*, en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



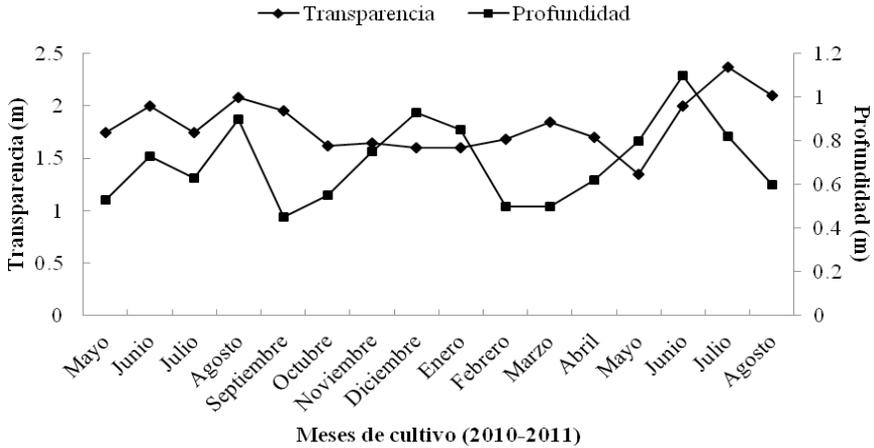
La salinidad (ups) presentó un máximo de 39.5 ups en septiembre de 2010 y un mínimo de 25 ups observado en enero de 2011. Los valores de potencial de hidrógeno (pH) mostraron el máximo valor en el mes de febrero de 2011 (8.6), y el mínimo (6.1) en agosto de 2011 (figura 3).

Figura 3
 Salinidad (ups) y potencial de hidrógeno (upH) mensual registrados en el cultivo de *A. maura*, en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



La transparencia y la profundidad del lugar de cultivo fluctuaron de 1.6 m (diciembre de 2010 y enero de 2011) a 2.3 m (julio de 2011), y de 0.4 m (septiembre de 2010) a 1.1 m (junio de 2011), respectivamente (figura 4).

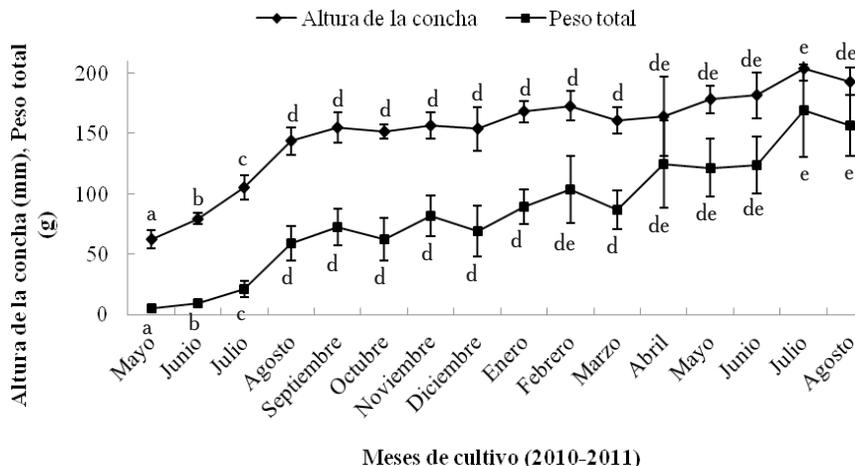
Figura 4
 Transparencia (m) y profundidad (m) mensual registrados en el cultivo de *A. maura*, en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



En cuanto al crecimiento de los organismos, la altura de la concha (mm) se incrementó desde 62.60 ± 7.78 hasta 193.17 ± 11.50 mm; mientras que el peso final fue de 156.54 ± 25.30 g después de 450 días de cultivo (figura 5). El largo y ancho de la concha crecieron desde 26.74 ± 3.76 y 8.11 ± 1.46 mm, a 94.09 ± 7.12 y 29.93 ± 4.68 mm, respectivamente. Los animales mostraron una tasa de crecimiento de 0.29 mm/día y 0.33 g/día.

Figura 5

Altura de la concha (mm) y peso total (g) de *A. maura* registrados mensualmente durante su cultivo en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) en los promedios de altura de la concha y peso total de *A. maura* durante los 15 meses de cultivo (cuadro 1). La prueba de Tukey indicó que el crecimiento durante los cuatro primeros meses fue constante. De septiembre de 2010 a febrero de 2011, se registró poca variación entre las medias en la altura de la concha y el peso total del callo de hacha, debido a la amplitud de las desviaciones estándar (figura 5).

Cuadro 1

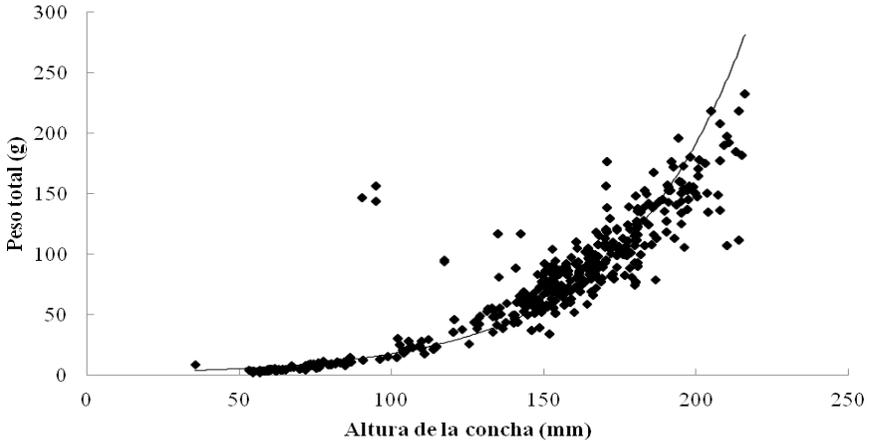
ANOVA para la altura de la concha y peso total de *A. maura* cultivado en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Suma de cuadrados medios	F	P
Altura	1121580	15	74772	357.95	0.0001*
Error	152571	784	194.60		
Longitud	317165	15	21144.40	384.22	0.0001*
Error	46311	784	59.07		
Ancho	36812	15	2454.13	120.95	0.0001*
Error	15908	784	20.29		
Peso	1738930	15	115928	255.09	0.0001*
Error	356296	784	454.45		

* = Diferencias significativas (prueba de Tukey, $P < 0.05$).

La curva que indica la relación morfométrica entre los promedios de la longitud y el peso total, se observa en la figura 6. El valor de la pendiente fue 2.39 (relación alo-métrica; $r = 0.88$).

Figura 6
Relación morfométrica entre la altura de la concha y el peso total de *A. maura* cultivado en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



El cuadro 2 muestra los valores de las ecuaciones que relacionan la temperatura del agua con el peso total, altura, longitud y ancho de la concha. No se encontró relación significativa en ninguna de las correlaciones ($P > 0.05$).

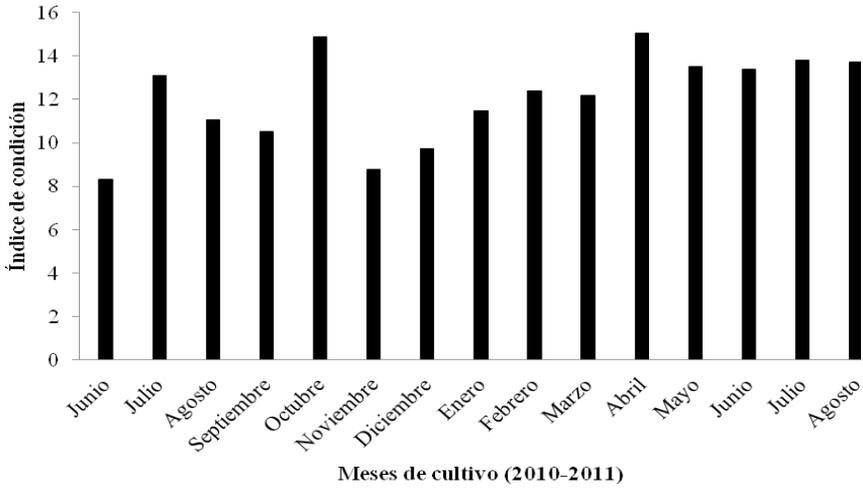
Cuadro 2
Valores de la correlación entre la temperatura del agua y el peso total, altura, longitud y ancho de la concha de *A. maura* cultivado en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.

	r^{\dagger}	a	B	F	P
Altura de la concha/temperatura	-0.08	28.44	-0.01	0.11	0.74
Longitud de la concha/temperatura	-0.06	80.04	-0.31	0.07	0.80
Ancho de la concha/temperatura	-0.09	28.23	-0.06	0.14	0.71
Peso total/temperatura	0.02	26.64	0.0025	0.01	0.92

$\dagger r$ = Nivel de correlación; a = Ordenada al origen; b = pendiente; F = valor de Fisher; F = valor de Pearson.

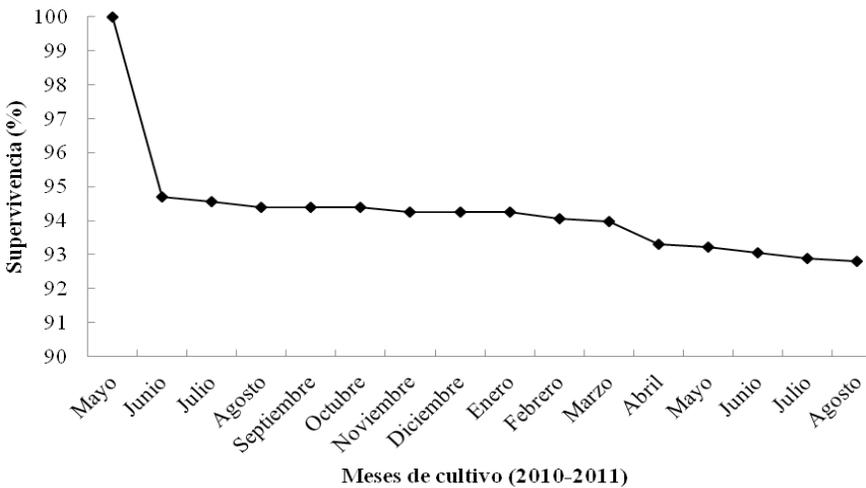
El índice de condición (figura 7) registró un incremento constante desde junio (8.32) hasta octubre (14.87). Desde noviembre hasta el final del cultivo, se mantuvo en ascenso.

Figura 7
Índice de condición de *A. maura* registrado mensualmente durante su cultivo en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa, México.



La supervivencia final fue de 92.79% (figura 8).

Figura 8
Supervivencia de *A. maura* cultivado en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa (México).



Discusión

A pesar del auge en el consumo y creciente interés por el cultivo de *A. maura* en Sinaloa, la información disponible acerca de su crecimiento y desarrollo en cultivo es muy escasa, la cual proviene de trabajos experimentales realizados en diferentes localidades (Miranda-Baeza, 1994; Almaraz-Salas, 2008; Corrales-Serna, 2010), por lo que estudios como el presente son una prioridad para la estructura tecnológica de su cultivo comercial en la zona.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron diferencias significativas en los valores promedio mensuales de la altura de la concha y peso de *A. maura*, pero los callos no alcanzaron la talla comercial (> 200 mm). El crecimiento registrado fue menor al reportado por Arizpe-Covarrubias y Félix-Uraga (1968), pero comparable al obtenido por Miranda-Baeza (1994) y Almaraz-Salas (2008), quienes utilizaron el cultivo tradicional, también aplicado en este estudio.

Góngora-Gómez *et al.* (2011) analizaron el efecto de diferentes densidades de siembra durante 15 meses de cultivo, en el crecimiento de este callo de hacha en una localidad del municipio de Navolato, Sinaloa, y obtuvieron organismos mayores y más pesados que los reportados en el presente trabajo. Las diferencias sugieren que el crecimiento de *A. maura* en el estero La Piedra, está influenciado por las condiciones locales del sitio.

Ulloa *et al.* (2003) reportaron el efecto de asentamientos urbanos, agrícolas y acuícolas existentes en la costa de Sinaloa, mismos que por el vertimiento de desechos afectan las comunidades fitoplanctónicas; y, por ende, pudieron afectar el crecimiento de *A. maura* en donde se realizó el presente estudio. Un trabajo realizado en la zona de cultivo acerca de estrés oxidativo del ostión de placer *Crassostrea corteziensis* (Figuroa, 2014), reveló una fuerte actividad de enzimas antioxidantes en dicho ostión debido a la presencia de xenobióticos.

Por otro lado, Armenta-Rivera (2014) encontró concentraciones de metales pesados (cobre, cadmio, plomo, zinc y mercurio) en tejido blando y músculo de *A. maura* colectado en la misma zona donde se realizó el presente cultivo. Estas evidencias confirman que las actividades agrícolas y acuícolas de la zona aportan químicos que son depositados y concentrados en el estero, lo que puede afectar la fisiología de los organismos que lo habitan, incluyendo los que son sujetos de cultivo.

Otros factores que contribuyen en los diferentes resultados entre trabajos, están representados por los diferentes tiempos de engorda utilizados, las condiciones ambientales pre-valecientes en el lugar al momento del cultivo y las variaciones en el sistema de cultivo en cada localidad. A pesar del rango de temperatura registrado (12.7°C entre la máxima y la mínima) en el ciclo de cultivo, este parámetro no mostró relación significativa con la talla y peso total; lo que sugiere que *A. maura* creció dentro de su rango térmico natural de distribución (Keen, 1971). La temperatura del agua mostró un patrón normal de aparición con picos de valores máximos en los meses de agosto, lo cual coincide con el último mes del verano, típico de altos gradientes en la zona.

Al igual que para poblaciones salvajes de *P. rugosa* (Serrano-Guzmán, 2003), la curva de crecimiento exponencial obtenida para *A. maura* se ajustó al modelo alométrico, lo cual indica que tanto la altura de la concha como el peso presentaron una relación significativa en el desarrollo de este bivalvo en cultivo; sin embargo, el crecimiento fue lento.

Los valores mensuales del índice de condición no muestran claramente un incremento constante y un descenso que sugieran que los animales alcanzaron la madurez reproductiva y desovaron, proceso que es común en especies de moluscos cuando su cultivo es prolongado (Castillo-Durán *et al.*, 2010). Para el caso específico de *A. maura*, Ahumada-Sempol *et al.* (2002), mencionan que esta especie alcanza su madurez sexual desde los 100 mm de longitud, talla que los animales en este trabajo alcanzaron en julio, después de tres meses de cultivo. Sin embargo, el valor más alto del índice de condición se obtuvo en octubre, cuando la altura de los callos era mayor a 150 mm, lo cual refuerza la hipótesis de que las condiciones del estero La Piedra estarían afectando también su comportamiento reproductivo.

La supervivencia de *A. maura* se mantuvo por encima de 90% a lo largo de toda la engorda, lo cual puede considerarse como aceptable para organismos en cultivo (Bunting, 2013). Los factores que pueden afectar la supervivencia en cultivos de moluscos pueden ser la presencia de epibiontes, depredadores, competidores por espacio y alimento, así como efecto de corrientes (Serrano-Casillas, 2004), cambio brusco de parámetros (Acarli *et al.*, 2011) y manejo (Gallo-García *et al.*, 2001). La tendencia a la disminución en el porcentaje de supervivencia en este trabajo, pudo haber sido por organismos epibiontes y depredadores (Alcázar-Zamora y Mendo-Aguilar, 2008).

De acuerdo a Wu y Shin (1998), la mortalidad en especies de bivalvos que se fijan al sustrato puede ser causada por pérdida de animales entre muestreos, depredación por peces, cangrejos y caracoles, y por causas desconocidas, cuando las conchas son colectadas vacías. Durante los muestreos, se observaron algunos organismos epífitos o competidores como balanos, algas, moluscos, crustáceos, peces y jaibas en el corral de cultivo.

El presente trabajo aporta información básica para futuros estudios de esta especie en la región; sin embargo, los resultados obtenidos en el estero La Piedra, Sinaloa, ponen en discusión su localidad como sitio con potencial para el cultivo del callo de hacha, ya que este bivalvo no alcanzó la talla comercial (> 200 mm) en 15 meses de engorda, durante el ciclo anual de 2010-2011.

A. maura mostró capacidad para sobrevivir en las condiciones como el estero La Piedra; pero, presumiblemente, su crecimiento pudo haberse visto afectado por desechos de origen antropogénico. Se recomienda la realización de futuros cultivos en relación con todas las variables del medio ambiente, para evaluar adecuadamente su crecimiento en el estero.

Conclusiones

Los resultados indican que después de 15 meses de cultivo, *A. maura* no alcanzó su talla comercial en el estero La Piedra, Sinaloa, México. Se recomienda la realización de estudios interanuales similares para evaluar el efecto de las variables ambientales en el crecimiento y supervivencia de esta especie cultivada en el sitio del presente trabajo.

Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional-Unidad Sinaloa (IPN-CIIDIR-Sinaloa) con registro SIP 20130856.

Literatura citada

- Acarli, S.; Lok, A.; Kudukdermencj, A.; Yildiz, H. y Serdar, S. (2011). Comparative growth, survival and condition index of flat oyster, *Ostrea edulis* (Linnaeus 1758) in Mersin Bay, Aegean Sea, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 17(2): 203-210.
- Ahumada-Sempoal, M. A.; Serrano-Guzmán, S. J. y Ruíz-García, N. (2002). Abundancia, estructura poblacional y crecimiento de *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae) en la laguna costera tropical del Pacífico mexicano. *Revista de Biología Tropical.* 50(3-4): 1091-1100.
- Alcázar-Zamora, J. A. y Mendo-Aguilar, J. (2008). Crecimiento y supervivencia de juveniles de *Argopecten purpuratus* en sistemas de fondo y suspendido en la zona de Casma, Perú. *Ecología Aplicada.* 7(1,2): 71-80.
- Almaraz-Salas, J. C. (2008). *Primer cultivo experimental de callo de hacha Atrina maura (Sowerby, 1835) en la ensenada La Palmita, Navolato, Sinaloa.* Tesis de Licenciatura. Universidad de Occidente Unidad Guasave, Guasave, Sinaloa, México.
- Ángel-Pérez, C.; Serrano-Guzmán, S. J. y Ahumada-Sempoal, M. A. (2007). Ciclo reproductivo del molusco *Atrina maura* (Pterioidea: Pinnidae) en un sistema lagunar costero, al sur del Pacífico tropical mexicano. *Revista de Biología Tropical.* 55(3-4): 839-852.
- Arizpe-Covarrubias, O. y Félix-Uraga, R. (1986). Crecimiento de *Pinna rugosa* (Sowerby, 1835) en la Bahía de La Paz, México. *Annales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México.* 13(2): 167-172.
- Armenta-Rivera, S. (2014). *Concentración de metales pesados: Cobre (Cu), cadmio (cd), plomo (Pb), Zinc (Zn) y mercurio (Hg), en un cultivo de callo de hacha Atrina maura, en el estero La Pitahaya, Guasave, Sinaloa.* Tesis de Licenciatura. Universidad de Occidente, Unidad Guasave, Guasave, Sinaloa, México.
- Arrieche, D.; Maeda-Martínez, A. N.; Farías-Sánchez, J. A. y Saucedo, P. E. (2010). Biological performance of the penshell *Atrina maura* and mussel *Mytella strigata* under different water flow regimes. *Ciencias Marinas.* 36(3): 237-248.
- Bhujel, R. C. (2008). *Statistics for aquaculture.* 1st edition. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA. 222 pp.
- Bunting, W. (2013). *Principles of sustainable aquaculture. Promoting social, economic and environmental resilience.* CSIRO Pub., Clayton Vic, Australia, 320 pp.
- Camacho-Mondragón, M. A.; Arellano-Martínez, M. y Ceballos-Vázquez, B. P. (2012). Particular features of gonad maturation and size at first maturity in *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae). *Scientia Marina.* 76(3): 539-548.
- Camacho-Mondragón, M. A.; Ceballos-Vázquez, B. P.; Rivera-Camacho, A. R. y Arellano-Martínez, M. (2015). Unnoticed sex change in *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae): Histological and size structure evidence. *American Malacology Bulletin.* 33(1): 43-51.
- Castillo-Durán, A.; Chávez-Villalba, J.; Arreola-Lizárraga, A. y Barraza-Guardado, R. (2010). Comparative growth, condition, and survival of juvenile *Crassostrea gigas* and *C. corteziensis* oysters cultivated in summer and winter. *Ciencias Marinas.* 36 (1): 29-39.
- Corrales-Serna, I. E. (2010). *Crecimiento y supervivencia del callo de hacha Atrina maura en la Isla Los Redos, Navolato, Sinaloa.* Tesis de Maestría. Universidad de Occidente, Unidad Guasave, Guasave, Sinaloa, México.
- Figuroa, V. D. (2014). *Variación espacio-temporal en el estrés oxidativo del ostión de placer Crassostrea corteziensis en un sistema lagunar eutrofizado.* Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario para la Investigación y el Desarrollo Integral Regional CIIDIR-Unidad Sinaloa. Instituto Politécnico Nacional, Guasave, Sinaloa, México.
- Flores-Higuera, F. (2004). *Estudio del cariotipo del callo de hacha Atrina maura (Sowerby, 1835).* Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz Baja California Sur, México.
- Gallo-García, M. C.; García-Ulloa, M.; Godínez-Siordia, D. y Rivera-Gómez, K. (2001). Estudio preliminar sobre el crecimiento y supervivencia del ostión del Pacífico *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1873) en Barra de Navidad, Jalisco, México. *Universidad y Ciencia.* 17: 83-91.

- Góngora-Gómez, A. M.; García-Ulloa, G. M.; Domínguez-Orozco, A. L. y Hernández-Sepúlveda, J. A. (2011). Crecimiento del callo de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae) cultivado a diferentes densidades. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 15(2): 79-94 pp.
- Góngora-Gómez, A. M.; García-Ulloa, G. M.; Domínguez-Orozco, A. L.; Hernández-Sepúlveda, A. y Nolasco-Orta, A. (2012). *Desarrollo científico y biotecnológico para el cultivo comercial del callo de hacha* (*Atrina maura*), en el estado de Sinaloa, México. Mundilibros S. A. de C. V., Tlaxcala, Tlaxcala, México. 118 pp.
- González-Corona, J. (2003). *Estudio de la fisiología reproductiva y gametogénesis del callo de hacha Atrina maura* (Sowerby, 1835). Tesis de Maestría, Universidad de Sonora, Guaymas, Sonora, México. 92 pp.
- Keen, A. M. (1971). *Sea Shells of Tropical West America*. 2nd edition, Stanford Universe Press, Stanford, California, USA. 402 pp.
- Miranda-Baeza, M. (1994). *Cultivo experimental de callo de hacha Atrina maura (Pelecypoda: Pinnidae), en la laguna de Agiabampo, Sonora*. Centro de Estudios Superiores de Sonora, Unidad Académica Navojoa, Sonora, México. 11 pp.
- Robles-Mungaray, M. (2004). *Desarrollo de la biotecnología para la producción de semilla en laboratorio, diploide y triploide, de callo de hacha Atrina maura* (Sowerby, 1835). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Baja California Sur, México. 66 pp.
- Serrano-Casillas, G. (2004). *Crecimiento y supervivencia de la almeja Catarina Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842), bajo condiciones de cultivo en suspensión y fondo en Bahía Concepción, B.C.S. México. Tesis de Maestría. Baja California Sur México. 164 pp.
- Serrano-Guzmán, S. J. (2003). Análisis prospectivo de las relaciones morfométricas de *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 (Bivalvia: Pinnidae) en Corralero-Atolengo, Oaxaca, México. *Ciencia y Mar*. 22: 31-39.
- Ulloa, P. A.; Martínez, A. y Escobedo, D. (2003). *Fitoplancton del litoral del municipio de Guasave, Sinaloa*. IX Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortés, A. C. y III Simposium Internacional del Mar de Cortés, La Paz, Baja California Sur, México. En: Muñoz, P. Editor. 95-96 pp.
- Walne, P. R. y Mann, R. (1975). *Growth and biochemical composition in Ostrea edulis and Crassostrea gigas*. 9th European Marine Biology Symposium. Aberdeen, Scotland. En: Barnes, H. Editor. pp. 587-607.
- Wu, R. S. S. y Shin, P. K. S. (1998). Transplant experiments on growth and mortality of the fan mussel *Pinna bicolor*. *Aquaculture*. 163: 47-62.
- Zar, J. H. (1996). *Biostatistical Analysis*, 3rd. ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA. 593 pp.

Recepción: 09 de septiembre de 2015
Envío arbitraje: 07 de octubre de 2015
Dictamen: 27 de noviembre de 2015
Aceptación: 01 de diciembre de 2015