

INDEX

The role of trees in livestock raising in the dry tropics

Palma, J. M. / 3

Survival of white shrimp larvae grown in different containers
and fed natural or artificial diets

Meyer-Willerer, A. O. / 17

Effect of entomopathogen fungus *Metarhizium anisopliae* on
the control of the cogollero corn worm in the field

*Lezama, R.; Molina, J.; López, M.; Pescador, A.; Galindo,
E.; Ángel, C. A. and Michel, A. C. / 27*

Association of stinking bedbug *Oebalus mexicanus* with
Fusarium moniliform fungus causer of the charred stick in
the sorghum ear, in the Chapala marsh, Jalisco, México

*Martínez, J. L.; Pescador, A.; Lezama, R.; Rebolledo, O.;
Molina, J.; López, M. and Betancourt, A. / 33*

Evaluation of an experimental aquaponic system

*García-Ulloa, M.; León, C.;
Hernández, F. and Chávez, R. / 43*

Effect of acute treatment with norgestomet on the follicular
dynamic in F1 Zebu x Holstein cows synchronized with
norgestomet implants and eCG

*Páez, R.; Hernández, J.; Saharrea, A.
and Gutiérrez, C. G. / 49*

Editorial

Al iniciar este segundo año de esta segunda época, nos produce sentimientos encontrados: por un lado, el continuar con un proyecto renovado, lleno de optimismo y, a su vez, mantener la calidad de una revista científica; por otra parte, aparentemente, esto se avizoraría como un reto difícil, pues las condiciones para su consolidación parecieran azarosas. Sin embargo, nos contagiamos de otros colegas que mantienen proyectos similares al de Rev. AIA, tanto en el país, como en otros países de Latinoamérica. Fenómeno observado después de nuestra participación en el V Encuentro de Editores de Revistas Científicas de Latinoamérica, evento desarrollado en el Instituto de Ciencia Animal (ICA) en La Habana (Cuba), en noviembre del 2004. Foro rico en intercambio de ideas, experiencias, de aportaciones desinteresadas y, desde mi punto de vista, con un amplio compromiso por difundir la ciencia generada en nuestros países de habla hispana. Ahí se evidenció la necesidad de conjuntar esfuerzos, de compartir ideas, de colaborar en diferentes temas, en reflexionar sobre el trabajo realizado, pero sobre todo, en un respeto profundo por el trabajo editorial, entendido éste como una actividad comprometida con el desarrollo de nuestros países de América Latina.

Aunque en el evento predominaron las revistas del área agropecuaria, existieron también otras de diferentes disciplinas. En cuanto a su antigüedad, las hubo tanto de reciente creación, como las de añeja tradición. La presencia de editores tanto jóvenes como aquellos de consolidada trayectoria, mostró un amplio compromiso con sus proyectos editoriales; cierto es que muchos de los ahí presentes compartimos las mismas limitantes, pero fueron discutidas también diferentes soluciones. Por lo tanto, actividades como ésta, renuevan los ánimos y enriquecen el espíritu para continuar con una labor por demás trascendente.

Enhorabuena por esta iniciativa de generar un foro que permita el enriquecimiento para desarrollar un mejor trabajo editorial de las revistas científicas en la región, por crear un espacio para la reflexión y el intercambio fecundo, pero ante todo, y de manera esencial, por hermanar proyectos basados en tener un producto de calidad y con un sólido compromiso con su entorno.

José Manuel Palma García

Editor en Jefe, Revista AIA



Asociación de la chinche apestosa *Oebalus mexicanus* con el hongo *Fusarium moniliforme* causante del tizón de la panoja del sorgo, en la Ciénega de Chapala, Jalisco, México

Association of stinking bedbug *Oebalus mexicanus* with *Fusarium moniliforme* fungus causer of the charred stick in the sorghum ear, in the Chapala marsh, Jalisco, México

Martínez, J. L.;^{1*} Pescador, A.;² Lezama, R.;³ Rebolledo, O.;³ Molina, J.;³ López, M.³ y Betancourt, A.⁴

¹Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Producción Agrícola, CUCBA, Universidad de Guadalajara, km 15.5, Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

* Correspondencia: jlmartin@cucba.udg.mx

²Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario, Universidad de Colima, km 39 Autopista Colima-Manzanillo, Crucero Tecmán, Tecmán (C. P. 28100), Colima, apescado@yahoo.com.

³Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Apartado Postal No. 36, Tecmán, Colima (C. P. 28100), México. rlezama@uol.mx

⁴Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nayarit, Apartado Postal 49, Xalisco, Nayarit.

Resumen

En la Ciénega de Chapala se llevaron a cabo una serie de experimentos de laboratorio y campo para determinar la interacción biológica entre la alimentación de la chinche apestosa y la severidad de tizón de la panoja del sorgo, causado por el hongo *Fusarium moniliforme*. La chinche *Oebalus mexicanus* es el insecto que predomina sobre las panojas de sorgo en esa región. *F. moniliforme* fue aislado del interior del insecto. Las pruebas de transmisión del patógeno resultaron positivas. Pruebas de regresión realizadas para los datos de 1996 y 1997 indican que del 70% al 85% del daño por tizón de la panoja se explica por la abundancia de la chinche apestosa.

Palabras clave

Interacción biológica, *Oebalus mexicanus*, *Fusarium moniliforme*, *Sorghum bicolor*.

Abstract

In the Chapala area a series of laboratory and field experiments were conducted to determine the relation between the feeding of the stink bug and the severity of sorghum head blight, caused by the fungus *Fusarium moniliforme*. In that region, the stink bug *Oebalus mexicanus* is the most prevalent insect on the sorghum panicle. *F. moniliforme* was isolated from inside of the insect. Tests of pathogen transmission resulted positive. The degree of damage by head blight was directly related with the incidence of stink bug. Regression analysis for the 1996 and 1997 data indicated that 70%-80% of the damage by head blight can be explained by the incidence of stink bug.

Key words



Biological interactions, *Oebalus mexicanus*, *Fusarium moniliforme*, *Sorghum bicolor*.

Introducción

El sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench, es uno de los cultivos más importantes en México [Betancourt, 1978]. Los patógenos e insectos frecuentemente atacan a la planta de sorgo simultáneamente, e interactúan de alguna manera, lo cual impide el desarrollo normal de la panoja y causan pérdidas económicas [Agrios, 1980; Hepperly *et al.*, 1982; Marley y Malgwi, 1999; Zummo, 1978].

El tizón de la panoja del sorgo es una enfermedad causada por el hongo *Fusarium moniliforme* (Sheldon). Esta enfermedad se presenta en regiones productoras de sorgo en el mundo y es más severa en zonas cálidas y húmedas [Zummo, 1978]. El hongo *F. moniliforme* invade los tejidos de la inflorescencia, destruyendo algunas de las flores, o la totalidad de la panoja. Si una panoja infectada es cortada longitudinalmente, se nota una coloración rojiza o achocolatada en los tejidos interiores, extendiéndose a las ramas de la inflorescencia y, a veces, hasta la parte superior del tallo. Bajo condiciones severas de la enfermedad, el pedúnculo se puede quebrar [Williams *et al.*, 1978]. Este mismo patógeno causa la enfermedad conocida como “moho del grano”, la cual afecta la calidad y viabilidad del grano. Los insectos que atacan al sorgo han sido asociados con la presencia de este tipo de enfermedades [Hepperly *et al.*, 1982; Marley y Malgwi, 1999]. Recientemente, en Nigeria [Marley y Malgwi, 1999], se describe la interacción entre la chinche de la panoja *Eurystylus sp* (Heteróptera: Miridae) que se alimenta de la panoja del sorgo y la predispone a una mayor incidencia y severidad del moho del grano.

El tizón de la panoja y la chinche apestosa son plagas comunes en la región de Chapala, Jalisco, México. En esta área, la incidencia y severidad del tizón de la panoja se incrementa conforme aumenta la población de chinche apestosa (observaciones de los autores).

El objetivo de esta investigación fue el examinar las interacciones entre *F. moniliforme* y la chinche apestosa del sorgo. Se establecieron experimentos de laboratorio y campo para determinar el efecto de la alimentación de la chinche apestosa sobre la severidad del tizón de la panoja del sorgo.

Materiales y métodos

Incidencia de insectos sobre la panoja. Para evaluar este factor, se realizó un muestreo aleatorio de 32 plantas de sorgo durante la etapa de formación del grano, utilizando bolsas hechas de tela de “Agribon”. Durante la colecta de insectos, la inflorescencia se introdujo en la bolsa en su totalidad e inmediatamente se agitó la panoja. Los artrópodos capturados se conservaron en alcohol al 70% para, posteriormente, ser clasificados. Las panojas fueron etiquetadas para, al tiempo de la cosecha, evaluar el daño causado por el hongo.

Chinches como vectores de *F. moniliforme*. Dado que *O. mexicanus* fue el insecto más abundante en la panoja del sorgo, se estableció un ensayo para determinar si este hemíptero puede ser considerado como vector de *F. moniliforme*. Se colectaron 150 individuos de la chinche, con el objeto de aislar en medio de cultivo Nash & Sneider PCNB al patógeno. Para este fin se examinó la parte externa e interna de los insectos. Se establecieron tres tratamientos; el primero de ellos consistió en tomar chinches completas y lavar la parte externa en 10 ml de agua destilada esterilizada para obtener esporas; el segundo tratamiento consistió en macerar el



intestino de las chinches en el mismo volumen de agua destilada esterilizada, con el objeto de averiguar si el hongo es acarreado en la parte interna. Se establecieron cinco repeticiones de cada tratamiento, cada una de las cuales fue una caja de petri con medio de cultivo. A cada caja se adicionó 0.1 ml de la dilución obtenida por el lavado de los insectos y fue esparcida con espátula. Este proceso se llevó a cabo en una campana de flujo laminar. Las cajas petri se incubaron a 24 °C por una semana hasta que se formaron estructuras reproductoras para su identificación taxonómica. Se conservaron en el laboratorio especímenes del insecto por 30 días y luego se hizo el tercer tratamiento que consistió en realizar aislamientos del intestino con la misma técnica.

Transmisión de *F. moniliforme* por la chinche apestosa. Con el fin de documentar esta asociación, se realizó un experimento en campo para elucidar si *O. mexicanus* y el chapulín inciden diferencialmente en la magnitud con que *F. Moniliforme* afecta la panoja del sorgo. Se protegieron las panojas antes de la brotación con jaulas de tela de Agribon para evitar la penetración de insectos; posteriormente, durante el periodo de formación del grano se introdujeron insectos colectados en campo formando diferentes tratamientos, constituidos por 30 plantas cada uno. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: 1) panoja protegida + 2 chapulines; 2) panoja protegida + 5 chinches; 3) panoja protegida sin insectos. Los datos que se tomaron fueron grado de daño, los resultados fueron evaluados mediante análisis de varianza no paramétrica usando la prueba Kruskal-Wallis a un nivel de probabilidad de error de 5%.

Aspectos epidemiológicos de las chinches sobre el tizón de la panoja. Para determinar la influencia epidemiológica de la chinche sobre la gravedad del tizón de la panoja, se establecieron experimentos de campo durante las temporadas de cultivo en 1996 y 1997. En Poncitlán, Jalisco, México, considerado como representativo de la región de Chapala, el sorgo fue sembrado en cinco diferentes fechas de cada año entre los meses de junio y julio. Se usó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones para 1996 y cuatro repeticiones para 1997. La parcela estuvo formada por seis surcos de 10 m de largo. Se le dieron todos los cuidados agronómicos de la región y se protegió a la planta en su parte subterránea con Furadan 3G a una dosis de 80 kg por hectárea para evitar el daño de insectos del suelo y nemátodos. Se seleccionaron 10 plantas al azar en los dos surcos centrales y se cuantificó la cantidad de chinches presentes en cada panoja. Se etiquetaron las panojas para, durante la cosecha, cuantificar el daño por tizón. Los datos fueron evaluados mediante análisis de varianza y regresión.

Resultados

Incidencia de insectos sobre la panoja. El resultado del trampeo de insectos se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Insectos que parasitan la panoja del sorgo, Poncitlán, Jalisco (1996).

Tipo de insecto	Rango del número de individuos por planta	Plantas parasitadas/ total de plantas
Picudo	1	1/32
Chapulín	1	2/32
Chinche*	0-17	30/32



Como se aprecia en el Cuadro 1, los insectos que dominan en la panoja del sorgo son las chinches *O. mexicanus*.

Chinches como vectores de *F. moniliforme*. Al revisar los aislamientos realizados en medio de cultivo selectivo de *Fusarium*, se encontró que dos días después de la siembra, en el tratamiento de las diluciones hechas a partir de la parte externa de las chinches *O. mexicanus*, se desarrollaron algunas colonias de hongos en forma aislada, así como gran cantidad de colonias bacterianas. En cambio, con las diluciones de la parte interna de las chinches, en el mismo periodo de tiempo, se desarrollaron vigorosamente, gran cantidad de colonias de hongos, llenando las cajas de petri, en seis días; en este caso, también se obtuvieron colonias bacterianas. Al observar bajo el microscopio las estructuras reproductoras de los hongos aislados y compararlas con las claves taxonómicas, se determinó una sola especie de hongo, el cual fue identificado como *F. moniliforme*. Estos resultados fueron consistentes en las cinco repeticiones. Los aislamientos efectuados con el intestino de chinches almacenadas en el laboratorio por 30 días, presentaron resultados similares, identificándose también al hongo *F. moniliforme*.

Transmisión de *F. moniliforme* por la chinche apestosa. La chinche *O. mexicanus* promovió en las panojas un daño mayor que los chapulines ($F= 3.074$, $PF=.0319$, $CME=0.44$). Sin embargo, se pudo apreciar también algún efecto causado por los chapulines, pero aquí cabe hacer mención, de que éstos tendieron a romper la tela de Agribon, dejando aperturas que permitieron el acceso de las chinches y que los chapulines se murieron a los dos o tres días de iniciada la prueba. Asimismo, es importante señalar que las panojas testigo también sufrieron daño aunque incipiente.

Cuadro 2. Efecto de varios insectos en la transmisión del tizón de la panoja causado por *F. moniliforme*. Poncitlán, Jalisco (1996).

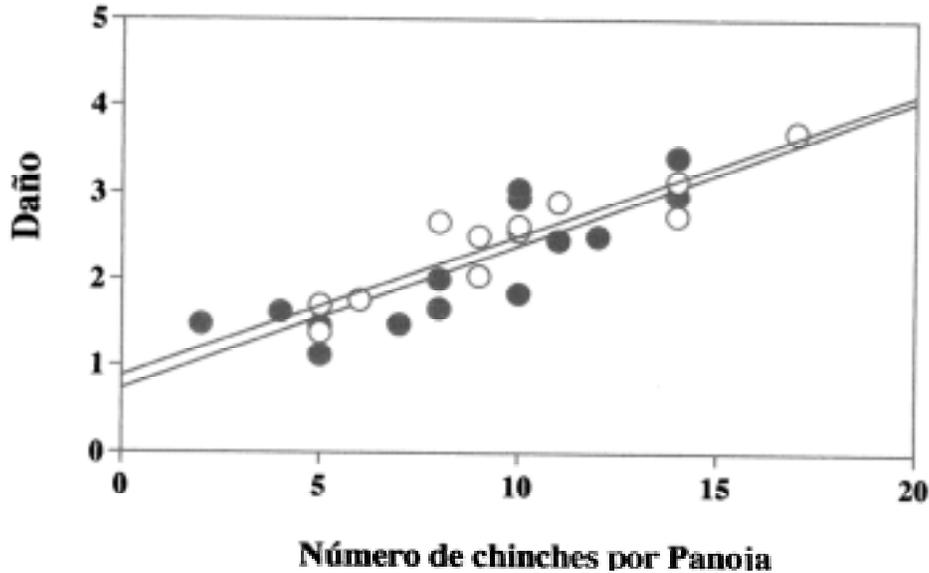
Tratamiento	n	Calificación de daño	E S
Chapulín	21	1.21 ± 0.12	b ^z
Testigo	20	.94 ± 0.15	b
Chinche	30	1.35 ± 0.08	a

^zTratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales.

Aspectos epidemiológicos de las chinches sobre el tizón de la panoja. El análisis de regresión de daño por tizón contra número de chinches para los dos años de prueba nos muestra que, efectivamente, el daño que sufre la panoja está relacionado positivamente con el número de chinches que la afectan (Gráfica 1). Esta relación sugiere que el hemíptero es vector de *F. moniliforme*.



Gráfica 1. Relación entre el número de chinches con el nivel de daño causado por el tizón de la panoja del sorgo, Poncitlán, Jalisco, durante los años 1996 y 1997.



$Y = 0.166X + 0.727$ $R^2 = 0.721$. $p < 0.0001$ 1996.

$Y = 0.162X + 0.877$ $R^2 = 0.855$. $p < 0.0001$ 1997.

• Daño causado por *F. moniliforme* 1996.

° Daño causado por *F. moniliforme* 1997.

Discusión

Los resultados muestran claramente que la chinche apestosa del sorgo *O. mexicanus* es el insecto que predomina como parásito de la panoja durante la formación del grano. También se encontró que la chinche, aparentemente, es capaz de llevar en su interior al hongo *F. moniliforme* y que éste puede permanecer viable por lo menos 30 días en el interior del insecto. Coincide con las observaciones de otros investigadores [Claflin, 1981; Gourley *et al.*, 1977, Henzell *et al.*, 1996; Hepperly *et al.*, 1982] en el sentido de que los insectos influyen en el grado de enfermedad.

Al resultar significativas las pruebas de transmisión, se confirma que la chinche *O. mexicanus*, es vector o diseminador de *F. moniliforme*. Agrios [1980], hace una revisión detallada de insectos como vectores de hongos y señala que, en algunos casos, una amplia variedad de insectos puede estar involucrados en la transmisión de algún hongo, mientras que en otros, se han desarrollado asociaciones más o menos específicas entre un hongo y uno o pocos insectos que actúan como vectores. También se encontró que *F. moniliforme* puede ser transmitido o diseminado por diferentes tipos de insectos como Coleópteros, Lepidópteros, Thisanópteros y Dípteros [Blakeslee *et al.*, 1981; Damicone *et al.*, 1987; Gilbertson *et al.*, 1986; Henzell *et al.*, 1996; Munkvold *et al.*, 1997]. En Nigeria, Marley y Malgwi [1999], reportaron la interacción entre la chinche *Eurystylus sp.* (Heteróptera: Miridae) y el hongo *F. moniliforme* en la enfermedad conocida como “moho del grano” del sorgo. Señalan que el daño del insecto incrementó el número de colonias fúngicas asociadas con el grano, lo que resulta en baja de germinación y rendimiento. El daño de los insectos también



alteró la abundancia relativa de las especies de la flora fúngica común. Estos resultados son la primera evidencia clara de interacciones entre chinches de la panoja y “moho del grano” del sorgo en Nigeria.

Sin embargo, son pocos los reportes encontrados que indican a pentatómidos como vectores de hongos [Burgess y Mckenzie, 1991; Clarke y Wilde, 1970; Clarke y Wilde, 1971; Daugherty y Foster, 1966; Daugherty, 1967]. En este sentido, destaca el caso de la chinche verde apestosa *Acrosternum hilare* (Say) en el cultivo de soya [Clarke y Wilde, 1970; 1971]. Se menciona que el insecto es vector del hongo *Nematospora coryli* (Peglion) y que la chinche retiene al hongo en su cabeza por 90 días. Además, se menciona que lo pierde durante la muda y que se puede encontrar en las heces fecales, pero no en secreciones salivales. Por otro lado, además de transmitir al hongo *N. coryli*, las chinches por sí solas pueden causar daños de consideración. Esta misma enfermedad de la soya puede ser transmitida por otras especies de chinches de la familia Pentatomidae [Daugherty, 1967].

Otros investigadores [Daugherty y Foster, 1966] describen en el cultivo de arroz una chinche apestosa también del género *Oebalus* (*O. pugnax* F.), relacionada con la enfermedad conocida como “Nematospora del arroz”. Señalan que el arroz es atacado frecuentemente por el hongo *Nematospora coryli* después de una infestación de la chinche y que el hongo penetra por las heridas hechas por el insecto.

Estos antecedentes apoyan fuertemente la asociación encontrada hospedero-patógeno-vector entre el sorgo *S. bicolor*, el hongo *F. moniliforme*, causante del tizón de la panoja del sorgo y la chinche apestosa de la panoja del sorgo *O. mexicanus*.

Las regresiones realizadas entre calificación de daño y número de chinches para los años 1996 y 1997 con una R cuadrada de 0.70 y 0.85, respectivamente; lo que indica que del 70 al 85% de la incidencia de la enfermedad se explica por la abundancia de *O. mexicanus*.

Conclusiones

- El insecto más abundante que parasita al sorgo en la Ciénega de Chapala es la chinche apestosa.
- La chinche *O. mexicanus*, es vector o diseminador del hongo *F. moniliforme* causante del tizón de la panoja del sorgo en la Ciénega de Chapala.
- La abundancia de *O. mexicanus* sobre la panoja del sorgo determina el grado de incidencia del tizón de la panoja.

Literatura citada

- Agrios, G. N. 1980. Insect involvement in the transmission of fungal pathogens. Pages 293-324 in: Vectors of plant pathogens. K. F. Harris and K. Maramorosch, eds. Academic Press, New York.
- Betancourt, V. A. 1978. Sorghum diseases in México. In: Sorghum Diseases, A World Review. Proceedings of the International Workshop at ICRISAT. Hyderabad, India. 1978, pp. 22-28.
- Blakeslee, G. M.; Foltz, J. L. and Oak, S. W. 1981. The deodar weevil, a vector and wounding agent associated with pitch canker of slash pine. *Phytopathology*. 71: 861.
- Burgess, L. and Mckenzie, D. L. 1991. Role of the insect *Nysius niger*, and flixweed, *Descurainia sophia*, in infection of Saskatchewan mustard crops with a yeast, *Nematospora sinecauda*. *Canadian Plant Disease Survey*. 71: 37-41
- Castro, J. A.; Martínez, J. L. 1986. Control químico del tizón de la panoja del sorgo en la ciénega de Chapala. Parte del trabajo de tesis del primer autor. Universidad Autónoma de Guadalajara, Ingeniero Agrícola. 32 p.
- Claffin, L. E. 1981. *Fusarium* Root and Stalk Rot. Department of Plant Pathology. Kansas State University, U.S.A, pp. 162-169.



- Clarke, R. G. and Wilde, G. E. 1970. Association of green stink bug and the yeast-spot disease organism of soybeans. 1. Length of retention, effect of molting, isolation from feces and saliva. *Journal of Economic Entomology*. 63: 200-204.
- Clarke, R. G. and Wilde, G. E. 1971. Association of green stink bug and the yeast-spot disease organism of soybeans. Effect on soybean quality. *Journal of Economic Entomology*. 64: 222-223.
- Damicone, J. P.; Manning, W. J. and Ferro, D. N. 1987. Influence of management practices on severity of stem and crown rot, incidence of asparagus miner, and yield of asparagus grown from transplants. *Plant Disease*. 71: 81-84.
- Daugherty, D. M. and Foster, J. E. 1966. Organism of yeast spot disease isolated from rice damaged by rice stink bug. *Journal of Economic Entomology*. 59: 1282-1283.
- Daugherty, D. M. 1967. Pentatomidae as vector of yeast-spot disease of soybeans. *Journal of Economic Entomology*. 60: 147-152.
- Gilbertson, R. L.; Brown, W. M. Jr.; Ruppel, E. G. and Capinera, J. L. 1986. Association of corn stalk rot *Fusarium* spp. and western corn rootworm beetles in Colorado. *Phytopathology*. 76: 1309-1314.
- Gourley, L. M.; Andrews, C. H.; Singleton, L. L. and Dravjo, L. 1977. Effects of *Fusarium moniliforme* on seedling development of sorghum cultivars. *Plant Disease Reporter*. 61: 616-618.
- Henzell, R. G.; Peterson, G.C.; Teetes, G. L.; Franzmann, B. A.; Sharma, H. C.; Youm, O.; Ratnadass, A.; Toure, A.; Raab, J. and Ajayi, O. 1996. Breeding for resistance to panicle pests of sorghum and pearl millet. Proceedings of international conference on genetic improvement of sorghum and pear millet, Sponsored by INTSORMIL AND ICRISAT. Lubbock, Texas.
- Hepperly, P. R.; Feliciano, C. and Sotomayor, A. 1982. Partial control of *Fusarium moniliforme* seed infection in sorghum with application of Methiocarb insecticide. *Phytopathology*. 72: 170.
- Marley, P. S. and Malgwi, A. M. 1999. Influence of headbugs (*Eurystylus sp.*) on sorghum grain mould in the Nigerian savanna. *Journal of Agricultural Science*. 132 (part 1): 71-75.
- Martínez, J. L. 1982. Enfermedades del maíz, frijol y sorgo en la región sur de Jalisco. Informe interno CAEAJAL, INIA, SARH. 52 p.
- Munkvold, G. P.; Hellmich, R. L. and Showers, W. B. 1997. Reduced *Fusarium* ear rot and symptomless infection in kernels of maize genetically engineered for European corn borer resistance. *Phytopathology*. 87: 1071-1077.
- Ratnadass, A.; Cisse, B. and Malle, K. 1994a. Notes on the biology and immature stages of West African sorghum head bugs *Eurystylus immaculatus* and *Creontiades pallidus* (Heteroptera: Miridae). *Bulletin of Entomological Research*. 84: 383-388.
- Williams, R. J.; Frederiksen, R. A. and Girard, J. C. 1978. Manual para la identificación de las enfermedades del sorgo y mijo. ICRISAT. Boletín informativo No. 2. 88 p.
- Zummo, N. 1978. *Fusarium* disease complex of sorghum in west Africa. In: Sorghum disease. A World Review. Proceedings of the International Workshop at ICRISAT. Hyderabad, India. 1978, pp. 297-299.

Recibido: Febrero 9, 2004.

Aceptado: Julio 12, 2004.



Efecto de un tratamiento agudo con norgestomet en la dinámica folicular de vacas Cebú x Holstein sincronizadas con implantes de norgestomet y eCG

Effect of acute treatment with norgestomet on the follicular dynamic in F1 Zebu x Holstein cows synchronized with norgestomet implants and eCG

Páez, R.; Hernández, J.*; Saharrea, A. y Gutiérrez, C. G.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (C. P. 04510), México, D. F.

* Correspondencia: jhc@servidor.unam.mx

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de una inyección de norgestomet en la dinámica folicular de vacas Cebú x Holstein sincronizadas con implantes de norgestomet. Se utilizaron 50 vacas en lactación con más de 60 días posparto, las cuales recibieron un implante de 3 mg de norgestomet y una dosis luteolítica de PGF2a (día cero). El día cinco, a 25 vacas (grupo Norg), se les administraron 1.8 mg de norgestomet intramuscular (IM) y 25 vacas (grupo testigo), recibieron 3 ml de solución salina. El noveno día se retiró el implante, se realizó un destete temporal por 72 h y los animales fueron divididos al azar dentro de sus tratamientos para recibir (n = 23) o no (n = 27) 500 UI de eCG. Posteriormente, las vacas fueron observadas durante cinco días en forma continua para la detección de signos de estro. Se realizaron diariamente ecografías de los ovarios desde el día de la inserción del implante hasta la presentación de estro. El tratamiento agudo con norgestomet provocó recambio del foliculo dominante (FD) en 40% (10/25) de las vacas, contra 16% (4/25) del grupo testigo ($P < 0.05$). La etapa de desarrollo del foliculo afectó la respuesta al tratamiento; así, el norgestomet provocó atresia del FD en 66.6% (6/9) de las vacas, cuyos foliculos se encontraban en la etapa de meseta contra 25% (4/16) de los que estaban en la etapa de crecimiento ($P < 0.05$). La eCG no afectó ($P > 0.05$) el porcentaje de vacas que presentaron estro ni el tiempo de presentación del mismo. Se concluye que el tratamiento agudo con norgestomet, durante la sincronización del estro con progestágenos, provoca atresia y recambio folicular. Sin embargo, este efecto depende de la etapa de desarrollo del foliculo dominante al momento del tratamiento.

Palabras clave

Norgestomet, eCG, desarrollo folicular, Cebú x Holstein.

Abstract

To evaluate the effect of a norgestomet injection on follicular dynamics in cattle synchronized with norgestomet implants, 50 Zebu x Holstein cows in calve with over 60 days postpartum were used. Cattle were synchronized with a norgestomet implant (3mg) and a prostaglandin injection at the initiation of the synchronization treatment. On day five of the synchronization protocol, half of the cattle were treated with 1.8 mg of norgestomet (Norg; n = 25) or saline solution (Control; n = 25). On day nine, the implants were withdrawn and the calves temporarily weaned for 72 h. Within each



group, cows were randomly assigned to receive ($n = 23$) or not ($n = 27$) 500 IU of eCG. Cows were observed for estrus during five days continuously. Transrectal ultrasonography of the ovaries was performed daily from the day of implant insertion to estrus. Norgestomet treatment caused the demise of the dominant follicle in 40% (10/25) compared to only 16% (4/25) of the control group. The response to the treatment was affected by the stage of follicular wave. When the dominant follicles were at the plateau of their growing phase, 66.6% of them suffered atresia after treatment. In contrast, if the follicle was in its growing phase only 25% of them regressed. Treatment with eCG did not affect ($P > 0.05$) the proportion of cows in estrus nor the interval from implant withdrawal to estrus. In conclusion, acute treatment with norgestomet during estrous synchronization with progestins induced atresia of the dominant follicle. Nonetheless, the response to norgestomet treatment was affected by the stage of follicular growth.

Key words

Norgestomet, eCG, dominant follicle, estrus, synchronization, cattle.

Introducción

En bovinos, la administración de progestágenos para sincronizar el estro en hembras que no tienen un cuerpo lúteo afecta la dinámica folicular. En estas vacas aumenta el periodo de dominancia folicular y con frecuencia el folículo dominante, presente al inicio del tratamiento, persiste durante el periodo de administración del progestágeno y ovula después de retirar el tratamiento [Anderson y Day, 1994; Mata *et al.*, 2001]. La fertilidad de las vacas que ovulan folículos con periodos largos de dominancia disminuye significativamente, lo cual se asocia con alteraciones en la maduración del ovocito [Revah y Butler, 1996]. Se han desarrollado diversos protocolos, integrados a los tratamientos de sincronización de estros con progestágenos para manipular el desarrollo folicular. Un método consiste en la supresión de la pulsatilidad de la LH mediante la administración parenteral de progestágenos; esto ocasiona la atresia del folículo dominante (FD) y el surgimiento de una nueva oleada folicular [Anderson y Day, 1994; Mata *et al.*, 2001]. En los estudios en los que se han evaluado estos protocolos [Cavaliere *et al.*, 1998a; McDowell *et al.*, 1998; Mata *et al.*, 2001; García *et al.*, 2004] se ha utilizado un modelo experimental en el cual todos los animales se encuentran con una oleada folicular sincronizada (primera oleada folicular, días 6-8 del ciclo). Sin embargo, en condiciones prácticas, la variación de la población folicular es grande, ya que el implante se inserta a las vacas en cualquier etapa del ciclo estral. Esta variación en la población folicular puede afectar la respuesta a los tratamientos dirigidos a manipular la oleada folicular. El primer objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de norgestomet en la atresia del FD en vacas Cebú x Holstein, sincronizadas con un implante de norgestomet en ausencia de un cuerpo lúteo.

La gonadotropina coriónica equina (eCG) se ha integrado a los protocolos de sincronización e inducción del estro con progestágenos. Se propone que esta hormona favorece el desarrollo folicular, la ovulación y la fertilidad [Kerr *et al.*, 1991; Kastelic *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 2000]. El segundo objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de 500 UI de eCG en las características del folículo ovulatorio y la presentación del estro en vacas sincronizadas con implantes de norgestomet en ausencia de un cuerpo lúteo.



Material y métodos

Se utilizaron 50 vacas Cebú x Holstein, en ordeño y amamantando, con más de 60 días posparto. Todas las vacas recibieron un implante auricular que contenía 3 mg de norgestomet (día cero) y una dosis luteolítica de PGF_{2a}. El día cinco, las vacas fueron divididas al azar en dos grupos: el grupo Norg (n = 25) recibió 1.8 mg de norgestomet intramuscular (IM) y el grupo testigo (n = 25) recibió 3 ml solución salina. El noveno día se retiró el implante, se realizó un destete temporal por 72 h y se dividieron al azar dentro de sus tratamientos para recibir (n = 23) o no (n = 27) 500 UI de eCG.

Después del retiro del implante, las vacas fueron observadas durante cinco días en forma continua para la detección de signos de estro. Se realizaron diariamente ecografías de los ovarios desde el día de la inserción del implante hasta la presentación del estro. Las vacas tuvieron al menos dos observaciones ecográficas entre el retiro del implante y el estro. Todas las vacas que presentaron estro fueron inseminadas y el diagnóstico de gestación se realizó por ecografía el día 40 postinseminación.

Se consideró como folículo dominante al folículo > 8 mm de diámetro y que inhibía el reclutamiento de una nueva oleada folicular hasta la aplicación del tratamiento o el retiro del implante. Recambio folicular se consideró cuando el folículo dominante disminuyó de tamaño y fue alcanzado en diámetro y sustituido como dominante por otro folículo. El diámetro del folículo ovulatorio se estimó midiendo el diámetro máximo del folículo dominante al día de la presentación del estro. El índice de crecimiento folicular se estimó como el cambio promedio diario del diámetro del folículo dominante desde que fue visible hasta que alcanzó su tamaño máximo. Se consideró que un folículo estaba en estado de crecimiento si entre el día cero y el día cinco crecía ≤ 0.66 mm/día en promedio, tomando en cuenta que esto significa un crecimiento neto en ese periodo de 3.5 mm, lo cual es superior al posible error en la estimación ecográfica del diámetro (estimado en ± 1 mm). Se consideró un folículo en estado de meseta si el índice de crecimiento fue < 0.66 mm/día.

Análisis estadístico

El porcentaje de concepción y la proporción de vacas que presentaron recambio folicular en respuesta al tratamiento con norgestomet; se compararon mediante una prueba de Ji-cuadrada. El efecto del tratamiento con norgestomet en el tiempo de presentación del estro fue evaluado mediante una prueba de t-Student. El efecto del recambio folicular, de la eCG y de la interacción entre estas variables sobre el tiempo de presentación del estro y en el tamaño folicular, se evaluó a través de análisis de varianza de dos vías [SAS, 1988]. No hubo interacción de la aplicación de la eCG con el recambio folicular ($P > 0.05$) por lo que sólo son presentados los resultados con los efectos principales (Cuadros 2 y 3).

Resultados

En el Cuadro 1, se muestran los resultados de recambio folicular y presentación del estro. El 40 % de las vacas que recibieron el tratamiento agudo con norgestomet tuvieron recambio del folículo dominante, mientras que en el grupo testigo sólo 16 % lo presentó ($P < 0.05$). Al momento del retiro del implante todas las vacas tuvieron un FD y no hubo diferencia en el intervalo entre el retiro del implante y la presentación del estro.



Cuadro 1. Recambio folicular y presentación del estro en vacas sincronizadas con un implante de norgestomet, más 1.8 mg im de norgestomet cuatro días antes de retirar el implante.

Grupos	Vacas con recambio folicular		Vacas en estro		Tiempo de presentación del estro (h)
	n	%	n	%	
Norg	10/25	40 ^a	15/25	60 ^a	41.8 ± 5.0 ^a
Testigo	4/25	16 ^b	20/25	80 ^a	35 ± 2.9 ^a

a, b Diferente literal en la misma columna indica diferencia significativa (P < 0.05).

La respuesta al tratamiento agudo con norgestomet fue afectada por el estado de desarrollo del FD. De las vacas cuyos folículos dominantes se encontraban en la etapa de meseta 66.6% (6/9) presentaron atresia y recambio folicular, mientras que sólo 25% (4/16) de aquellas cuyos folículos estaban en la etapa de crecimiento sufrieron recambio (P < 0.05). El porcentaje de concepción no fue afectado por el recambio folicular, ya que 75% (6/8) de las vacas que presentaron recambio folicular y fueron inseminadas quedaron gestantes, contra 55.5% (15/27) de las que no tuvieron recambio (P > 0.05) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto del recambio folicular en el tiempo de presentación del estro y en el porcentaje de concepción siguiente a la inseminación en el estro sincronizado.

Grupos*	n	Tiempo de presentación del estro (h)	Varianza	Porcentaje de concepción
Con recambio	8	46.8 ± 8.1 ^a	529.9 ^b	55.5 ^a
Sin recambio	27	35.3 ± 2.5 ^a	174.4 ^a	75 ^a

a, b Literales distintas en la misma columna indican diferencia significativa (P < 0.05).

Los resultados se presentan como media ± error estándar.

*Las vacas se agruparon de acuerdo a la presentación o no de recambio folicular independientemente del grupo original al que pertenecieron (tratamiento agudo con norgestomet o testigo).

En el Cuadro 3 se presentan los resultados referentes al efecto de la eCG. El porcentaje de vacas en estro, el tiempo de presentación del estro y el porcentaje de concepción fueron similares entre las vacas que recibieron eCG y las testigo (P > 0.05).



Cuadro 3. Efecto de la eCG en la presentación del estro, índice de crecimiento del foliculo dominante (IC), desde la aplicación de la eCG a la presentación de estro, diámetro del foliculo ovulatorio (DFO), en vacas sincronizadas con un implante de norgestomet.

Grupos	Vacas en estro n (%)	IC (mm/día)	DFO (mm)	Tiempo de presentación del estro (h)	Porcentaje de concepción
eCG	17/23 73.9	1.73 ± 0.27	17.05 ± 0.8	36.47 ± 4.4	52.9
Sin eCG	18/27 66.6	1.63 ± 0.20	16.44 ± 0.4	39.37 ± 3.1	66.6

No se encontró diferencia significativa entre grupos ($P > 0.05$).
Los resultados se presentan como media ± error estándar.

Discusión

El presente estudio confirma que el tratamiento agudo con norgestomet induce recambio folicular en vacas sincronizadas con progestágenos. Sin embargo, demuestra que la respuesta al tratamiento es dependiente del estadio de desarrollo del FD presente al momento del tratamiento. La aplicación de 1.8 mg de norgestomet cinco días después de la inserción del implante provocó el recambio del foliculo dominante en 40% de las vacas. Estos resultados son consistentes con los encontrados por Mata *et al.* [2001], quienes al aplicar 3 mg de norgestomet IM causaron atresia al 75% de los foliculos dominantes. También coinciden con lo obtenido por Savio *et al.* [1993] y Fike *et al.* [1997], quienes provocaron 100% de atresia y recambio folicular al insertar adicionalmente 1 y 3 implantes de 6 mg de norgestomet. No obstante que el tratamiento provocó recambio del FD, este ocurrió en una menor proporción que en los estudios citados anteriormente. La diferencia entre el presente estudio y los anteriores, posiblemente obedece al estado de desarrollo del FD al momento del tratamiento. En el presente trabajo se evaluó un protocolo de manipulación folicular con vacas que no tuvieron una sincronización de la oleada folicular al inicio del estudio, ya que se incluyeron vacas en diferentes etapas del ciclo estral. En contraste, los estudios anteriores evaluaron el efecto del norgestomet en vacas que tenían sincronizada una oleada folicular.

El presente estudio mostró que el grado de desarrollo folicular afectó la respuesta al tratamiento agudo con norgestomet. Así, la inyección de norgestomet a animales con foliculos que estaban en la etapa de meseta causó la atresia y posterior recambio del foliculo en 66% de los casos en comparación con 25% de los foliculos que estaban en la etapa de crecimiento. Resultados similares fueron observados por Cavalieri *et al.* [1998b]; ellos encontraron que la inserción adicional de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR-B) provocó la atresia de los foliculos dominantes en 90.5% de los casos cuando los foliculos estaban en la etapa de meseta, y tan sólo de 14.1%, cuando estaban en la etapa de crecimiento.

Aunque en este estudio no se determinaron las concentraciones de LH, la atresia de los foliculos dominantes debió estar relacionada con una modificación en la frecuencia de secreción de esta hormona, ya que en otros estudios la sustitución del implante que contiene 6 mg de norgestomet —el día cinco— por uno nuevo fue suficiente para suprimir la pulsatilidad de la LH y provocar el recambio folicular [Sánchez *et al.*, 1995]. Resulta interesante el hecho de que la supresión de la frecuencia de los pulsos de LH, afectó más a los foliculos



que se encontraban en la etapa de meseta, que a los que estaban en la etapa de crecimiento. Esta diferencia en susceptibilidad puede estar relacionada con el grado de dependencia del folículo a la LH. Se conoce que durante la etapa de crecimiento, los folículos son menos dependientes de la LH, mientras que en la etapa de meseta son altamente dependientes de esta hormona [Gong *et al.*, 1996].

El número de vacas en estro después del tratamiento y el tiempo de presentación del mismo, se encuentran dentro de lo observado en estudios previos [Fike *et al.*, 1997; Mata *et al.*, 2001]. Además, no se encontró diferencia de estas variables entre el grupo Norg y testigo ni entre las vacas que mostraron recambio folicular y las que no lo hicieron. Sin embargo, el tiempo de presentación del estro fue más compacto en las vacas que no recambiaron. La ovulación de folículos persistentes se ha asociado con la presentación temprana del estro, debido a que estos folículos no necesitan mayor tiempo para completar su maduración [Austin *et al.*, 1999]. Esta información es consistente con la menor dispersión del estro observada en las vacas que no mostraron recambio folicular, lo cual puede deberse a un estado homogéneo de los folículos dominantes al momento de retirar el implante.

El porcentaje de concepción fue similar entre las vacas que mostraron o no, recambio folicular. Estos resultados contrastan con estudios previos, en los cuales se ha observado una disminución significativa del porcentaje de concepción en las vacas que ovulan folículos dominantes persistentes [Anderson y Day, 1994; Smith y Stevenson, 1995; Austin *et al.*, 1999]. Aunque el número de vacas por grupo impiden concluir acerca de este efecto, el modelo utilizado pudo no haber ocasionado periodos extremos de persistencia folicular que afectaran la fertilidad. Aunque en el día cinco todas las vacas del grupo testigo tuvieron un folículo dominante, estos folículos tenían diferentes periodos de dominancia en ese momento debido a que al insertar el implante no estaba sincronizado su ciclo estral.

El tratamiento con eCG no mostró efecto en la proporción de vacas en estro ni en su tiempo de presentación; tampoco se observó efecto en las características de los folículos. Así, tanto el índice de crecimiento como el diámetro del folículo ovulatorio fueron similares entre grupos a las 48 h posteriores al retiro del implante. Estas observaciones contrastan con los conceptos que justifican la administración de eCG en los protocolos de sincronización de estros, en los cuales se sugiere que esta hormona mejora la respuesta a través del efecto en el desarrollo folicular [Kastelic *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 2000]. Al inicio del estudio 44% de las vacas tuvieron concentraciones mayores a 1 ng/ml de progesterona (datos no presentados), lo que indica que una alta proporción de ellas estaban ciclando, ya que en una población de hembras ciclando, entre 50% y 60% de ellas, tienen un cuerpo lúteo funcional. Cabe señalar que los tratamientos con progestágenos combinados con eCG, se han utilizado más para inducir actividad ovárica en vacas en anestro que para mejorar la respuesta en programas de sincronización de estros [Ramírez *et al.*, 2000], por lo que los resultados del presente estudio corresponden a protocolos de sincronización de estros. Por otra parte, el realizar el destete temporal por 72 h tanto en el grupo que recibió eCG como en el testigo, no permite hacer una correcta evaluación del efecto de esta hormona, ya que el destete temporal por sí mismo puede influir en el control neuroendocrino de la función ovárica [Yavas y Walton, 2000].



Conclusiones

La administración intramuscular de norgestomet durante la sincronización del estro con progestágenos provoca atresia y recambio folicular. Sin embargo, este efecto depende de la etapa de desarrollo del folículo dominante al momento del tratamiento.

Agradecimientos

Se agradece al laboratorio Intervet-México la donación de los productos hormonales.

Literatura citada

- Anderson, L.H. and Day, M.L. 1994. Acute progesterone administration regresses persistent dominant follicle and improves fertility of cattle in which estrus was synchronized with melengestrol acetate. *J. Anim. Sci.* 72:2955-2961.
- Austin, E.J.; Mihm, M.; Ryan, M.P.; Williams, D.H. and Roche, J.F. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77:2219-2226.
- Cavaleri, J.; Coleman, C.; Kinder, J.E. and Fitzpatrick, L.A. 1998a. Comparison of three methods of acute administration of progesterone on ovarian follicular development and the timing and synchrony of ovulation in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*. 49:1331-1343.
- Cavaleri, J.; Kinder, J.E. and Fitzpatrick, L.A. 1998b. Effect of acute treatment with progesterone on the timing and synchrony of ovulation in *Bos indicus* heifers treated with a norgestomet implant for 17 days. *J. Reprod. Fertile.* 112:249-258.
- Fike, K.E.; Wehrman, M.E.; Bergfeld, E.G.; Kojima, F.N. and Kinder, J.E. 1997. Prolonged increased concentrations of 17beta-estradiol associated with development of persistent ovarian follicles do not influence conception rates in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 75:1363-1367.
- García, F.E.; Cordero, M.J.L.; Hizarza, E.A.; Peralta, O.J.G.; Ortega, C.M.E.; Cárdenas, M.; Gutiérrez, C.G. and Sánchez, T.E.M.T. 2004. Induction of a new follicular wave in Holstein heifers synchronized with norgestomet. *Anim. Reprod. Sci.* 80:47-57.
- Gong, J.G.; Campbell, B.K.; Bramley, T.A.; Gutiérrez, C.G.; Peters, A.R. and Webb, R. 1996. Suppression in the secretion of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol. Reprod.* 55:68-74.
- Kastelic, J.P.; Olson, W.O.; Martínez, M.; Cook, R.B. and Mapletoft, R.J. 1999. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. *Can. Vet. J.* 40:173-178.
- Kerr, D.R.; McGowan, M.R.; Carroll, C.L. and Baldock, F.C. 1991. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in northern Australia. *Theriogenology*. 36:129-141.
- Mata, C. A.; Hernández, C. J. y González, P. E. 2001. Efecto del norgestomet inyectado sobre el folículo dominante persistente y la formación del cuerpo lúteo en vacas sincronizadas con implantes de norgestomet. *Vet. Mex.* 32:19-25.
- McDowell, C.M.; Anderson, L.H.; Kinder, J.E. and Day, M.L. 1998. Duration of treatment with progesterone and regression of persistent ovarian follicles in cattle. *J. Anim. Sci.* 76:850-855.
- Ramírez, G. J.; Rodríguez, A. F.; Espinoza, C. O. y Valdés, S. R. 2000. Uso de la PMSG o PGF₂α al retirar el implante del SMB en vacas productoras de carne. *Agrociencia*, 34:423-428.
- Revah, I. and Butler, W.R. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fert.* 106:39-47.
- Sánchez, T.; Wehrman, M.E.; Kojima, F.N.; Cupp, A.S.; Bergfeld, E.G.; Peters, K.E.; Mariscal, V.; Kittok, R.J. and Kinder, J.E. 1995. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17β-estradiol in heifers. *Biol. Reprod.* 52:464-269.
- SAS Institute Inc. Statistical analysis system. SAS/STAT™ user's guide. 1988. Release 6.03. Cary, (NC): SAS Institute Inc.
- Savio, J.D.; Thatcher, W.W.; Morris, G.R.; Entwistle, K.; Drost, M. and Mattiacci, M. R. 1993. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J. Reprod. Fertile.* 98:77-84.



- Smith, M.W. and Stevenson, J.S. 1995. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates dairy cattle treated with prostaglandin $F_2\alpha$ and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.* 73:3743-3751.
- Yavas, Y. and Walton, J.S. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*. 54:25-55.

Recibido: Enero 25, 2005.

Aceptado: Febrero 21, 2005.



Efecto del hongo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* sobre el control del gusano cogollero del maíz en campo•

Effect of entomopathogen fungus *Metarhizium anisopliae* on the control of the cogollero corn worm in the field

Lezama, R.;^{1*} Molina, J.;¹ López, M.;¹ Pescador, A.;² Galindo, E.;³ Ángel, C. A.³ y Michel, A. C.⁴

¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima. Apartado Postal No. 36, Tecomán, Colima (C. P. 28100), México. jmolina@ucol.mx

* Correspondencia: rlezama@ucol.mx

²Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario. Apartado Postal No. 36, Tecomán, Colima (C. P. 28100), México. apescado@yahoo.com

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Colima. Apartado Postal No. 36, Tecomán, Colima (C. P. 28100), México. evelasco@ucol.mx

⁴Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO). Av. Guerrero No. 81, 1^{er} piso, Iguala, Guerrero (C. P. 40000), México. amichelaceves@yahoo.com.mx

• Nota técnica

Resumen

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* [J. E. Smith] es una de las principales plagas del cultivo de maíz, que año con año se presenta afectando los cultivos de maíz de la región. Se evaluó la efectividad de *Metarhizium anisopliae*, en el control de larvas de *S. frugiperda*, bajo condiciones de campo a la dosis de 1×10^{12} conidios por hectárea. También se evaluó el insecticida Triclorfón (800 g de ia por ha), la mezcla del hongo y la mitad de la dosis de insecticida y agua corriente. Con el insecticida se presentó un valor de índice de daño medio de 5.5; con la mezcla, 7.2; con el hongo 16.3 y en el testigo, 32. Todos los tratamientos fueron diferentes al testigo.

Palabras clave

Spodoptera frugiperda, Triclorfón, insecticida, Colima, índice de daño.

Abstract

The effectiveness of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* on the control of *Spodoptera frugiperda* larvae at the dose of 1×10^{12} conidia per ha was evaluated under field conditions. The insecticide Triclorfon (800 g ia/ha), the mixture of the fungus and the insecticide, and water as control were also evaluated. Index damage showed in insecticide treatment was of 5.5, with mixture of fungus and insecticide, 7.2; with the fungus alone 16.3 and 32 in the control. Non statistical differences was observed between treatments with exception of the check.

Key words

Spodoptera frugiperda, Triclorfon, insecticide, Colima, index damage.



El gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* [J. E. Smith] (Lepidoptera: Noctuidae), es una de las principales plagas del maíz, sorgo y pastos; ataca alrededor de 60 especies de plantas [Andrews, 1988]. En México, el maíz es el cereal base de la alimentación del país y esta plaga afecta económicamente más al rendimiento; si la planta es atacada cuando tiene entre 40 y 60 cm de altura y una edad menor a los 29 días [Banda *et al.*, 1981]. Su control con base de insecticidas químicos ha ocasionado que esta especie adquiera resistencia, se eliminen a sus enemigos naturales y afecte el medio ambiente [Yu, 1991; Pimentel, 1995].

El control biológico con base de microorganismos entomopatógenos es considerado como una alternativa en Programas de Manejo Integrado [Gardner *et al.*, 1984]. El hongo entomopatógeno *Etarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, tiene distribución cosmopolita y presenta más de 200 especies de insectos hospederos; dentro de ellos, *S. frugiperda* [Maniania y Fargues, 1984].

Estudios de laboratorio han demostrado que *S. frugiperda* es susceptible al hongo *M. anisopliae* en los estados biológicos de huevo y larva, con porcentajes de mortalidad del 100% y valores de TL_{50} de 2.5 a 2.9 días en huevo y 1.3 a 3.1 días en larvas, a la concentración de 1×10^8 conidias por ml [Lezama-Gutiérrez *et al.*, 1996]. Sin embargo, no se tienen antecedentes de evaluaciones de este hongo bajo condiciones de campo. En este estudio se reportan los resultados de la efectividad del hongo *M. anisopliae*, aplicado solo o en combinación con el insecticida Triclorfón a la mitad de la dosis comercial recomendada por la casa comercial.

El trabajo se realizó en una parcela establecida con maíz, perteneciente a la Unidad de Producción Agrícola del Centro de Bachillerato Tecnológico y Agropecuario 148, ubicado en el municipio de Comala, Colima, México, a los 103° 45' longitud oeste y a los 19° 18' latitud norte, con 600 msnm, temperatura media anual de 22° C y 1,000 a 1,200 mm de precipitación y suelo tipo "Feozen". De la estación meteorológica del CBTA 148, está ubicada a 100 m de la parcela experimental. La temperatura media, máxima y mínima que se presentó fue de 21.9, 32.6 y 19.6° C, respectivamente. La variedad utilizada fue la T-47, cultivada de acuerdo a las recomendaciones técnicas sugeridas por la SARH (hoy SAGARPA) para la zona [Villagómez *et al.*, 1986]. La siembra se realizó el 5 de julio de 1991.

El hongo *M. anisopliae* cepa Ma 3, utilizado en esta investigación es una formulación comercial de E. U. A., el cual fue donado a la colección de hongos entomopatógenos en 1988, por la Dra. Raquel Alatorre Rosas, del departamento de Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados de Montecillo, estado de México. El hongo es mantenido en aceite mineral bajo condiciones de laboratorio y multiplicado, cuando es utilizado, en "Sabouraud dextrosa agar", con 1% de extracto de levadura y 500 ppm de cloranfenicol [Moorehouse *et al.*, 1993], incubando a 25°C y 70% de humedad relativa por tres semanas [Barson *et al.*, 1994].

Para la multiplicación masiva del hongo se utilizó grano entero de arroz, mismo que se humedeció y esterilizó en bolsas de plástico de alta densidad. El arroz de la variedad "Milagro Filipino" fue primeramente lavado dos veces en agua corriente y remojado por 40 minutos en una solución de cloranfenicol, a la concentración de 500 ppm; pasado ese tiempo se colocó en las bolsas de plástico en cantidades de 200 g y se esterilizó por 15 minutos a 121°C y 15 p.s.i. Una vez esterilizado el arroz y ya frío, se inoculó con 1 ml de una suspensión de conidias del hongo de 21 días de edad a la concentración de 1×10^6 conidias por ml, utilizando



una jeringa hipodérmica y el orificio fue sellado con cinta adhesiva. Una vez inoculado el arroz, las bolsas se incubaron a 25°C con 12 horas luz-oscuridad durante tres semanas [Lezama-Gutiérrez *et al.*, 1997].

Para preparar la suspensión de conidias por aplicar en campo, a cada bolsa con arroz y el hongo esporulado se le agregó 300 ml de agua destilada; se agitaron manualmente por 15 minutos y la suspensión de conidias fue pasada por un tamiz de 325 mallas, para separar los granos de arroz y la conidias. La suspensión de conidias así obtenidas se ajustó a la concentración de 1×10^8 conidias por ml con el apoyo de una cámara de Neubauer, misma que fue utilizada para su aplicación en campo, junto con Tween 30, a la concentración de 0.1%, para romper la tensión superficial de la hoja.

El experimento se estableció bajo el diseño estadístico de bloques al azar con 4 tratamientos y 5 repeticiones; cada unidad experimental estuvo formada por 4 surcos de 10 m de longitud y 76 cm de separación; como parcela útil se consideraron los dos surcos centrales, eliminando un metro de orilla por cada extremo.

El primer tratamiento fue la aplicación del hongo *M. anisopliae* a la dosis de 1×10^{12} conidios por hectárea; el segundo, la aplicación del insecticida Triclorfón a la dosis comercial recomendada (800 g de ia por ha); el tercer tratamiento se formó con la mezcla del hongo a la concentración arriba citada y la mitad de la dosis de insecticida; el cuarto tratamiento consistió en aplicar agua corriente [Villagómez, 1986].

En total se efectuaron dos aplicaciones de los tratamientos: la primera a los 11 días de edad de las plantas (cuando se encontró con la presencia de las primeras larvas en las plantas y la segunda, ocho días después de la primera aplicación. Ésta se efectuó mediante una mochila manual, con un gasto de 200 litros por hectárea. La variable que se consideró fue el índice de daño de la plaga ($ID = \% \text{ Infestación} \times \% \text{ daño} / 100$). La toma de datos se realizó justo antes de la aplicación de los tratamientos y después, cada ocho días hasta la floración de la planta, contabilizando el porcentaje de plantas con larvas por planta, así como el por ciento de plantas dañadas. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de separación de medias por Tukey 0.05, utilizando el paquete estadístico SAS [SAS, 1985].

En el tratamiento testigo, a los 11 días de edad de la planta, se presentó un valor de índice de 41 y subió a 54.1 ocho días después; posteriormente, ese valor bajó hasta 13.6, a los 32 días de edad de la planta, para luego aumentar progresivamente hasta alcanzar 25.7, a los 46 días de edad de la planta. En todo el periodo de estudio se encontró un promedio de 32.11. En el tratamiento formado por la aplicación del hongo *M. anisopliae* se presentó un aumento del valor de índice de daño de 10.9 a 30.7, de los 11 a los 18 días de edad de la planta, pero luego se observó una disminución gradual hasta los 32 días de edad de la planta, para alcanzar el valor mínimo de 5.8; posteriormente, también se presentó una tendencia a la alza en los siguientes 15 días, hasta llegar al 19.6. El índice de daño promedio con este tratamiento fue 16.8, valor que representa un 50% menos que en el testigo (Cuadro 1).



Cuadro 1. Valores de índice de daño del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, bajo el efecto del tratamiento químico y la aplicación del hongo *M. anisopliae*, solo o mezclado con la mitad de la dosis de insecticida Triclorfón.

Tratamientos	EDAD DE LA PLANTA EN DÍAS						Media
	11	18	25	32	39	46	
Testigo	41.0	54.1	37.3	13.6	21.0	25.7	32.11 a
<i>M. anisopliae</i>	10.9	30.7	13.9	5.8	15.6	19.6	16.08 b
Triclorfón	8.7	1.1	0.82	1.1	6.2	15.0	5.48 b
<i>M. anisopliae</i> + Triclorfón	6.7	18.3	1.2	1.5	4.9	10.0	7.1 b

a, b diferente literal en columna indica diferencia estadística ($P < 0.05$). Prueba de Turkey.

Con el tratamiento formado por la aplicación de la mezcla formado por el hongo + la mitad de la dosis del insecticida Triclorfón, también se presentó un incremento en los valores de índice de daño de 6.7 a 18.3, en los primeros 8 días de arrancados los experimentos; posteriormente, tuvo valores menores de 5 los siguientes 24 días y aumentó a 10 al final del estudio, con un promedio final de 7.1. El tratamiento formado por el insecticida Triclorfón a la dosis recomendada presentó valores comprendidos entre 0.8 y 15, con un promedio de 5.48. El análisis de varianza indicó diferencias entre los tratamientos ($F_{cal} = 15.8$; $P > F = 0.0001$) y la prueba de separación de medias dividió a los tratamientos formados por el hongo, insecticida y la mezcla hongo + insecticida, como iguales y con los valores de índice de daño más bajos que el testigo (Cuadro 1).

Se pudo constatar que esta plaga inicia su ataque y presencia en el cultivo, justo después de la emergencia de las plantas de maíz y a los 11 días después de que ha brotado la planta; los niveles de infestación, de daño e índice de daño superaron el 16%, 39% y 16%, respectivamente, lo que obligó a iniciar con la aplicación de los tratamientos, a los 11 y 18 días de edad de la planta.

Se pudo observar que las larvas de esta plaga aún son susceptibles al insecticida empleado en el estudio, al grado de lograr un índice de daño inferior a 6 y alrededor del 7 si se aplica a la mitad de la dosis, junto con el hongo *M. anisopliae*. Lo que pone de manifiesto que dos aplicaciones de insecticida capaces de mantener a la planta con índice de daño menor a 8, valor establecido como umbral económico de daño [Bo-ttrell, 1979]. La aplicación individual del hongo *M. anisopliae* logró una reducción del índice de daño a 16, pero bajó el valor hasta 5.8 a los 32 días de edad. No obstante lo anterior, dos aplicaciones no fueron suficientes para lograr valores de índice de daño inferiores a 8 en ese tratamiento, lo que sugiere la aplicación repetida durante tres o más veces del hongo, para lograrlo; o bien, mezclar el hongo con dosis reducidas de insecticida para lograr estos valores y reducir así, la cantidad de plaguicida liberando el campo en un 50%; con esto se alcanzarían los mismos resultados que la aplicación de insecticidas químicos.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al personal técnico y directivo de la Unidad de Producción Agrícola del Centro de Bachillerato Tecnológico y Agropecuario 148, ubicado en el municipio de Comala, Colima, México, por las facilidades brindadas para poder llevar a cabo la presente investigación en sus instalaciones.



Literatura citada

- Andrews, K. L. 1988. Latin American research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida entomologist*. 71: 630-653.
- Banda, T. J. F.; Enkerlin, S. D.; De Alba, F. G. y Garza, B. L. E. 1981. Importancia económica de *Heliothis zea* (Boddie) y determinación del umbral económico, distribución matemática y muestreo secuencial de *Spodoptera frugiperda* [J. E. Smith] en maíz criollo. *Fitófilo* 85: 101-118.
- Barson, G.; Renn, N. and Bywater, A. F. 1994. Laboratory evaluation of six species of entomopathogenic fungi for the control of the house fly (*Musca domestica* L.), a pest of intensive animal units. *Journal Invertebrate Pathology*. 64: 107-113.
- Bottrell, D. G. 1979. Guidelines for integrated control of maize pests. FAO. Plant production and protection, FAO. 18 p.
- Gardner, A. W.; Noblet, R. and Schwer, R. D. 1984. The potential of microbial agents in managing populations of the fall armyworm (Lepidoptera: noctuidae). *Florida Entomologist*. 67: 326-332.
- Lezama-Gutiérrez, R.; Alatorre-Rosas, R.; Bojalil-Jaber, L. F.; Molina-Ochoa, J.; Arenas-Vargas, M.; González-Ramírez, M. y Rebolledo-Domínguez, O. 1996. Virulence of five entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) eggs and neonate larvae. *Vedalia*. 3: 35-39.
- Lezama-Gutiérrez, R.; Molina-Ochoa, J.; Rebolledo-Domínguez, O.; Trujillo-De La Luz, A.; González-Ramírez, M. y Briceño-Robles, S. 1997. Evaluation of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) against *Anthonomus fulvipes* (Coleoptera: Curculionidae) in organically grown barbados cherry trees. *Vedalia*. 4: 25-29.
- Maniania, N. K. y Fargues, J. 1984. Specificité des hyphomycetes entomopathogenes pour les larves de lepidopteres Noctuidae. *Entomophaga*. 26: 451-464.
- Moorhouse, E. R.; Gillespie, A. T. y Charney, A. K. 1993. Selection of virulent and persistent *Metarhizium anisopliae* isolates to control black vine weevil (*Otiorynchus sulcatus*) larvae on glasshouse begonia. *Journal Invertebrate Pathology*. 62: 67-72.
- Pimentel, D. 1995. Amount of pesticide reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. 8: 17-29.
- SAS, 1985. Institute Inc. SAS User's Guide, version 5 Edition. Cary, North Carolina, U.S.A.
- Villagómez, A. J.; Morfín, V. A.; Vázquez, J. L. y Vizcaíno, G. A. 1986. Guía para producir maíz de temporal en el estado de Colima. Folleto de divulgación número 9, SARH-INIFAP, Tecmán, Colima, México. 14 p.
- Yu, S. J. 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* [J. E. Smith]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 39: 84-91.

Recibido: Noviembre 12, 2003.

Aceptado: Octubre 15, 2004.



Evaluación de un sistema experimental de acuaponia•

Evaluation of an experimental aquaponic system

García-Ulloa, M.;^{*} León, C.; Hernández, F. y Chávez, R.

Laboratorio de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Guadalajara, A. P. 3, Barra de Navidad, Jalisco, (C. P. 48987), México. Tel/fax: (315) 35 55130.

*Correspondencia: turbotuag@hotmail.com

• Nota técnica

Resumen

Se evaluó un sistema experimental de acuaponia, incorporando la producción de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) y pepino (*Cucumis sativus*) durante 75 días. Los peces (90 g de peso promedio inicial) se mantuvieron en un tanque de 500 l, a una densidad de 0.6 peces/litro, mientras que 40 plántulas de pepino se sembraron en 2 camas de arena estéril. Las plantas se regaron con agua de desecho de las tilapias, con un sistema de recirculación de agua. Cada semana se registraron las concentraciones de amonía no ionizada, nitritios y nitratos. Al final del cultivo, los peces crecieron 25 g, en promedio, y se produjeron casi 5 kg de pepino. Las curvas de compuestos nitrogenados mostraron un flujo de nutrientes para las plantas y aporte de agua sin niveles peligrosos de amonía y nitritos para los peces.

Palabras clave

Cultivo integral, tilapia, pepino, bacterias nitrificantes, acuaponia.

Abstract

An experimental aquaponic system producing tilapia fish (*Oreochromis mossambicus*) and cucumber (*Cucumis sativus*), was evaluated during 75 days. Fish (90 g mean initial weight) were kept in a 500 liters tank adjusting an initial density of 0.6 fish/l, and 40 small cucumber plants were sown in two sterile sand beds. Plants used the waste-water from the fish tank, with a water recirculating system. Weekly, ammonium no-ionized, nitrite and nitrate concentrations were registered. At the end of the experiment, mean fish weight increased 25 g and almost 5 kg of cucumber fruit were produced. Nitrogen compounds showed a normal flow of nutrients for plants and non-dangerous levels for fish.

Key words

Integrating culture, tilapia, cucumber, nitrifying bacteria, aquaponic.

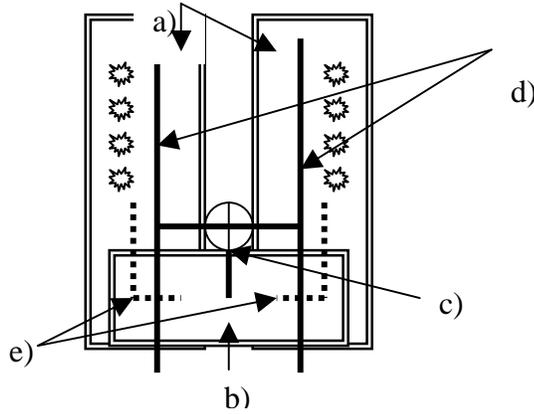


La acuaponía es un sistema de producción de alimentos que incluye la incorporación de dos o más componentes —peces y vegetales o plantas—, en un diseño basado en la recirculación de agua. El principio básico radica en el aprovechamiento de la energía del sistema para utilizar diferentes formas por los componentes comerciales que desean producirse. Sólo una fracción del alimento para los peces —20 a 30%— [Church y Pond, 1982], se metaboliza e incorpora como tejido, mientras que el resto (excreción, alimento no consumido y diluido), se utiliza como nutriente para el crecimiento de las plantas; éstas pueden ser vegetales, frutas o flores [Rakocy, 1989]. Un componente extra que debe encontrarse en el sistema, está constituido por las colonias de bacterias nitrificantes en el sustrato de las plantas para realizar dos funciones: degradar los compuestos nitrogenados en su forma peligrosa para los peces (amoníaco y nitritos), y proveer de nutrientes a las plantas. La acuaponía presenta varias ventajas sobre los sistemas convencionales de producción de alimentos: reduce la cantidad de nitrógeno peligroso en las descargas, reduce la cantidad de agua por su reutilización, reduce los costos de operación por acarreo de agua, produce vegetales con un valor agregado porque pueden ser considerados como “productos orgánicos”, y elimina el uso de químicos como plaguicidas y fertilizantes [Diver, 2000]. Los principales problemas que enfrenta este sistema de producción de alimentos son la extensa área superficial que requiere para su instalación, la necesidad de personal calificado en el mantenimiento de todos los componentes, el control de plagas que debe ser estrictamente biológico, y el poco conocimiento y dominio sobre el tema. Por estas razones, la acuaponía se presta también como una herramienta de carácter didáctico. El objetivo de este trabajo es presentar una de las experiencias en la producción de peces y pepino en un sistema acuapónico a nivel experimental.

Se construyó un prototipo de acuaponía (Fig. 1), con dos canaletas de fibra de vidrio de 400 l de capacidad; éstas fueron llenadas con 15 cm de grava, una malla de mosquitero y una capa de arena cernida de 15 cm de profundidad. Todo el sustrato fue previamente lavado con agua dulce y dejado secar antes de su incorporación en las canaletas. Éstas fueron colocadas en mesas de madera, permitiendo que drenaran por el fondo de una de sus paredes hacia el tanque de los peces. Los peces (juveniles machos de *Oreochromis mossambicus* revertidos sexualmente de 90 gr de peso en promedio), se sembraron en un tanque de fibra de vidrio de 500 l de capacidad a una densidad de 0.6 peces por litro (dos semanas antes), para permitir el flujo de nutrientes en el sistema previo a la siembra de las plántulas de pepino. Al mismo tiempo, el sustrato de arena fue inoculado con bacterias nitrificantes (Biozyme,[®] Glen Burnie, MD, EUA), para iniciar el proceso de nitrificación. Los peces se alimentaron con una dieta comercial con un contenido de 40% de proteína cruda. Se colocó una bomba de uso continuo en el tanque de los peces que enviaba el agua hacia las plantas por medio de una ramal de tubos de PVC de ½ pulgada de diámetro. Las plantas se sembraron a una densidad de 20 por canaleta y fueron regadas por goteo continuo. La concentración de amonio, nitritos y nitratos del agua fue registrada cada semana, mientras que los peces fueron medidos y pesados cada 15 días para ajustar la ración de alimento (5% de la biomasa total por día). El ensayo tuvo una duración de 2 meses y medio. Al final del mismo, se registró el crecimiento de los peces, los niveles de nitrógeno y la producción de pepino total.



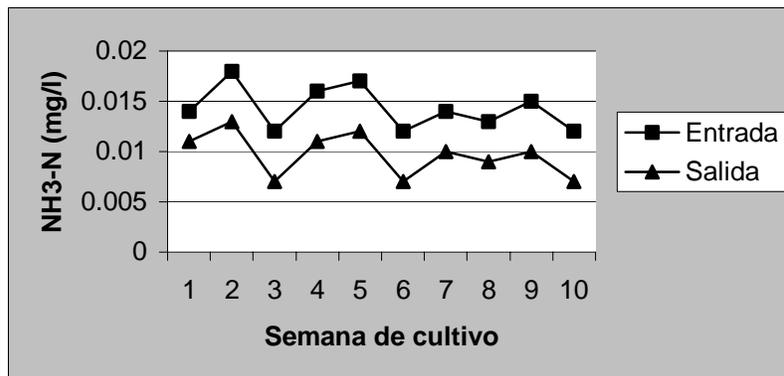
Figura 1. Sistema prototipo de acuaponia. Vista superior de los componentes: a) canaletas para la producción de pepino; b) tanque de cultivo para los peces; c) bomba de uso continuo; d) tubos de PVC para regar las plantas; e) salida de agua hacia el tanque con peces.



Los peces registraron un crecimiento de 3.5 cm en su longitud estándar y 25 gramos en su peso húmedo promedio después de 10 semanas experimentales. Las concentraciones de amonía no ionizada ($\text{NH}_3\text{-N}$) en la salida de las canaletas de los vegetales, rebasaron ligeramente la concentración estándar límite para peces de 0.0125 mg/l [Timmons *et al.*, 2002]; lo cual indica la tolerancia de la tilapia a este compuesto nitrogenado (Fig. 2). Aunque se obtuvo una sobrevivencia de 100% al final del ensayo, el efecto de los niveles de $\text{NH}_3\text{-N}$ obtenidos, pudiera explicar su pobre crecimiento [Van Gorder, 1991]. Los nitritos y nitratos mostraron siempre una concentración menor a la recomendada para la mayoría de las especies acuáticas de < 1.0 mg/l y 400 mg/l, respectivamente. La producción de pepino de talla comercial (> de 80 g de peso) fue de 4.5 kilos después de 10 semanas de cultivo, aunque al momento de finalizar con el ensayo, las plantas presentaban todavía mucha floración.

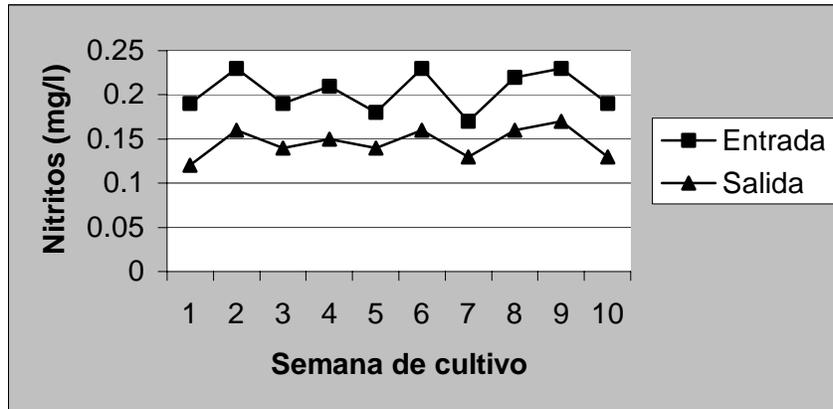
Figura 2. Concentración (mg/l) promedio de: a) amonía no ionizada, ($\text{NH}_3\text{-N}$); b) nitritos, (NO_2); y, c) nitratos, (NO_3) del sistema de acuaponia durante el ensayo experimental. Los datos de entrada y salida corresponden al agua que ingresa y sale de las canaletas con pepinos, respectivamente.

a)

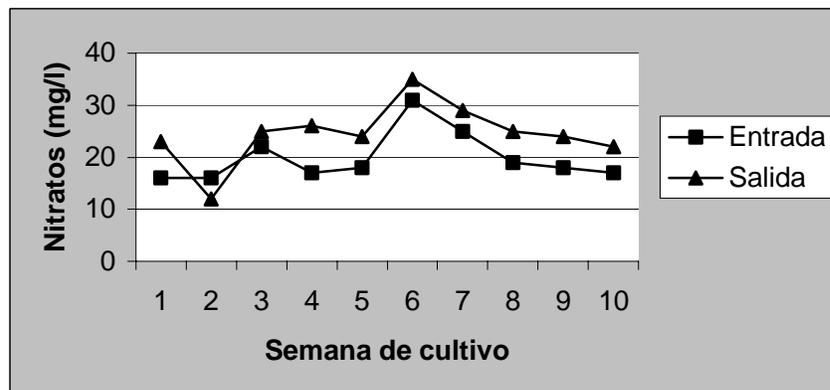




b)



c)



El sistema de acuaponia diseñado en este trabajo fue utilizado como una herramienta didáctica eficiente en el estudio de la dinámica de nutrientes para la producción de peces y pepino. Es recomendable extender el tiempo de cultivo para evaluar el potencial de dicho prototipo para ambos componentes. Por otro lado, es necesario conocer la biología de las plantas seleccionadas para optimizar el aprovechamiento de los nutrientes que se generen en el sistema.

Literatura citada

- Church, D. C. and Pond, W. G. 1982. Basic animal nutrition and feeding. John Wiley and Sons, New York, USA. 351 p.
- Diver, S. 2000. Aquaponics-Integration of Hydroponic with Aquaculture. Horticulture Systems Guide. National Center for Appropriate Technology. Appropriate Technology Transfer for Rural Areas, USA. 37 pp.
- Rakocy, J. E. 1989. Hydroponic lettuce production in a recirculating culture system. Virgin Islands Agricultural Experiment Station, Island Perspectives. 3:4-10.



- Timmons, M. B.; Ebeling, J. M.; Wheaton, F. W.; Summerfelt, S. T. and Vinci, B. J. 2002. *Recirculating Aquaculture Systems*, Northeastern Regional Aquaculture Center, NRAC Publication No. 01-002, Ithaca, NY, USA. Pp.769.
- Van Gorder, S. 1991. *Optimizing production by continuous loading of recirculating systems*. In: *Workshop on Design of High Density Recirculating Systems*. Baton Rouge, LA, USA. Pp. 17-26.

Recibido: Octubre 15, 2004.
Aceptado: Noviembre 25, 2004.



Los árboles en la ganadería del trópico seco•

The role of trees in livestock raising in the dry tropics

Palma, J. M.

CUIDA-Universidad de Colima

palma@cgic.ucol.mx

• Artículo invitado

Resumen

En el presente trabajo se resalta la presencia de árboles en los sistemas ganaderos del estado de Colima, México; lugar en donde las características climáticas predominantes son de trópico seco. Se enfatiza la importancia de la vegetación arbórea nativa, tanto de especies leguminosas como no leguminosas, manejadas ya sea en forma empírica como científica de algunos sistemas silvopastoriles (SSP) presentes en la región. Destacan las características nutricionales tanto del follaje como de los frutos, con la descripción de algunos SSP; entre ellos, el manejo del cocotero en la región costera, los árboles en los potreros, experiencias con el manejo de los bancos de proteína, la utilización de cercas vivas y algunas asociaciones forrajeras. Destaca la diversidad de árboles susceptibles de ser incorporados en el desarrollo de sistemas silvopastoriles, así como la necesidad de generar una cultura para la conservación y multiplicación de estas especies, sobre todo en ambientes en donde la deforestación y la erosión son una amenaza.

Palabras clave

Silvopastoreo, leguminosas, sistemas, bovinos, ovinos, agroforestería.

Abstract

In the present work, the emphasize is put on the incidence of trees in the livestock system in the state of Colima, México; a place where the dominant climatic characteristic is dry tropics. The importance of the native wooded vegetation, either of species that are legume tree as well as not legume tree, managed in an empiric as well as scientific form of some silvopastoral systems (SSP) obtainable in the region. The nutritional characteristics of the foliage as well as the fruit is high-lighted with the description of some SSP, among which are the coconut trees on the coastal regions, the trees in the pasture, experiences in the management of the protein banks, the use of live fences and some associations with forages. Emphasize is put on the diversity of susceptible trees to be incorporated in the development of silvopastoral systems, as well as the need to generate a culture to conserve and increase those species, mostly in threatened environments where there is deforestation and erosion.

Key words

Silvopastoral, legume, systems, livestock, sheep, agroforestry.

Introducción



La ganadería en nuestros países tropicales, con un grado de desarrollo pobre, altamente dependiente en insumos y tecnología, requiere de una base científica acorde con nuestros recursos, idiosincrasia y necesidades.

Dicha ganadería tropical tiene como base alimentaria a los pastos; éstos tienen un potencial extraordinario para la producción de biomasa, pero en forma estacional: presentan menores contenidos de proteína cruda, mayores concentraciones de fracciones fibrosas, menor digestibilidad y menor índice de consumo que los pastos de zonas templadas.

Por otro lado, una gran parte del área muestra daños por el mal uso de los recursos naturales, la existencia de grandes extensiones de tierras deforestadas y abandonadas o sujetas a un nivel de explotación ínfimo; todo ello demuestra lo que en el futuro constituirá la mayor parte del territorio: eriales improductivos, despoblados de la mayoría de los elementos de su flora y fauna original, los cuales habrán perdido la mayor parte del suelo fértil y dejado de cumplir su función reguladora del régimen hídrico [Vázquez-Yanes y Batis, 1996].

Situación que conlleva a la búsqueda de alternativas tecnológicas, con el objetivo de incrementar la producción y/o la productividad, así como el uso de recursos nativos, con la finalidad de disminuir la dependencia de insumos fuera del rancho y cubrir nuestras necesidades tecnológicas. Como alternativa se plantea la utilización de los árboles leguminosos y no leguminosos, por la diversidad de funciones que pueden desempeñar dentro de los sistemas productivos del trópico, con un papel fundamental en la alimentación de rumiantes.

Al respecto, existen una serie de estudios en distintos países de la región tropical, incluyendo Latinoamérica, sobre la utilización de los árboles y los arbustos para los sistemas ganaderos [Botero y Russo, 1998; Febles *et al.*, 1995; Gutteridge, 1990; Ibrahim *et al.*, 2003; Ku *et al.*, 1998; Murgueitio y Calle, 1998; Palma, 1998; Palma y Flores, 1997; Ruiz y Febles, 1999; Shelton, 1991]. En ellos se plantea, en términos globales, reconsiderar la relación de la ganadería bovina con el uso de la tierra, la deforestación, el empleo rural y la biodiversidad, para desarrollar alternativas que permitan la transformación de la ganadería actual en un sistema sostenible, menos incompatible con la diversidad biológica y más apropiada para lograr el bienestar humano.

El presente trabajo pretende mostrar algunos sistemas silvopastoriles desarrollados en el estado de Colima, el cual, mayoritariamente, posee características de trópico seco.

Los sistemas silvopastoriles

Los sistemas silvopastoriles son una modalidad de los sistemas agroforestales, definidos como una forma de cultivo múltiple en la que se cumplen tres condiciones fundamentales: 1) existen, al menos, dos especies de plantas que interactúan biológicamente, 2) al menos uno de los componentes es una leñosa perenne, y 3) al menos uno de los componentes es una planta manejada con fines agrícolas, incluyendo pastos [Somarriba, 1990]. De acuerdo con lo anterior, se formularon los sistemas silvopastoriles, en los que se presentan, además de las especies vegetales, un componente animal, de manera que permita la combinación de la actividad pecuaria con la plantación de árboles forrajeros, maderables, para leña y otros usos [Russo, 1994].

El productor del sector agropecuario puede utilizar los árboles nativos, domesticarlos y combinarlos con su sistema de producción, para así obtener beneficios en el ambiente y el suelo, al mismo tiempo que puede obtener diversos productos gracias a las interacciones de sus componentes biológicos [Simón, 1996].



Los componentes biológicos de un sistema silvopastoril son: árboles y arbustos, pasto, animales, suelo y subsuelo. Las entradas al sistema serían la lluvia, la radiación solar, el bióxido de carbono y el nitrógeno atmosférico; incluyendo así, los insumos agropecuarios como fertilizantes y plaguicidas. Las salidas son los productos cosechados (carne, leche, lana, madera, leña, frutos, miel y otros). Existen también las interacciones o servicios brindados por los árboles y animales, tales como sombra, disminución del viento, reciclaje de nutrientes, disminución de la pérdida de energía y materiales en el sistema [Bustamante y Romero, 1991]. En este tipo de sistemas, principalmente, se busca diversificar la producción agrícola y pecuaria, optimizando el uso del terreno; de esta manera se busca respetar el principio de rendimiento sostenido [Somarriba, 1990].

La riqueza arbórea parte de la biodiversidad tropical

México es un país que, por sus características edáficas, topográficas y climáticas, presenta una riqueza importante en recursos naturales, principalmente por su diversidad en especies vegetales; sin embargo, el uso y aprovechamiento de estas especies es limitado, siendo necesario el estudio sobre el manejo y adecuada utilización de estas especies, las cuales son fuente valiosa de alimento para el ganado y la fauna silvestre, sobre todo durante la época seca.

En el estado de Colima, México, existe una diversidad de especies útiles, gran parte de la superficie se encuentra cubierta por tipos de vegetación, principalmente selvas medianas y bajas caducifolias, cuyos componentes proporcionan grandes beneficios a la economía nacional; todo esto se utiliza como fuente de néctar y polen para la apicultura, forraje para el ganado, frutales de exportación y especies maderables. En este sentido, en Colima se han determinado la presencia de 112 especies; 69 de las cuales tienen un uso alimenticio en la ganadería, 70 señaladas como cerco vivo, 75 empleadas como postes; con utilidad de sombra, 62 especies; de menor incidencia se indicaron aquellas especies con uso medicinal y para obtención de enseres con 20 y 23 especies, respectivamente; por último, 44 fueron señaladas con fines diversos (fuente de leña, de madera, melíferas, uso artesanal, para latas, horcones, fustes, café, puertas y bateas); dentro de este contexto, destaca la riqueza autóctona que permite favorecer los sistemas pecuarios en el trópico, evitando la dependencia tecnológica [Palma y Flores, 1997]. Esta información complementa lo descrito previamente para el estado de Colima por Cervantes [1988], quien indicó un grupo de árboles nativos y, por lo informado por Pérez-Guerrero [1990], quien además, señaló la parte forrajera que consume el ganado y otras funciones posibles de los árboles.

Por otra parte, al analizar el número de especies por frecuencia se obtuvieron una, dos y tres veces, las cuales representaron el 70, 18 y 8% de especies, respectivamente, similares resultados se obtuvieron para el área de Centroamérica [Araya *et al.*, 1994; Flores, 1994; Mendizábal *et al.*, 1994], es decir, fue inversa la relación entre la frecuencia y el número de especies mencionadas. El mayor porcentaje de incidencia fue para la guácima (*Guazuma ulmifolia*) con un 52%, el mojo (*Brosimum alicastrum*) con 48% y la parota (*Enterolobium cyclocarpum*) con 43%, con base en entrevistas realizadas. Asimismo, en el caso del número de funciones que pueden tener las especies arbóreas, se obtuvo para una (18%), dos (14%), tres (28%), cuatro (19%), cinco (12%) y seis usos (8%); aunque hubo un mínimo de especies señaladas con siete y ocho funciones, se observaron pocas especies con un gran número de funciones; sin embargo, el 82% tienen más de una función dentro de las especies encontradas en Colima [Palma y Flores, 1997]. En este sentido, la contribución de Pinto *et al.* [2004], permite enfatizar la riqueza de la vegetación arbórea en el desarrollo de sistemas silvopastoriles en México, al evaluar las especies presentes en el valle central de Chiapas.



Cocotero y ganadería en las zonas costeras

En las planicies costeras del estado de Colima, en los municipios de Tecomán, Armería y Manzanillo, es común encontrar plantaciones de palma (cocotero) o de palma/limón, en cuya asociación crecen pastos nativos o naturalizados como el pasto guinea (*Panicum maximum*), el estrella (*Cynodon plectostachyus*), pará (*Brachiaria mutica*), el insurgentes (*Brachiaria brizantha*), entre otros, así como leguminosas herbáceas nativas. Tal situación es aprovechada por la ganadería en el estado, tanto para la producción de leche/carne de bovino y ovino de pelo.

En este aspecto, se encuentran los resultados de Martínez [1996], en Tecomán, en la engorda de bovinos, quien obtuvo ganancias diarias —por animal— de 649 ± 52 g, con una producción por hectárea de 582 ± 71 kg/ha y con una carga animal de 2.0 ± 0.3 unidades animal/ha, sin fertilización ni complemento alimenticio para el ganado. Se obtuvo de $94 \pm 44\%$ en la relación costo-utilidad en este sistema, en el cual, además del ganado, se obtuvieron ingresos por la venta del limón y del coco.

Por otra parte, en el trabajo realizado por Cervantes [1988] y Choisis [1988], registraron, en los municipios de Armería y Tecomán —en sistemas bovinos de doble propósito, desarrollados en cocotero—, una producción de leche por lactancia de 926 ± 177 kg, con una media por día de 3.08 ± 0.34 kg, y una duración de la lactancia de 304 ± 54 días. Estos resultados reflejan bajos niveles productivos, pero con una mínima inversión y amplias posibilidades de mejorar con prácticas tecnológicas sencillas.

Asimismo, en el manejo de ovinos Pelibuey, recientemente, Macedo y Castellanos [2004], establecen la rentabilidad de la cría de esta especie en 1.35 mediante el uso del sistema silvopastoril cocotero-limón-pasto-ovinos en la zona costera del estado de Colima; con ello se vuelven evidentes las bondades económicas y biológicas de este sistema.

Árboles en potreros

En nuestras condiciones climáticas existen en los agostaderos una serie de especies de potencial forrajero, manejados en forma tradicional y con un valor empírico alto, aunque pobremente evaluados. Ese fenómeno facilita el desarrollo de los sistemas silvopastoriles, agrosilvícolas o agrosilvopastoriles; entre las especies encontradas se pueden señalar los siguientes: ramón o mojo (*Brosimum alicastrum*), cuastecomate (*Crecentia alata*), guácima (*Guazuma umlifolia*), parota (*Enterolobium cyclocarpum*), asmol (*Zizypus mexicana*), guamúchil (*Pithecellobium dulce*), mezquite (*Prosopis juliflora*), higuera (*Ficus padifolia*), brasil (*Haematoxylon brasileto*), panícu (*Cochlospermum vitifolium*), palo dulce (*Eysenhardtia polistachia*), huizache (*Acacia farneciana*), espino blanco (*Acacia acatlensis*); además de haber registrado otras 25 especies arbóreas en el estado de Colima de uso ganadero en alimentación animal [Palma y Flores, 1997].

Por otro lado, se indican los valores químico-nutricionales de algunas especies arbóreas de interés para los sistemas silvopastoriles (Cuadro 1), las cuales, son poco estudiadas y representan un recurso importante, dada la gran disponibilidad y diversidad de los recursos genéticos en la región [Morales *et al.*, 1998; Palma *et al.*, 1992; Palma *et al.*, 1995].



Cuadro 1. Vegetación arbórea de importancia en los sistemas silvopastoriles.

Nombre del pasto	MS (g/100g)	PC (g/100g) Base seca	EM (Mcal) base seca
*Cabello de ángel (<i>Calliandra calothyrsus</i>)	38.22	31.02	2.24
*Cacahual (<i>Gliricidia sepium</i>)	30.16	23.53	2.28
Cuastecomate (<i>Crecentia alata</i>)	33.00	7.88	2.64
*Guaje (<i>Leucaena leucocephala</i>)	35.89	32.23	2.32
**Guácima –hojas– (<i>Guazuma ulmifolia</i>)	32.96	15.91	2.27
**Guácima –fruto– (<i>Guazuma ulmifolia</i>)	94.80	9.10	2.30
**Guamúchil –hoja– (<i>Pithecellobium dulce</i>)	45.32	16.45	2.01
**Guamúchil –fruto– (<i>Pithecellobium dulce</i>)	25.70	9.93	1.57
Huizache –vainas– (<i>Acacia farnesiana</i>)	64.40	22.97	2.72
Mojo –hojas– (<i>Brosimum alicastrum</i>)	84.90	14.46	2.62
Mojo –semillas– (<i>Brosimum alicastrum</i>)	98.00	13.04	2.98
Parota –vaina– (<i>Enterolobium cyclocarpum</i>)	93.45	15.44	2.89

(* Palma *et al.*, 1995. ** Morales *et al.*, 1998; Palma *et al.*, 1992.)

Los bancos de proteína en Colima

Este tipo de producción con árboles considera la siembra de árboles y/o arbustos forrajeros con una alta densidad de plantas; bien pueden ser cosechados por el hombre y llevados a los animales en un sistema de corte/acarreo o pueden ser pastoreados. Al respecto, la especie más utilizada es la *Leucaena leucocephala*, la cual es una buena alternativa cuando las condiciones de suelo y clima la favorezcan [Pérez-Guerrero, 1979; Ruiz y Febles, 1987].

Se pueden resumir dos etapas en la utilización de los bancos de proteína con base de *Leucaena leucocephala* en Colima. Una primer fase, realizada por el FIRA-Colima en el rancho “El Camichín” y en algunas parcelas demostrativas en diferentes lugares del estado con productores cooperantes, entre los años de 1975 a 1980, recogiendo la información en un análisis realizado por Álvarez y Ávalos [1984]. En una segunda etapa, en un programa multi-institucional, encabezado por instituciones locales y con cooperación internacional mediante un convenio de colaboración con instituciones de investigación de Cuba [Instituto de Ciencia Animal (ICA) y la Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey” (EPPF)], para la implementación de esta tecnología [Macedo y Palma, 1996; 1998; Ruiz *et al.*, 1995; Palma *et al.*, 2000].

En la segunda etapa, los resultados indicaron que la inclusión del banco de proteína con base en *Leucaena*, fueron —en su mayoría— favorables. En algunos casos se obtuvo un incremento en la producción de leche, de 1.3 a 2.0 litros por animal, con un efecto positivo en el peso vivo de los animales, comparados con aquellos que recibieron alimentación tradicional. Por otro lado, se observó que la producción de leche no varió al alternarse el uso de forraje de *L. leucocephala* con el manejo tradicional; el consumo promedio de la leguminosa se estimó en 0.970 kg MS/animal/día. En esta estrategia de suplementación, se mantuvo el peso de los animales durante la época seca, sin cambios sustanciales en la producción de leche. Cuando se incluyeron 3 kg MS/vaca/día de forraje de la leguminosa en la dieta, se incrementó de 7.5 a 10 kg/vaca/día la producción de leche, en promedio, manteniendo el peso de los animales. Asimismo, esta estrategia productiva, permitió favorecer la producción y/o la productividad; es de resaltar el beneficio económico con la utilización de los bancos de proteína que tuvo un rango amplio: de 26 hasta un 90% de ganancia bruta sobre la inversión de alimentación, en dependencia de las condiciones alimenticias y productivas empleadas [Macedo y Palma, 1998].



Del mismo modo, Palma *et al.* [2000], realizaron un análisis de un periodo de seis años con el manejo de bancos de proteína, en donde, además de los aspectos productivos, se evaluaron aspectos de tipo económico, social y de formación de recursos humanos en la transferencia de esta tecnología para la región de trópico seco. En este contexto se demostró que una de las causas de mayor influencia en no tener más productores con resultados favorables con este tipo de tecnología, estuvo centrado en el mantenimiento de la *Leucaena* en forma productiva y estable dentro del sistema; este fenómeno se relaciona con la necesidad de desarrollar una cultura que fomente y mantenga la asociación de leguminosas y gramíneas, pues se observó que éstas no son el centro de la atención de los ganaderos, aunque formen parte importante de la cadena productiva de un sistema pecuario (Cuadro 2).

Cuadro 2. Condición de los bancos de proteína que llegaron a la etapa final del proceso de transferencia de tecnología en el estado de Colima.

Número	Población	Condición	Psilido	Interés actual	Potreros	Observaciones
7	Buena	Buena	No	Sí	No	-
10	Buena	Regular	No	No	Sí	Sobrepastoreo
3	Mala	Mala	No	No	No	Sobrepastoreo
4	Buena	Buena	No	Sí	No	-
5	Mala	Mala	No	No	No	Sobrepastoreo
2	Buena	Mala	No	No	No	Sobrepastoreo
6	X	X	X	X	X	Desapareció
9	X	X	X	X	X	Desapareció
1	Buena	Mala	No	No	No	Sobrepastoreo
8	Buena	Buena	No	Sí	Sí	-
Independiente	Buena	Buena	No	Sí	Sí	Sobrepastoreo

(Palma *et al.*, 2000.)

Por otro lado, en el Cuadro 3, se indican algunos valores obtenidos en el pastoreo de *Leucaena leucocephala* con ovinos, considerando la altura inicial óptima entre 60 a 80 centímetros, sin modificación en los valores de proteína cruda para biomasa comestibles (diámetro menor a 4 cm de grosor), al igual que el tiempo de recuperación, pero incrementándose el contenido de fibra detergente neutro con la mayor altura inicial de pastoreo. Al año del estudio, todos los tratamientos rebasaron la altura inicial de pastoreo, pues los animales no controlaron el desarrollo de la arbórea, con lo cual se hace necesaria la poda al año de edad, aunque este fenómeno varió según el nivel utilizado.

Cuadro 3. Efecto de la altura inicial del pastoreo sobre las diferentes variables en estudio.

Variables	Altura inicial de pastoreo (cm)		
	60	80	100
Proteína cruda (%)	24.81±1.18	24.11±1.06	24.31±0.92
Fibra detergente neutro (%)	55.31±1.60 ^b	56.56±1.21 ^{ab}	57.30±0.90 ^a
Tiempo de recuperación (días)	55±9	52±8	54±10

a,b distinta literal en fila significa diferencia estadística (P < 0.05).



(Román, 1997.)

Cuando se empleó *Leucaena leucocephala* para la engorda de corderos, se obtuvieron resultados por arriba de 150 g en todos los tratamientos, los cuales incluyeron niveles de 0, 10 y 20% de esta leguminosa en una dieta integral en estabulación, implicando el consumo de *L. leucocephala* en 10 y 20 g MS por Kg de PV^{0.75}; no presentó ningún efecto de intoxicación. Al respecto, la sustitución proporcionó resultados favorables, los cuales pueden resultar económicamente viables tanto por la ganancia de peso como por el consumo y conversión alimenticia obtenida (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados productivos y económicos en la inclusión de *Leucaena leucocephala* en borregos.

Variable	Nivel de <i>Leucaena leucocephala</i> (%)		
	0	10	20
Peso inicial	16 ± 2.1	15.1 ± 2.5	13.5 ± 2.3
Peso final	30.1 ± 3.2	28.7 ± 2.1	27.8 ± 2.8
Ganancia diaria de peso	157 ± 87	151 ± 90	159 ± 99
Consumo de <i>Leucaena</i>	0	126 ± 40.3	243.5 ± 74.1
Consumo total (kg)/día.	1.257 ± 0.425	1.263 ± 0.400	1.150 ± 0.300
Consumo gMS/kgPV ^{0.75}	105.8 ± 21.5	110.2 ± 20.1	111.3 ± 15.0
Consumo en %	5.2 ± 0.92	5.6 ± 0.85	4.7 ± 0.53
Costo dieta (kg)	\$1.14	\$1.06	\$0.99
Conversión alimenticia	7.5 :1	7.8 :1	9.0:1

(Palma y Huerta, 1999.)

Utilización de cercas vivas

Este tipo de sistema es conocido por los productores, aunque no se difunden aquellas especies que pudieran tener un uso como forraje, con lo cual se produciría una mayor cantidad de forraje por hectárea, optimizando la disponibilidad de forraje en nuestras condiciones, en donde tiende a ser crítico.

Es común observar en los potreros la presencia de cercas vivas; entre las especies observadas se indican las siguientes: el papelillo o cuajote (*Bursera simaruba*), el vainillo (*Sena atomaria*), el ciruelo (*Spondia mombi*), la guácima (*Guazima umlifolia*), el guamúchil (*Pithecellobium dulce*), cuastecomate (*Crecentia alata*), asmol (*Zizypus mexicana*), brasil (*Haematoxylon brasileto*), cacahual (*Gliricidia sepium*), colorín (*Erythrina americana*), entre otras. Para nuestra ganadería este tipo de técnica es más un desarrollo empírico que científico; asimismo, es aleatoria más que sistemática.

En este aspecto, el trabajo del Ing. Jorge Pérez-Guerrero, en el municipio de Comala, es pionero en nuestro estado, al tratar de difundir diferentes especies de *Eritrina*; las especies incluidas en algunos predios ganaderos fueron: *E. berteriana*, *E. poeppigiana*, *E. fusca* y *E. costarricensis*, con material originario de Costa Rica.



Dentro de las especies con potencial para esta práctica en Colima, se encuentra el cacahual (*Gliricidia sepium*), árbol con múltiples funciones en los ranchos; en Colima es una especie que, por su riqueza genética y dispersión natural en el estado, representa una opción interesante de manipular como cerco vivo, fenómeno conocido entre los productores del estado, pero no a escala comercial, ni de manera sistemática. Aunque los intentos por difundir la especie como cerco vivo por medio de programas oficiales son atractivos, los resultados obtenidos son magros; con esta situación se estigmatizó el uso de esta arborea por parte del productor. Sin embargo, los resultados obtenidos por nuestro grupo de trabajo con esta especie en ranchos ganaderos, indicaron que en dependencia del grosor y largo de la estaca, así como de la profundidad y mes de siembra, modificaron el porcentaje de prendimiento, por lo tanto, se demostró que las estacas de 3 a 4 centímetros de grosor, con un metro de largo como mínimo, enterradas en promedio de 20 a 30 cm, tuvieron un 75% de sobrevivencia, siendo mayo el mejor mes de siembra [Palma *et al.*, 1996].

Por otra parte, en forma oficial, en los últimos cinco años, se ha difundido de manera importante a través de las instituciones relacionadas con la reforestación, la especie *Caesalpinia platyloba*, conocida comúnmente como coral, especie que ha contribuido de manera importante al desarrollo de cerco vivo en diferentes potreros del estado; en particular, su éxito se debe a la baja gustocidad por los rumiantes y al reconocimiento de los productores por la especie dado su alto valor como poste [Deniz, 2003].

Asociación de árboles con forrajes

Este sistema considera la combinación múltiple de especies con la presencia de árboles, la asociación de cultivos tanto anuales como perennes pueden ser establecidos con fines ya sea agrícolas o bien, agropecuarios. En la asociación múltiple (Cuadro 5), nuestro grupo ha obtenido los siguientes resultados: sobresale la combinación de ca-canhual (*Gliricidia sepium*) + pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) + glicine (*Neonotonia wightii*) con 44 toneladas de materia fresca al año [Vizcaino *et al.*, 2001]. En este sentido, el trabajo de Valle *et al.* [2004], muestra la combinación con otra gramínea forrajera, como sería el pasto buffel (*Cenchrus ciliaris*) combinado con *Gliricidia sepium*, en donde se mejora la producción de biomasa por incorporar la arborea en el sistema (Cuadro 6).

Cuadro 5. Cultivo en callejones con fines pecuarios.

Tipo de asociación	Rendimiento acumulado (Ton/ha/año)
<i>Gliricidia sepium</i>	7.723
<i>Gliricidia sepium</i> + <i>Cynodon nlemfuensis</i>	25.404
<i>Gliricidia sepium</i> + <i>Cynodon nlemfuensis</i> <i>Sorghum bicolor</i>	29.856
<i>Gliricidia sepium</i> + <i>Cynodon nlemfuensis</i> <i>Neonotonia wightii</i>	44.124

(Vizcaino *et al.*, 1998.)



Cuadro 6. Desarrollo y producción de biomasa de *Cenchrus ciliaris*-*Gliricidia sepium* sembrados en asociación.

Producción de biomasa	Tratamientos			
	I	II	III	EEM
Pasto (t/ha ⁻¹)	2.30 ^b	3.50 ^{ab}	5.20 ^a	0.84
Leguminosa (t/ha ⁻¹)	----	0.05 ^a	0.18 ^b	0.07
Asociación (t/ha ⁻¹)	2.30 ^b	3.55 ^{ab}	5.38 ^a	0.89

(Valle *et al.*, 2004.)

Letras diferentes en filas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos. Prueba de Tukey.

EEM = Error estándar de la media.

I = *Cenchrus ciliaris*

II = *Cenchrus ciliaris* más *Gliricidia sepium* 5,000 plantas ha⁻¹.

III = *Cenchrus ciliaris* más *Gliricidia sepium* 14,285 plantas/ha⁻¹.

A manera de reflexión

- El conocimiento tanto empírico como científico, permite en el presente caso, indicar algunos sistemas silvopastoriles presentes en el estado de Colima.
- Se demuestra la biodiversidad arbórea del estado, la cual representa un potencial para el desarrollo de los sistemas silvopastoriles.
- El conocer nuestros recursos implica una opción para evitar la dependencia tanto de insumos como de tecnología; ambos factores son adversos para los sistemas agropecuarios del trópico.
- Es necesario desarrollar una cultura hacia la conservación y multiplicación de los árboles en los diferentes sistemas agropecuarios, no sólo en Colima, sino también en el país, y en el mundo, en general.
- El compromiso es buscar estrategias para detener la devastación que se realiza, en donde México es uno de los países con mayor índice de deforestación, por lo cual, en nuestra área de influencia es vital el aportar los elementos necesarios para obtener sistemas silvopastoriles, sustentables, productivos y económicamente rentables.

Literatura citada

- Álvarez, F. J. y Ávalos, L. 1984. Utilización de la *Leucaena* como forraje para la alimentación de bovinos en México. FIRA. Boletín Informativo 16(153):1-72.
- Araya, J.; Benavides, J.; Arias, R. y Ruiz, A. 1994. Identificación y caracterización de árboles y arbustos con potencial forrajero en Puriscal, Costa Rica. En árboles y arbustos forrajeros en América Central. Editor: Jorge Evelio Benavides. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Volumen 1, pp. 31-63.
- Botero, R. y Russo, O. 1998. "Utilización de árboles y arbustos fijadores de nitrógeno en sistemas sostenibles de producción animal en suelos ácidos tropicales". Conferencia electrónica FAO sobre agro-forestería para la producción animal en Latinoamérica. Artículo 8, 17 p.
- Bustamante, J. y Romero, F. 1991. Producción ganadera en un contexto agroforestal: Sistemas silvopastoriles. Carta de Rispa; 20:3-11. Costa Rica.



- Cervantes, N. 1988. Fonctionnement del elevages bovins mixtes, en milieu tropical mexicain (etat de Colima). Analyse zootechnique et diversite genetique, perspectives d'amelioration. These doctorat USTL. 242 p.
- Choisis, J. P. 1988. Fonctionnement des elevages bovins mixtes, en milieu tropical mexicain (etat de Colima). These doctorat USTL. 242 p.
- Deniz, A. 2003. Siembra directa, experiencia exitosa en el Estado de Colima. FORESTAL XXI. 6(3): 23-24.
- Febles, G.; Ruiz, T. E. y Simón, L. 1995. Consideraciones acerca de la integración de los sistemas silvo-pastoriles a la ganadería tropical y subtropical. XXX Aniversario Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba, pp. 55-63.
- Flores, O. 1994. Caracterización y evaluación de follajes arbóreos para la alimentación de rumiantes en el departamento de Chiquimula, Guatemala. En árboles y arbustos forrajeros en América Central. Editor: Jorge Evelio Benavides. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Volumen 1, pp. 117-133.
- Gutteridge, R. 1990. Agronomic evaluation of tree and shrubs species in south east Queensland. Tropical Grassland. 24:29-34.
- Ibrahim, M.; t'Mannetje, L. and Ospina, S. 2003. Prospect and problems in the utilization of tropical herbaceous and woody leguminous forages. VI International Symposium on the nutrition of herbivores. Proceedings of an International Symposium held in Mérida, México, 19-24 october 2003, pp. 35-55.
- Ku, J. C.; Ramírez, L.; Jiménez, G.; Alayón, J. y Ramírez, L. 1998. "Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano". Conferencia electrónica FAO sobre agro-forestería para la producción animal en Latinoamérica. Artículo 10, 13 p.
- Macedo, R. y Palma, J. M. 1996. Transferencia de tecnología en aspectos forrajeros para la ganadería del estado de Colima. El caso de los bancos de proteína *Leucaena leucocephala*. IX Reunión de Avances en Investigación Agropecuaria. PICIP-Universidad de Colima. Manzanillo, Colima, México, pp. 105-110.
- Macedo, R. y Palma, J. M. 1998. Evaluación productiva y económica del manejo de bancos de proteína *Leucaena leucocephala* en Colima, México. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 15:460-471.
- Macedo, R. y Castellanos, J. 2004. Rentabilidad de un sistema intensivo de producción ovino en el trópico. Rev. Avances en Investigación Agropecuaria. 8(3):39-50.
- Martínez, F. 1996. Ganadería bajo frutales. Sistema silvopastoril en el rancho "El Destino", Tecomán, Col., México. En pastoreo intensivo en zonas tropicales. 1er. Foro Internacional. FIRA-Banco de México. 7 al 9 de noviembre. Veracruz, México.
- Mendizábal, G.; Marroquín, F.; Ríos, E.; Arias, R. y Benavides, J. 1994. Identificación y caracterización de plantas silvestres utilizadas en la alimentación de rumiantes en el Altiplano Occidental de Guatemala. En árboles y arbustos forrajeros en América Central. Editor: Jorge Evelio Benavides. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Volumen 1, pp. 65-93.
- Morales, A.; Aguirre, M. A. y Palma, J. M. 1998. Estudio químico-nutricional de follaje y fruto de diferentes especies leñosas en condiciones del trópico seco. Memorias del III Taller Internacional Silvopastoril. Los árboles y arbustos en la ganadería. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. 25 al 27 de noviembre de 1998, pp. 41-44.
- Murgueitio, E. y Calle, Z. 1998. Diversidad biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. Conferencia electrónica FAO sobre agro-forestería para la producción animal en Latinoamérica. Artículo 3, 23 p.
- Palma, J. M.; Topete, A. y Galina, M. A. 1992. Tablas del valor nutritivo de los alimentos para bovinos en el trópico seco. V Reunión de Avances en Investigación Agropecuaria. Colima, México, pp. 82-87.
- Palma, J. M.; Delgado, C.; Rodríguez, A. y Aguirre, M. A. 1995. Composición química y digestibilidad de tres leguminosas arbóreas. 1er. Simposium Estatal de Ciencia y Tecnología. U. de Colima. Colima, México, pp. 6.
- Palma, J. M.; Santiago, L. y Palma, A. 1996. Efecto del diámetro de estaca sobre la sobrevivencia en *Gliricidia sepium*. Taller Internacional "Los árboles en los sistemas de producción ganadera". 26-29 noviembre, pp. 24.
- Palma, J. M. y Flores, R. 1997. Aproximación al estudio de la vegetación arbórea del estado de Colima, México. X Reunión de Avances en Investigación Agropecuaria, Trópico '97. Barra de Navidad, Jalisco, pp. 88-90.
- Palma, J. M. 1998. Informe de resultados sobre el proyecto de Programa de Transferencia de Tecnología para la ganadería de doble propósito en el estado de Colima. Fundación PRODUCE. Colima, México.
- Palma, J. M. y Huerta, A. 1999. Engorda de ovinos en confinamiento con diferentes niveles de inclusión de heno de *Leucaena leucocephala*. VI Seminario Internacional sobre sistemas agropecuarios sostenibles. 28 al 30 de octubre de 1999. Cali, Colombia. www.cipav.org.co/redagrofor/memorias99/P-Palma.htm (Consultado el 4 de abril 2005).
- Palma, J. M.; Ruiz, T. y Jordán, H. 2000. Banco de proteína con *Leucaena leucocephala* "Una experiencia de transferencia de tecnología en sistemas silvopastoriles en México". Ed. AgroSystems Editing, Colima, México. 58 pp.
- Pérez-Guerrero, J. 1979. *Leucaena* leguminosa tropical mexicana: usos y potencial. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Investigación y de Enseñanza en Zootecnia, pp. 6-36.



- Pérez-Guerrero, J. 1990. Propuesta para el desarrollo de la ganadería tropical para el estado de Colima. FIRA. Colima, México. Mimeógrafo.
- Pinto, R.; Gómez, H.; Martínez, B.; Hernández, A.; Medina, F.; Ortega, L. y Ramírez, L. 2004. Especies forrajeras utilizadas bajo silvopastoreo en el centro de Chiapas. *Rev. Avances en Investigación Agropecuaria*. 8(2): 53-67.
- Román, L. 1997. Determinación de altura inicial al pastoreo de *Leucaena leucocephala* en un banco de proteína para ovinos. Tesis Maestría. FMVZ-Universidad de Colima. Colima, México. 75 pp.
- Russo, R. 1994. Los Sistemas agrosilvopastoriles en el contexto de la agricultura sostenible. *Agroforestería en las Américas*. Abr-jun: 10-13.
- Ruiz, T. y Febles, G. 1987. *Leucaena*: una opción para la alimentación bovina en el trópico y subtropico. EDICA. Instituto de Ciencia Animal del Ministerio de Educación Superior de La Habana, Cuba. 200 pp.
- Ruiz, T. E.; Jordán, H.; Corbea, L. A.; Valencia, A.; Galina, M. A.; Palma, J. M.; Olea, F.; Fernández, R.; Pérez-Guerrero, J. y Ruiz, J. 1995. Resultado de la introducción de la tecnología de bancos de proteína de *Leucaena* en el estado de Colima, México. Seminario Científico Internacional. XXX Aniversario Instituto de Ciencia Animal. ICA. La Habana, Cuba, pp. 86-89.
- Ruiz, T. E. y Febles, G. 1999. Sistemas silvo-pastoriles. "Conceptos y tecnologías desarrolladas en el Instituto de Ciencia Animal de Cuba". EDICA, La Habana, Cuba. 34 pp.
- Simón, G. 1996. Rol de los árboles y arbustos multipropósitos en las fincas ganaderas. En: *Leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical*. Clavero, T. (Editor). Venezuela. 41-47.
- Shelton, H.; Lowry, J.; Gutteridge, R.; Bray, R. y Wilson, J. 1991. Sustaining productive pastures in the tropics. 7. Tree and shrub leghemes in improved pastures. *Tropical Grassland*. 25:119-128.
- Somarriba, E. 1990. ¿Qué es agroforestería? *El Chasqui*. 24: 3.
- Valle, J. L.; Palma, J. M. y Sanginés, L. 2004. Biomasa y composición nutricional de la asociación *Cenchrus ciliaris-Gliricidia sepium* al establecimiento. *Rev. Avances en Investigación Agropecuaria*. 8(2):79-85.
- Vizcaino, A.; Palma, J. M. y Ruiz, T. 2001. Asociación de *Gliricidia sepium* con gramíneas y leguminosas en el trópico seco de México. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 35(2): 175-181.
- Vázquez-Yanes, C. y Batis, A. I. 1996. La restauración de la vegetación, árboles exóticos contra árboles nativos. *Revista Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM. México*. 43:16-23.



Survival of white shrimp larvae grown in different containers and fed natural or artificial diets

Sobrevivencia de larvas de camarón blanco en diferentes recipientes alimentadas con dietas naturales o artificiales

Meyer-Willerer, A. O.

CEUNIVO, Universidad de Colima, km 20, carretera Manzanillo-Cihuatlán, Manzanillo, Col., México.
ameyer@cgjc.ucol.mx

Abstract

Artificial and natural feeds for shrimp larvae cultures (*Litopenaeus vannamei*) were tested in a series of containers. These were eight flasks with 15L, eight aquaria with 50L and as control group six large fiberglass tanks with 1500L, all with fresh marine filtered water. Initial density in all containers was 70 nauplii/L. Those in flasks and aquaria received either natural feeds, or artificial diets. The control group were fed natural diets and were cultured in large tanks that are normally used in postlarvae hatchery laboratories. The main soluble product excreted by shrimp larvae is the ammonium ion that is toxic, when present in high concentrations. It was determined daily with the indophenol colorimetric method. Results show differences in ammonia concentration and larval survival between the different diets and also between containers. In small water volumes compared to larger ones, the natural products presented higher total ammonia ion concentration present (from 500 to 750 μ g/L) due to this ion added to the algae as fertilizer, needing daily water exchanges after the ninth day of culture to keep this ion under lethal concentration for shrimp larvae. Poor postlarvae survival was achieved (less than 15%) with the artificial fed larvae due to the presence of protozoa feeding on precipitated diet in the bottoms of the flasks or aquaria. Those larvae in aquaria presented also sublethal ammonia ion concentrations at the ninth day, but survival rate with natural feeds was almost four times higher, than with artificial diets. Control tanks with natural feeds presented survival rates ($70 \pm 5\%$) similar those reported in other larvae laboratories.

Key words

Ammonia excretion, life and artificial feeds, culture volumes.

Resumen

Se probaron alimentos artificiales y naturales con larva de camarón (*Litopenaeus vannamei*) cultivados en diferentes recipientes. Estos fueron ocho frascos cónicos con 15L, ocho acuarios con 50L y como grupo control, seis tanques de fibra de vidrio con 1500L; todos con agua marina fresca y filtrada. La densidad inicial en todos los recipientes fue de 70 nauplios/L. Aquellos en frascos y acuarios recibieron ya sea dieta natural o artificial. El grupo control fue cultivado con dieta natural en los tanques grandes que utilizan los laboratorios para la producción masiva de postlarvas. El principal producto de excreción de larva de camarón es el ión amonio, que es tóxico cuando está presente en concentraciones elevadas. Se determinó diariamente con el método colorimétrico del indofenol. Los resultados muestran diferencias en la concentración del ión amonio y en la sobrevivencia de larvas entre las diferentes dietas y también entre los diferentes recipientes. En aquellos con volúmenes pequeños comparados con los grandes, se presentó mayor concentración de amonio



(500 a 750 μ g/L), en aquellos con dietas naturales, debido a que este ión sirve de fertilizante a las algas adicionadas, necesitando efectuar recambios diarios de agua posteriores al noveno día de cultivo para mantener este ión a una concentración subletal. Se obtuvo una baja cosecha de postlarvas (menor a 15%) con el alimento artificial larvario, debido a la presencia de protozoarios, alimentándose con el producto comercial precipitado en el fondo de los frascos o acuarios. Los acuarios con larvas alimentadas con dieta natural también mostraron concentraciones subletales de amonio al noveno día; sin embargo, la sobrevivencia fue cuatro veces mayor que con dietas artificiales. Los tanques control con dietas naturales presentaron tasas de sobrevivencia ($70 \pm 5\%$) similares a la reportada por otros laboratorios.

Palabras clave

Excreción de amonio, dietas vivas y artificiales, volúmenes de cultivo.

Introduction

Shrimp larvae (*Penaeus vannamei*) can feed on natural or artificial diets. Feeds are produced and presented as microencapsulated formulations that can be ingested satisfactorily enhancing growth. Both types of feeding trials present advantages for larvae-producing laboratories, who invest around two weeks to transform the nauplii through metamorphosis to postlarvae. The main advantage using natural diets, is the high survival rate; but on the other hand, producing massive algae in a special laboratory, is a time-consuming job. Utilizing artificial diets is quite simple and saves time, but survival may be under 50%, even under optimal production conditions.

Shrimp postlarvae production in the laboratories has recovered special interest, since the expansive creation of shrimp growout facilities and the dramatic decrease of wild larvae in the natural media. The maturation methods, spawning, hatching and growth of the different larval stages are practiced in the shrimp farms and laboratories showing several differences [Chamberlain and Lawrence, 1981].

Actually, a series of feed formulations are produced with presentations starting with powders and microencapsulated preparations that can be ingested satisfactorily by the nauplii and enhancing growth through all metamorphosis stages until reaching the postlarvae stadium. Several studies have pointed out the effects that produce these synthetic diets to shrimp [Hysmith and Booth, 1972; Jones *et al.*, 1979; 1987], natural diets [Landau and Eifert, 1985; Mendivil and Quijada, 1988] and combinations of both [Kurmaly *et al.*, 1989]. This metamorphosis series last around two weeks depending mainly on water temperature and feed quantity and quality provided during these stages [Galgani and Aquacop, 1988; Abelin *et al.*, 1989].

Natural diets have been substituted by artificial feeds for different reasons. The most important one is related with the time that is needed to cultivate algae in axenic form; also these microalgae have to be small enough to be consumed by the shrimp nauplii. Costs are relatively high, since cultures have to start in sterile tubes and be transplanted into flasks. Later on, they are added to tanks with hundreds of liters of filtered and fertilized seawater, where light might be the growth-limiting factor. These microalgae have to multiply in such form, that they can survive and supply the first metamorphosis stadium of the nauplii. Efforts have been done employing different combinations of microalgae having better results expressed as normal larval growth and their better survival. After the first larval transformation, the mysid and zoea stages have to be fed with live *Artemia franciscana* nauplii. These have to be small enough to be caught by shrimp nauplii. When *Artemia* nauplii feed on microalgae, they seem to be better food for shrimp larvae, but they grow fast and should be only used as food for the last larval shrimp stages.



There are other reasons for using artificial diets for shrimp larval development, mainly simplifying the preparation of dosages to each tank. Also the need of counting microalgae under the light microscope is not necessary. The time-consuming decapsulation of *Artemia* cysts and their counting for estimations of hatching efficiencies are not a requisite [Akiyama *et al.*, 1989].

When bioassays with shrimp nauplii are developed in tanks with thousands of liters capacity or in aquaria with reduced volume as for example with fifty liter, these should have a special shape to guarantee appropriate water circulation. This is not easy, since there will be several parts of the aquarium, where water does not circulate at all. The lack of circulating water in corners of these aquaria or parts of these tanks, promote the precipitation of the artificial feed particles, their accumulation and their decomposition, with negative effects on water quality. Shrimp and *Artemia* as many other crustaceans, excrete ammonia ion as the main dissolved product from protein digestion [Colvin and Brand, 1977; Meyer-Willerer, 1997]. The toxicity of this ion depends on its concentration, water temperature [Alcaraz *et al.*, 1997], pH of the water and dissolved oxygen in water [Alcaraz *et al.*, 1999b]. Other present substances as dissolved nitrite ion, may contribute to the toxic effects [Alcaraz *et al.*, 1999a].

The purpose of the present work was to find out the relation of dissolved ammonia ion concentration that is present in water and how it influences vitality and survival from recently hatched nauplii that metamorphose to postlarvae and that have been fed natural or artificial diets. These feeding trials were performed in containers with different shapes and volumes to demonstrate that they influence on larvae survival.

Materials and methods

Nauplii growing trials were performed in almost optimal conditions as temperature ($29 \pm 0.2^\circ\text{C}$), salinity ($33 \pm 0.1\text{g/l}$), dissolved oxygen ($^3 6\text{mg/l}$) with the aid of air diffusers and in different water volumes until they reached the size of postlarvae. The nauplii of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) proposed by Pérez-Farfante and Kensley [1997], were obtained from the hatchery of our laboratory and were described elsewhere [Álvarez del Castillo *et al.*, 1990], observing diet preparations for broodstock [Meyer-Willerer and Parra-Covarrubias; 1996, 1997]. These were selected as light-active nauplii from buoyant eggs [Ogle *et al.*, 1988], that were laid by selected and ablated females [Bray *et al.*, 1990], and fertilized by males in round tanks under controlled conditions [Aquacop, 1979].

A series of experiments were carried out simultaneously varying water volume, container shape or diets and determining the total dissolved ammonia present in the water during larval development. The containers were eight conical flasks filled with 15 liters, eight median aquaria (60cm (l) x 40cm (w) x 50cm(h) with 50 l of fresh marine water and six large conical tanks with 1500 l of fresh saltwater as control using natural feed. The initial density in the different tanks and recipients was 70 nauplii/l.

Diet trials consisted utilizing natural or artificial feeds; one series was developed in four flasks with natural and in four flasks with artificial feed. A second series was developed in the aquaria also using four for the natural and four for the artificial diets. The artificial diets were imported powders (3 different types and granule size for complete larval development) of brand mark specific for shrimp larvae development. Feeding trials were followed as specified in the labels, preparing the adequate quantities of suspended powder for each container six times a day. The natural diets added were *Chaetoceros gracilis* diatoms (5×10^6 cells/l) [Simon, 1978] and *Tetraselmis cf. suecica* microalgae (2×10^5 cells/l) and *Artemia franciscana* nauplii (1×10^3 nauplii/l).



Microalgae were grown in *f/2* media described by Guillard [1973]. Water exchanges in a 90% daily ratio were performed nine days after starting the trials, when shrimp larvae reached the mysis stage, since total ammonia ion increased to sublethal levels. The different experiments were run at the same time keeping water temperature, salinity, dissolved oxygen and light intensity constant maintaining the containers in the same laboratory. Temperature and dissolved oxygen (YSI 55 Inc.), salinity (Atago, Japan, portable refractometer temperature compensated), pH and nitrite (diazo-coloration) were measured daily at 11:00h as established in APHA (1992). The pH was kept around 8.0 ± 0.1 units using a portable pH-meter (Quikcheck, Orion). Total ammonia was determined in extracted water samples (daily at 11:00h) with the colorimetric indophenol method [Solórzano, 1969].

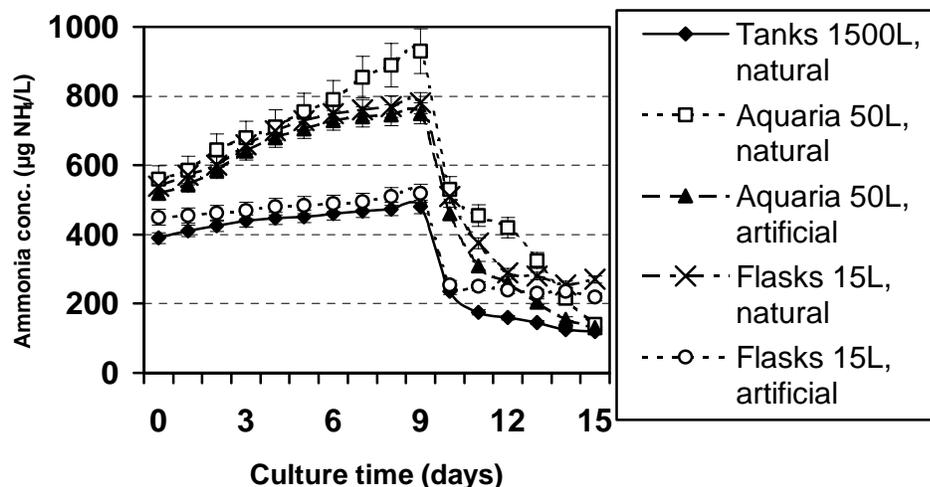
Survival was estimated in three 1 liter aliquots taken from each container and nauplii were counted with the aid of a hand-counter during transfer to another beaker. The counts were done each third day avoiding so stressing of larvae.

Total determined ammonia nitrogen were compared between the different volumes and the different diets were conducted using a two way ANOVA and followed by a Student's *t*-test for difference of means of untransformed data. Also the survival rates between trials were calculated and compared statistically by pairs. Statistical analyses were performed according to Sokal and Rohlf [1981]. Statements of statistical significance refer to $P \leq 0.05$.

Results

Aquaria with 50 l water volume and shrimp larvae fed natural diets show highest concentrations of total ammonia at the ninth day when larvae reached mysis phase, followed by those mysis in the cylinder-conical flasks with 15 l water (Fig. 1). After the ninth day, water exchanges decreased drastically total ammonia concentration and the other ions. Just before starting the water exchange in the different recipients, nitrite concentration reached $50\mu\text{g/L}$ in those aquaria with natural diets, in all other trials it was lower.

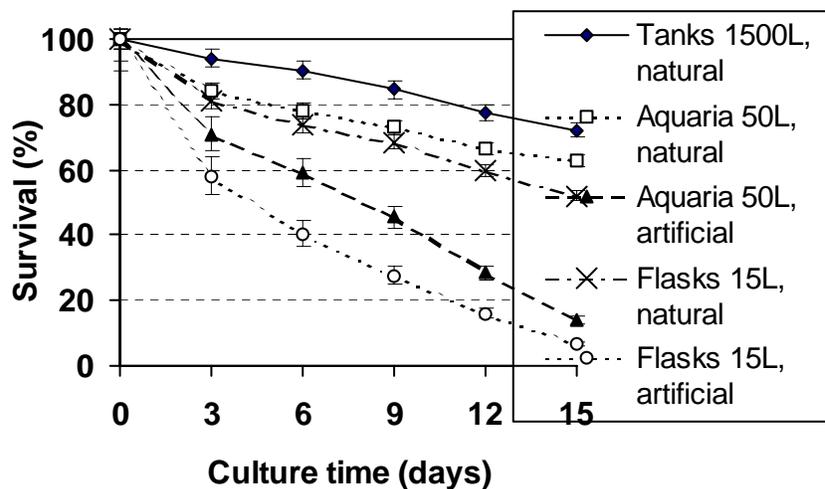
Figure 1. Total ammonium concentration in 6 tanks, 4 aquaria, 4 flasks and different water volumes with white shrimp nauplii fed natural or artificial diets. Error bars represent \pm standard error between replicates ($P < 0.05$).





Survival was significantly higher at the end of the trial in the 15 l conical flasks with nauplii fed natural diets (Fig. 2), than those fed artificial feeds (seven times higher). In the square shaped aquaria with 50 l survival was also significantly different being four times higher in those fed natural diets than in those with artificial feeds. In the big conical tanks with 1500 L of marine water, survival was the highest in all six tested tanks. Comparing between those trials with artificial diets (15 l conical flasks and 50 l square-shape aquaria), survival was significantly different between treatments being two times higher in the aquaria, than in the flasks. These results where different water volumes are compared using artificial diets, are in accordance with Wilkenfeld *et al.*, [1984] and Villarreal and Naranjo, [1994], even if these were well balanced [Teshima and Kanazawa, 1984]. The present results were better, than those experienced in the same aquaria [Liñán-Cabello, 1995], due to more water exchanges.

Figure 2. Percentage of survival of shrimp nauplii after 15 days of metamorphosis in 6 tanks, 8 aquaria, 8 flasks with different water volumes and fed natural or artificial feeds. Error bars represent \pm standard error between replicates ($P < 0.05$).



Discussion

Natural feeds seem to be well balanced in their protein fraction [Colvin and Brand, 1977] lipid fraction [D'Abramo, 1989; Cahu and Quazuguel, 1989; Millamena, 1989], carbohydrate fraction [Bages and Sloane, 1981] and vitamin fraction [Conklin, 1989]. The main reason of the poor survival rate in the present assay in aquaria with the artificial diets was caused by the abundant presence of protozoa that came from an inefficient marine water filtration. These protozoa proliferate due to accumulation of uneaten artificial diet particles that sediment in parts of the flasks with low circulation and in the corners of the aquaria [Millamena, 1990], although water exchanges were done rigorously every day. In those aquaria and in the 1500L tanks with natural live diets, survival was the expected as described by Sánchez [1986], or by Holland and Russell [1993], and those compared to other larval developments in the laboratory.



Ammonium toxicity is discarded in all trials, since the lethal dosage of this ion for crustaceans is far over 1 mg/L [Jayasankar and Muthu, 1983; Chen and Chin, 1987], being the critical concentration for shrimp larvae between 0.95 and 3.80 mg/L depending on larvae age [Colt and Armstrong, 1981]. Around 95% of this ammonium ion was excreted by the nauplii through their gills [Kormalik and Cameron, 1981; Regnault, 1987; Almendras, 1994]. To keep total ammonium ion under lethal concentration, it was necessary to exchange and replace water in a 90% per day basis in those with natural feeds and 500% in those with artificial diets. These excessive water changes are time consuming and may stress larvae. In laboratories, where water has to be filtered and treated, this may increase also maintenance costs. Nitrite ion was always present in sublethal concentrations at a maximum of 50 $\mu\text{g/l}$. Wickins [1976] presented lethal concentrations for nitrite between 400 and 2300 $\mu\text{g/l}$ depending the range on other substances present in water, as for example ammonium ion. Their presence is due to the addition of nitrate salts in form of f/2 media for algae growth enhancement and nitrite is the by-product of the transformation of nitrate with the help of bacteria. On the other hand the decomposition of the feces of the shrimp larvae, *Artemia franciscana* nauplii and uneaten diets, also contribute to increase these ions. Their concentration decreased clearly, when partial water exchanges started at the ninth day (Fig. 1). These exchanges may start in the moment when no microalgae are anymore needed as feed, since the shrimp larvae in the mysis stadium are carnivorous, feeding exclusively on *A. franciscana* nauplii [Landau and Eifert, 1985].

There are other advantages between natural and artificial feed trials. The artificial diets had to be prepared each time freshly suspending the powders in clear filtered water. This procedure was repeated six times a day for each aquarium or flask. Natural feeding proceeded once a day. Another advantage was, that postlarvae fed natural feeds were bigger and more robust and grew faster until they got juveniles, than those with microencapsulated feed. These results also coincide with those observed by Wilkenfeld *et al.* [1984], Kurmaly *et al.* [1989], and Villarreal and Naranjo [1994]. Costs of postlarvae fed artificial diets are higher. Survival was another significant parameter that was higher in those experiments with natural feeds, than with the artificial ones.

Conclusions

It can be concluded, that the bioassays with shrimp larvae developed in flasks or aquaria with reduced volume and fed with microalgae and *A. franciscana* nauplii, produce robust postlarvae with higher survival rate, than those compared with artificial specific feeds in form of powders; this is in part due to the container form with sections, where water circulation is lacking. Disadvantages in those trials with artificial feeds were the presence of protozoa, that proliferate on the uneaten food particles increasing mortality of shrimp larvae, even with high water exchange rates of 500% per day to keep total ammonia under lethal concentrations.

Acknowledgements

The author wish to thank the two anonymous referees of the journal for their valuable suggestions and constructive comments.

Literature



- Abelin, P.; Taeckert, W. and Sorgeloos, P. 1989. Growth response of penaeid postlarvae to dry diets containing *Artemia* biomass meal. Special Publ. Eu. Aquacultural Soc. No. 10.
- Akiyama, D. M.; Coelho, S. R.; Lawrence, A. L. and Robinson, E.H. 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 55(1): 91-98.
- Alcaraz, G.; Chiapa-Carrara, X. and Vanegas, C. 1997. Temperature tolerance of *Penaeus setiferus* postlarvae exposed to ammonia and nitrite. Aquatic Toxicology 39: 345-353.
- Alcaraz, G.; Chiapa-Carrara, X.; Espinoza, V. and Vanegas, C. 1999a. Acute toxicity of ammonia and nitrite to white shrimp *Penaeus setiferus* postlarvae. J. World Aquacult. Soc. 30(1): 90-97.
- Alcaraz, G.; Chiapa-Carrara, X.; Espinoza, V. and Vanegas, C. 1999b. Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* postlarvae under different oxygen levels. J. World Aquacult. Soc. 30(1): 98-106.
- Álvarez del Castillo, M.; Costero, M. y de la Vega, L. 1990. Resultados de maduración y reproducción de *Penaeus vannamei* en el laboratorio de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Guadalajara, en Barra de Navidad, Jalisco. Anales del IV Congreso Nacional de Acuicultura, AMAC'90, CICTUS, Hermosillo, Sonora, México, pp. 53-54.
- Almendras, J. M. E. 1994. Ammonia excretion in *Penaeus monodon* postlarvae during handling and transfer. Bamidgeh 46: 33-39.
- APHA, AWWA, WPCF. 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid, España.
- Aquacop. 1979. Penaeid reared broodstock: Closing the cycle of *Penaeus monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proc. World Maricult. Soc. 10: 445-452.
- Bages, M. and Sloane, L. 1981. Effects of dietary protein and starch levels on growth and survival of *Penaeus monodon* Fabricius postlarvae. Aquaculture. 25: 117-128.
- Bray, W.A.; Lawrence, A.L. and Lester, L.J. 1990. Reproduction of eyestalk-ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. J. World Aquacult. Soc. 21(1): 41-52.
- Cahu, C. and Quazuguel, P. 1989. Lipid metabolism of *Penaeus vannamei* broodstock: Influence of dietary lipids. Aquaculture Europe'89. International Aquaculture Conference, Bordeaux, France. No. 10, 45-46.
- Chamberlain, G.W. and Lawrence, A.L. 1981. Maturation, reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* fed natural diets. J. World Maricult. Soc. 2(1): 209-224.
- Chen, J.C. and Chin, S.T. 1987. Acute toxicity of ammonia to larvae of the tiger prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture 66: 247-253.
- Colt, J.E. and Armstrong, D.A. 1981. Nitrogen toxicity to crustaceans, fish and molluscs. In: L.J. Allen and Kinney (Eds.). Proceedings of the Bio-Engineering Symposium for Fish Culture. Selection of the American Fisheries Society (FCS Publ.). Bethesda, Md, 34-47.
- Colvin, P.M. and Brand, C.W. 1977. The protein requirements of penaeid shrimp at various life cycle stages in controlled environment systems. J. World Maricult. Soc. 8: 821-840.
- Conklin, D.E. 1989. Vitamin requirements of juvenile penaeid shrimp. Advances in tropical Aquaculture, Tahiti, French Polynesia, IFREMER/SDP. Poulzane, France, pp. 287-308.
- D'Abramo, L.R. 1989. Lipid requirements of shrimp. Advances in tropical Aquaculture. Tahiti (French Polynesia. IFREMER/SDP, Poulzane (France). 271-285.
- Galgani, M.L. and Aquacop. 1988. Replacement of live unicellular algae by microparticulate diets during larval rearing of zoeal stages of some penaeid prawns. Aquaculture 69(1-2): 115-127.
- Guillard, R.L. 1973. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Woods Hole, Oceanography. Massachusetts. U.S.A.
- Holland, J.K.N. and Russell, B.J. 1993. A palatability bioassay for determining ingestive stimuli in the marine shrimp *Penaeus vannamei*. Aquaculture 109: 153-164.
- Hysmith, B.T. and Booth, J.R. 1972. A study of the effects of feeding synthetic diets to brown shrimp (*Penaeus aztecus*). Proc. World Maricult. Soc. 3: 365-388.
- Jayasankar, P. and Muthu, M.S. 1983. Toxicity of ammonia to the larvae of *Penaeus indicus*. H. Milne Edwards. Indian J. Fish. 30(1): 1-12.
- Jones, D.A.; Kanazawa, A. and Ono, K. 1979. Studies on the nutritional requirements of the larval stages of *Penaeus japonicus* using microencapsulated diets. Marine Biology. 54: 261-266.
- Jones, D.A.; Kurnaly, A. and Arshard, A. 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. Aquaculture. 64: 133-146.



- Kormalik, G.A. and Cameron, J.N. 1981. Ammonia excretion in animals that breathe water: a review. *Mar. Biol. Lett.* 2: 11-23.
- Kurmaly, K.; Jones, D.A.; Yule, A.B. and East, J. 1989. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from combinations of both. *Aquaculture*. 81: 27-45.
- Landau, M. and Eifert, R.T. 1985. The suitability of two strains of *Artemia* (Phyllopoda, Anacostraca) as food for developing *Penaeus vannamei* Boone (*Decapoda natantia*). *Crustaceana*. 48: 106-110.
- Liñán-Cabello, M. A. 1995. Caracterización de los cuadros ambientales durante la reproducción inducida y obtención de postlarvas de *Penaeus vannamei* bajo diferentes criterios alimenticios. Tesis Maestría Acuicultura. Facultad Ciencias Marinas, Universidad de Colima, Manzanillo, Colima, México. 74 pp.
- Mendivil, A.I. y Quijada, H.L. 1988. Producción de un alimento artificial microencapsulado como sustituto de nauplios de *Artemia sp.* en la alimentación de larvas de *Penaeus stylirostris* Stimpson. Tesis, Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México.
- Meyer-Willerer, A. O. 1997. Effects of age, temperature, light and starvation time on ammonia excretion on ammonia excretion of white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone) during transport. *World Aquaculture'97. Book of Abstracts. World Aquacult. Soc. Seattle, Wa. USA*, p. 329.
- Meyer-Willerer, A.O. y Parra-Covarrubias, E. 1996. Vitalidad de nauplios obtenidos de reproductores *Penaeus vannamei* alimentados con diferentes dietas. *Avances en Investigación Agropecuaria* 5(1): 10-16.
- Meyer-Willerer, A.O. and Parra-Covarrubias, E. 1997. Specific feed formulations for white shrimp *Penaeus vannamei* (Boone) held in laboratory for experiment purposes. *World Aquaculture'97. Book of Abstracts. World Aquacult. Soc. Seattle, Wa. USA*, p. 328.
- Millamena, O. M. 1989. Effect of fatty acid composition of broodstock diet on tissue fatty acid patterns and egg fertilization and hatching in pond-reared *Penaeus monodon*. *Asian Fish. Sci.* 2(2): 127-134.
- Millamena, O. M. 1990. Organic pollution resulting from excess and metabolite build-up: Effect on *Penaeus monodon* postlarvae. *Aquacultural Engineering* 9(3): 143-151.
- Ogle, J.; Beaugez, K. and McIlwain, T.D. 1988. Survival of *Penaeus vannamei* post-larvae challenged with low-salinity water. *J. Shellfish Res.* 7(1): 172-173.
- Pérez-Farfante, I. and Kensley, B. F. 1997. Penaeoid and sergestoid shrimps and prawns of the world: keys and diagnoses for the families and genera. *Memoires du Museum National D'Histoire Naturelle*. 175: 1-233.
- Regnault, M. 1987. Nitrogen excretion in marine and freshwater crustacea. *Biol. Rev.* 62: 1-24.
- Sánchez, M. R. 1986. Rearing of mysid stages of *Penaeus vannamei* fed cultured algae of three species. *Aquaculture*. 58: 139-144.
- Simon, C. M. 1978. Culture of the diatom *Chaetoceros gracilis* and its use as a food for penaeid protozoa larvae. *Aquaculture*. 14: 105-113.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1981. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* W. H. Freeman and Co., San Francisco, Ca. USA.
- Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol-hypochlorite method. *Limnological Oceanography*. 14: 799-801.
- Teshima, S. and Kanazawa, A. 1984. Effects of protein, lipid and carbohydrate levels in purified diets on growth and survival rates on the prawn larvae. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50(10): 1709-1715.
- Villarreal, H. and Naranjo, J. 1994. Survival, metamorphosis and growth of white shrimp *Penaeus vannamei* larvae fed nine food combinations. XXV Cong. World Aquacult. Soc. New Orleans. LA. USA, p. 110.
- Wickins, J. F. 1976. The tolerance of water prawns to recirculated water. *Aquaculture*. 9: 19-37.
- Wilkenfeld, J. S.; Lawrence, A.L. and Kuban, F.D. 1984. Survival, metamorphosis and growth of penaeid shrimp larvae reared on a variety of algal and animal foods. *J. World Maricult Soc.* 15, 31-49.

Recibido: Diciembre 31, 1999.

Aceptado: Julio 9, 2004.