



# REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS PECUARIAS

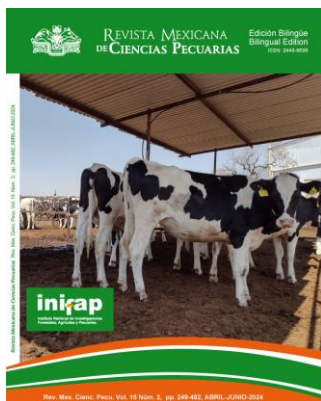
Edición Bilingüe  
Bilingual Edition  
ISSN: 2448-6698

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias Rev. Mex. Cienc. Pecu. Vol. 15 Núm. 2, pp. 249-482, ABRIL-JUNIO-2024



**iniap**

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales, Agrícolas y Pecuarias



Establo lechero San Cristóbal en Tepatitlán, Jalisco; con promedio de producción de 31 lts/vaca/día bajo sistema familiar.

**Autor:** Adriana García Ruiz

**REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS PECUARIAS** Volumen 15 Numero 2, Abril-Junio 2024. Es una publicación trimestral de acceso abierto, revisada por pares y arbitrada, editada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Avenida Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, C.P. 04010, Ciudad de México, [www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx).

Distribuida por el Centro de Investigación Regional Sureste, Calle 6 No. 398 X 13, Avenida Correa Racho, Col. Díaz Ordaz, Mérida Yucatán, C.P. 97130.

Editor responsable: Arturo García Fraustro Reservas de Derechos al Uso Exclusivo número 04-2022-033116571100-102, ISSN: 2448-6698, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR).

Responsable de la última actualización de este número: Arturo García Fraustro, Campo Experimental Mochochá, Km. 25 Antigua Carretera Mérida-Motul, Mochochá, Yuc. C.P. 97454. <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>, la presente publicación tuvo su última actualización en abril de 2024.

## DIRECTORIO

### FUNDADOR

John A. Pino

### EDITOR EN JEFE

Arturo García Fraustro

### EDITORES ADJUNTOS

Oscar L. Rodríguez Rivera

Alfonso Arias Medina

### EDITORES POR DISCIPLINA

**Dra. Yolanda Beatriz Moguel Ordóñez**, INIFAP, México  
**Dr. Ramón Molina Barrios**, Instituto Tecnológico de Sonora,  
**Dr. Alfonso Juventino Chay Canul**, Universidad Autónoma de Tabasco, México  
**Dra. María Cristina Schneider**, Universidad de Georgetown, Estados Unidos  
**Dr. Feliciano Milian Suazo**, Universidad Autónoma de Querétaro, México  
**Dr. Javier F. Enríquez Quiroz**, INIFAP, México  
**Dra. Martha Hortencia Martín Rivera**, Universidad de Sonora URN, México  
**Dr. Fernando Arturo Ibarra Flores**, Universidad de Sonora URN, México  
**Dr. James A. Pfister**, USDA, Estados Unidos  
**Dr. Eduardo Daniel Bolaños Aguilar**, INIFAP, México  
**Dr. Sergio Iván Román-Ponce**, INIFAP, México  
**Dr. Jesús Fernández Martín**, INIA, España  
**Dr. Mauricio A. Elzo**, Universidad de Florida  
**Dr. Sergio D. Rodríguez Camarillo**, INIFAP, México  
**Dra. Nydia Edith Reyes Rodríguez**, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México  
**Dra. María Salud Rubio Lozano**, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México  
**Dra. Elizabeth Loza-Rubio**, INIFAP, México  
**Dr. Juan Carlos Saiz Calahorra**, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, España  
**Dr. José Armando Partida de la Peña**, INIFAP, México  
**Dr. José Luis Romano Muñoz**, INIFAP, México  
**Dr. Jorge Alberto López García**, INIFAP, México  
**Dr. Alejandro Plascencia Jorquera**, Universidad Autónoma de Baja California, México

**Dr. Juan Ku Vera**, Universidad Autónoma de Yucatán, México  
**Dr. Ricardo Basurto Gutiérrez**, INIFAP, México  
**Dr. Luis Corona Gochi**, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México  
**Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez**, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, México  
**Dr. Carlos López Coello**, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México  
**Dr. Arturo Francisco Castellanos Ruelas**, Facultad de Química. UADY  
**Dra. Guillermina Ávila Ramírez**, UNAM, México  
**Dr. Emmanuel Camuus**, CIRAD, Francia.  
**Dr. Héctor Jiménez Severiano**, INIFAP., México  
**Dr. Juan Hebert Hernández Medrano**, UNAM, México  
**Dr. Adrian Guzmán Sánchez**, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México  
**Dr. Eugenio Villagómez Amezcua Manjarrez**, INIFAP, CENID Salud Animal e Inocuidad, México  
**Dr. José Juan Hernández Ledezma**, Consultor privado  
**Dr. Fernando Cervantes Escoto**, Universidad Autónoma Chapingo, México  
**Dr. Adolfo Guadalupe Álvarez Macías**, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, México  
**Dr. Alfredo Cesin Vargas**, UNAM, México  
**Dra. Marisela Leal Hernández**, INIFAP, México  
**Dr. Efrén Ramírez Bribiesca**, Colegio de Postgraduados, México  
**Dra. Itzel Amaro Estrada**, INIFAP, México

**TIPOGRAFÍA Y FORMATO:** Oscar L. Rodríguez Rivera

Indizada en el "Journal Citation Report" Science Edition del ISI. Inscrita en el Sistema de Clasificación de Revistas Científicas y Tecnológicas de CONACyT; en EBSCO Host y la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (RedALyC) ([www.redalyc.org](http://www.redalyc.org)); en la Red Iberoamericana de Revistas Científicas de Veterinaria de Libre Acceso ([www.veterinaria.org/revistas/revivec](http://www.veterinaria.org/revistas/revivec)); en los Índices SCOPUS y EMBASE de Elsevier ([www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)).

## REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS PECUARIAS

La Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias es un órgano de difusión científica y técnica de acceso abierto, revisada por pares y arbitrada. Su objetivo es dar a conocer los resultados de las investigaciones realizadas por cualquier institución científica, relacionadas particularmente con las distintas disciplinas de la Medicina Veterinaria y la Zootecnia. Además de trabajos de las disciplinas indicadas en su Comité Editorial, se aceptan también para su evaluación y posible publicación, trabajos de otras disciplinas, siempre y cuando estén relacionados con la investigación pecuaria.

Se publican en la revista tres categorías de trabajos: Artículos Científicos, Notas de Investigación y Revisiones Bibliográficas (consultar las Notas al autor); la responsabilidad de cada trabajo recae exclusivamente en los autores, los cuales, por la naturaleza misma de los experimentos pueden verse obligados a referirse en algunos casos a los nombres comerciales de ciertos productos, ello sin embargo, no implica preferencia por los productos citados o ignorancia respecto a los omitidos, ni tampoco significa en modo alguno respaldo publicitario hacia los productos mencionados.

Todas las contribuciones serán cuidadosamente evaluadas por árbitros, considerando su calidad y relevancia académica. Queda entendido que el someter un manuscrito implica que la investigación descrita es única e inédita. La publicación de Rev. Mex. Cienc. Pecu. es

trimestral en formato bilingüe Español e Inglés. El costo total por publicar es de \$ 7,280.00 más IVA por manuscrito ya editado.

Se publica en formato digital en acceso abierto, por lo que se autoriza la reproducción total o parcial del contenido de los artículos si se cita la fuente.

El envío de los trabajos de debe realizar directamente en el sitio oficial de la revista. Correspondencia adicional deberá dirigirse al Editor Adjunto a la siguiente dirección: Calle 36 No. 215 x 67 y 69 Colonia Montes de Amé, C.P. 97115 Mérida, Yucatán, México. Tel/Fax +52 (999) 941-5030. Correo electrónico (C-ele): rodriguez\_oscar@prodigy.net.mx.

La correspondencia relativa a suscripciones, asuntos de intercambio o distribución de números impresos anteriores, deberá dirigirse al Editor en Jefe de la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, Campo Experimental Mocochoá, Km. 25 Antigua Carretera Mérida-Motul, Mocochoá, Yuc. C.P. 97454; garcia.arturo@inifap.gob.mx o arias.alfonso@inifap.gob.mx.

Inscrita en la base de datos de EBSCO Host y la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (RedALyC) ([www.redalyc.org](http://www.redalyc.org)), en la Red Iberoamericana de Revistas Científicas de Veterinaria de Libre Acceso ([www.veterinaria.org/revistas/revivec](http://www.veterinaria.org/revistas/revivec)), indizada en el "Journal Citation Report" Science Edition del ISI (<http://thomsonreuters.com/>) y en los Índices SCOPUS y EMBASE de Elsevier ([www.elsevier.com](http://www.elsevier.com))

VISITE NUESTRA PÁGINA EN INTERNET

Artículos completos desde 1963 a la fecha y Notas al autor en: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias is an open access peer-reviewed and refereed scientific and technical journal, which publishes results of research carried out in any scientific or academic institution, especially related to different areas of veterinary medicine and animal production. Papers on disciplines different from those shown in Editorial Committee can be accepted, if related to livestock research.

The journal publishes three types of papers: Research Articles, Technical Notes and Review Articles (please consult Instructions for authors). Authors are responsible for the content of each manuscript, which, owing to the nature of the experiments described, may contain references, in some cases, to commercial names of certain products, which however, does not denote preference for those products in particular or of a lack of knowledge of any other which are not mentioned, nor does it signify in any way an advertisement or an endorsement of the referred products.

All contributions will be carefully refereed for academic relevance and quality. Submission of an article is understood to imply that the research described is unique and unpublished. Rev. Mex. Cienc. Pecu. is published quarterly in original language Spanish or English. Total fee charges are US \$ 425.00 per article in both printed languages.

Part of, or whole articles published in this Journal may be reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying or otherwise, provided the source is properly acknowledged.

Manuscripts should be submitted directly in the official web site. Additional information may be mailed to Associate Editor, Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, Calle 36 No. 215 x 67 y 69 Colonia Montes de Amé, C.P. 97115 Mérida, Yucatán, México. Tel/Fax +52 (999) 941-5030. E-mail: [rodriguez\\_oscar@prodigy.net.mx](mailto:rodriguez_oscar@prodigy.net.mx).

For subscriptions, exchange or distribution of previous printed issues, please contact: Editor-in-Chief of Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, Campo Experimental Mocochoá, Km. 25 Antigua Carretera Mérida-Motul, Mocochoá, Yuc. C.P. 97454; [garcia.arturo@inifap.gob.mx](mailto:garcia.arturo@inifap.gob.mx) or [arias.alfonso@inifap.gob.mx](mailto:arias.alfonso@inifap.gob.mx).

Registered in the EBSCO Host database. The Latin American and the Caribbean Spain and Portugal Scientific Journals Network (RedALyC) ([www.redalyc.org](http://www.redalyc.org)). The Iberoamerican Network of free access Veterinary Scientific Journals ([www.veterinaria.org/revistas/revivec](http://www.veterinaria.org/revistas/revivec)). Thomson Reuter's "Journal Citation Report" Science Edition (<http://thomsonreuters.com/>). Elsevier's SCOPUS and EMBASE ([www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)) and the Essential Electronic Agricultural Library ([www.teeal.org](http://www.teeal.org))

VISIT OUR SITE IN THE INTERNET

Full articles from year 1963 to date and Instructions for authors can be accessed via the site <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>

**CONTENIDO**  
**Contents**

**ARTÍCULOS**  
**Articles**

Pág.

**Estudio de la Estructura y Diversidad genética de ganado Holstein del sistema familiar en México**

Study of the Genetic Structure and Diversity of Holstein cattle in the small holder system in Mexico

Felipe de Jesús Ruiz-López, José G. Cortés-Hernández, José Luis Romano-Muñoz, Fernando Villaseñor-González, Adriana García-Ruiz .....249

**Efecto de diferentes protocolos de castración en indicadores productivos de cerdos: meta-análisis**

Effect of various castration protocols on production indicators in pigs: meta-analysis

Humberto Rafael Silva-Santos, Francisco Ernesto Martínez-Castañeda, Gregorio Álvarez-Fuentes, María de la Salud Rubio-Lozano, María Elena Trujillo-Ortega .....267

**Acumulación de materia seca, rendimiento y calidad nutricional del forraje de híbridos de maíz cosechados a diferentes días después de la siembra**

Dry matter accumulation, yield, and nutritional quality of forage of corn hybrids harvested at different days after sowing

Diego Eduardo Ramírez Gutiérrez, José de Jesús Olmos Colmenero, Alfonso Peña Ramos, Juan Isidro Sánchez Duarte, Ernesto Medina Núñez, Silviano Gallardo Ramírez, Omar Iván Santana ...287

**Análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X de enterolitos de equinos en el valle de Aburrá, Antioquia, Colombia**

Electron microscopy and X-ray diffraction analysis of equine enteroliths from the Aburrá Valley in Antioquia, Colombia

Sergio Andrés Vélez Gil, Juan José Patiño Marulanda, José Ramón Martínez Aranzales.....302

**Prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de leche de Chiquinquirá (Colombia)**

Prevalence and risk factors associated with *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Chiquinquirá (Colombia)

Diana M. Bulla-Castañeda, Deisy J. Lancheros Buitrago, Leneth B. Castañeda Sedano, Rosa I. Higuera Piedrahita, Martín O. Pulido-Medellín .....310

**Influence of the type of container and traditional methods on the long-term storage of honey produced by stingless *Scaptotrigona mexicana*: bioactive compounds and antioxidant properties**

Influencia del tipo de recipiente y de los métodos tradicionales en el almacenamiento a largo plazo de la miel producida por *Scaptotrigona mexicana* sin aguijón: compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes

Naida Juárez-Trujillo, Simón Carrouché, María Remedios Mendoza-López, Juan L. Monribot-Villanueva, José A. Guerrero-Analco, Maribel Jiménez-Fernández.....323

**Un efecto novedoso del extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum* sobre garrapatas de perros domésticos (*Canis lupus familiaris*)**

A novel effect of aqueous extract of *Pimpinella anisum* seeds on ticks of domestic dogs (*Canis lupus familiaris*)

William Fernando Vázquez-Tec, Sara Luz Nahuat-Dzib, Julia Cano-Sosa, Lorena Reyes-Vaquero, Edgar E. Lara-Ramirez, Benjamín Abraham Ayil-Gutiérrez, Angel Virgilio Domínguez-May.....344

**Conocimiento socio-ecológico de la actividad apícola en la Costa Chica de Guerrero, México**

Socio-ecological knowledge of the beekeeping activity in the Costa Chica region of Guerrero, Mexico

José Cámara-Romero, William Cetzal-Ix, Luis Alaniz-Gutiérrez, Agustín Rojas-Herrera, José Aparicio-López, Columba Rodríguez-Alviso .....360

**Prevalencia de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. en vacunos de crianza extensiva del distrito Florida (Amazonas), Perú**

Prevalence of *Fasciola hepatica* and *Calicophoron* spp. in extensively reared cattle in the Florida district (Amazonas), Peru

Medali Cueva-Rodríguez, Teófilo Torrel, Cristian Hobán, Wuesley Alvarez-García, Flor Mejía, Luis Vargas-Rocha.....376

**Influence of feedlot living space on production variables, carcass and meat quality traits in Holstein steers**

Influencia del espacio vital del corral de engorda en las variables de producción, rasgos de calidad de la canal y la carne en novillos Holstein

Ana Mireya Romo-Valdez, Cristina Pérez-Linares, Francisco Gerardo Ríos-Rincón, Fernando Figueroa-Saavedra, Alberto Barreras-Serrano, Beatriz Isabel Castro-Pérez, Eduardo Sánchez-López, Georgina Valentina Cervantes Cazarez .....393

**REVISIONES DE LITERATURA**

**Reviews**

**Lenteja de agua (*Lemna minor*): potencial alimentario y ambiental. Revisión**

Common duckweed (*Lemna minor*): food and environmental potential. Review

Olga Jaimes Prada, Olga Lora Díaz, Katherine Tache Rocha.....404

### **Implicación de las Fusariotoxinas en la producción avícola. Revisión**

Implication of Fusariotoxins in poultry production. Review

Gabriela Guadalupe Gómez Verduzco, Ernesto Ávila González, Guillermo Téllez Isaías, Juan Carlos Del Río García, Jacqueline Uribe Rivera.....425

### **Contribución de gramíneas forrajeras a la fijación biológica de nitrógeno y su respuesta a la inoculación de diazótrofes. Revisión**

Contribution of forage grasses to biological nitrogen fixation and their response to diazotroph inoculation. Review

Dania Fonseca López, Nelson Vivas Quila, Raúl Cuervo Mulet, Carlos Eduardo Rodríguez Molano.446

## **NOTAS DE INVESTIGACIÓN**

### **Technical notes**

### **Frecuencia de seropositividad contra el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su área periférica**

Frequency of seropositivity against porcine circovirus type 2 (PCV2) in the metropolitan area of Monterrey, Nuevo León, and its peripheral area

José Pablo Villarreal-Villarreal, César Dávila-Martínez, Heidi Giselle Rodríguez-Ramírez .....462

### **Prevalencia e intensidad de virosis de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en seis regiones del estado de Jalisco, México**

Prevalence and infection intensity of honey bee (*Apis mellifera*) viral diseases in six regions of the state of Jalisco, Mexico

Ana Karen Ramos-Cuellar, Álvaro De la Mora, Francisca Contreras-Escareño, Nuria Morfin, José María Tapia-González, José Octavio Macías-Macías, Tatiana Petukhova, Adriana Correa-Benítez, Ernesto Guzman-Nova .....471

## NOTAS AL AUTOR

La **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias** se edita completa en dos idiomas (español e inglés) y publica tres categorías de trabajos: Artículos científicos, Notas de investigación y Revisiones bibliográficas.

Los autores interesados en publicar en esta revista deberán ajustarse a los lineamientos que más adelante se indican, los cuales, en términos generales, están de acuerdo con los elaborados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (CIERM) Bol Oficina Sanit Panam 1989;107:422-437.

1. Sólo se aceptarán trabajos inéditos. No se admitirán si están basados en pruebas de rutina, ni datos experimentales sin estudio estadístico cuando éste sea indispensable. Tampoco se aceptarán trabajos que previamente hayan sido publicados condensados o in extenso en Memorias o Simposio de Reuniones o Congresos (a excepción de Resúmenes).
2. Todos los trabajos estarán sujetos a revisión de un Comité Científico Editorial, conformado por Pares de la Disciplina en cuestión, quienes desconocerán el nombre e Institución de los autores proponentes. El Editor notificará al autor la fecha de recepción de su trabajo.
3. El manuscrito deberá someterse a través del portal de la Revista en la dirección electrónica: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>, consultando el "**Instructivo para envío de artículos** en la página de la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias". Para su elaboración se utilizará el procesador de Microsoft Word, con letra **Times New Roman a 12 puntos**, a doble espacio. Asimismo, se deberán llenar los formatos de postulación, carta de originalidad y no duplicidad y disponibles en el propio sitio oficial de la revista.
4. Por ser una revista con arbitraje, y para facilitar el trabajo de los revisores, todos los renglones de cada página deben estar numerados de manera continua a lo largo de todo el documento; asimismo cada página debe estar numerada, inclusive cuadros, ilustraciones y gráficas.
5. Los artículos tendrán una extensión máxima de 20 cuartillas a doble espacio, sin incluir páginas de Título, y cuadros o figuras (los cuales no deberán exceder de ocho y ser incluidos en el texto). Las Notas de investigación tendrán una extensión máxima de 15 cuartillas y 6 cuadros o figuras. Las Revisiones

bibliográficas una extensión máxima de 30 cuartillas y 5 cuadros.

6. Los manuscritos de las tres categorías de trabajos que se publican en la **Rev. Mex. Cienc. Pecu.** deberán contener los componentes que a continuación se indican, empezando cada uno de ellos en página aparte.

**Página del título**

**Resumen en español**

**Resumen en inglés**

**Texto**

**Agradecimientos y conflicto de interés**

**Literatura citada**

7. **Página del Título.** Solamente debe contener el título del trabajo, que debe ser conciso pero informativo; así como el título traducido al idioma inglés. En el manuscrito no se debe incluir información como nombres de autores, departamentos, instituciones, direcciones de correspondencia, etc., ya que estos datos tendrán que ser registrados durante el proceso de captura de la solicitud en la plataforma del OJS (revisar el Instructivo para envío de artículos en la dirección: <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>).
8. **Resumen en español.** En la segunda página se debe incluir un resumen que no pase de 250 palabras. En él se indicarán los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos y la metodología empleada; los resultados más importantes encontrados, y de ser posible, su significación estadística y las conclusiones principales. A continuación del resumen, en punto y aparte, agregue debidamente rotuladas, de 3 a 8 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el trabajo, las cuales se publicarán junto con el resumen.
9. **Resumen en inglés.** Anotar el título del trabajo en inglés y a continuación redactar el "abstract" con las mismas instrucciones que se señalaron para el resumen en español. Al final en punto y aparte, se deberán escribir las correspondientes palabras clave ("keywords").
10. **Texto.** Las tres categorías de trabajos que se publican en la **Rev. Mex. Cienc. Pecu.** consisten en lo siguiente:

a) Artículos científicos. Deben ser informes de trabajos originales derivados de resultados parciales o finales de investigaciones. El texto del Artículo científico se divide en secciones que llevan estos encabezamientos:

Introducción  
Material y Métodos  
Resultados  
Discusión  
Conclusiones e implicaciones  
Literatura citada

En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas divisiones a fin de hacer más claro el contenido, tanto en Material y métodos como en las secciones de Resultados y de Discusión, las cuales también pueden presentarse como una sola sección.

b) Notas de investigación. Consisten en modificaciones a técnicas, informes de casos clínicos de interés especial, preliminares de trabajos o investigaciones limitadas, descripción de nuevas variedades de pastos; así como resultados de investigación que a juicio de los editores deban así ser publicados. El texto contendrá la misma información del método experimental señalado en el inciso a), pero su redacción será corrida del principio al final del trabajo; esto no quiere decir que sólo se supriman los subtítulos, sino que se redacte en forma continua y coherente.

c) Revisiones bibliográficas. Consisten en el tratamiento y exposición de un tema o tópico de relevante actualidad e importancia; su finalidad es la de resumir, analizar y discutir, así como poner a disposición del lector información ya publicada sobre un tema específico. El texto se divide en: Introducción, y las secciones que correspondan al desarrollo del tema en cuestión.

11. **Agradecimientos y conflicto de interés.** Siempre que corresponda, se deben especificar las colaboraciones que necesitan ser reconocidas, tales como a) la ayuda técnica recibida; b) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; c) las relaciones financieras que pudieran suscitar un conflicto de intereses. Las personas que colaboraron pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo: "asesor científico", "revisión crítica de la propuesta para el estudio", "recolección de datos", etc. Siempre que corresponda, los autores deberán mencionar si existe algún conflicto de interés.
12. **Literatura citada.** Numere las referencias consecutivamente en el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. Las referencias en el

texto, en los cuadros y en las ilustraciones se deben identificar mediante **números arábigos** entre paréntesis, sin señalar el año de la referencia. Evite hasta donde sea posible, el tener que mencionar en el texto el nombre de los autores de las referencias. Procure abstenerse de utilizar los resúmenes como referencias; las "observaciones inéditas" y las "comunicaciones personales" no deben usarse como referencias, aunque pueden insertarse en el texto (entre paréntesis).

Reglas básicas para la Literatura citada

Nombre de los autores, con mayúsculas sólo las iniciales, empezando por el apellido paterno, luego iniciales del materno y nombre(s). En caso de apellidos compuestos se debe poner un guión entre ambos, ejemplo: Elías-Calles E. Entre las iniciales de un autor no se debe poner ningún signo de puntuación, ni separación; después de cada autor sólo se debe poner una coma, después del último autor se debe poner un punto.

El título del trabajo se debe escribir completo (en su idioma original) luego el título abreviado de la revista donde se publicó, sin ningún signo de puntuación; inmediatamente después el año de la publicación, luego el número del volumen, seguido del número (entre paréntesis) de la revista y finalmente el número de páginas (esto en caso de artículo ordinario de revista).

Puede incluir en la lista de referencias, los artículos aceptados, aunque todavía no se publiquen; indique la revista y agregue "en prensa" (entre corchetes).

En el caso de libros de un solo autor (o más de uno, pero todos responsables del contenido total del libro), después del o los nombres, se debe indicar el título del libro, el número de la edición, el país, la casa editorial y el año.

Cuando se trate del capítulo de un libro de varios autores, se debe poner el nombre del autor del capítulo, luego el título del capítulo, después el nombre de los editores y el título del libro, seguido del país, la casa editorial, año y las páginas que abarca el capítulo.

En el caso de tesis, se debe indicar el nombre del autor, el título del trabajo, luego entre corchetes el grado (licenciatura, maestría, doctorado), luego el nombre de la ciudad, estado y en su caso país, seguidamente el nombre de la Universidad (no el de la escuela), y finalmente el año.



Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen a continuación:

#### Revistas

Artículo ordinario, con volumen y número. (Incluya el nombre de todos los autores cuando sean seis o menos; si son siete o más, anote sólo el nombre de los seis primeros y agregue "et al.>").

- I) Basurto GR, Garza FJD. Efecto de la inclusión de grasa o proteína de escape ruminal en el comportamiento de toretes Brahman en engorda. *Téc Pecú Méx* 1998;36(1):35-48.

Sólo número sin indicar volumen.

- II) Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC. Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs associated with a paramyxovirus infection. *Vet Rec* 1988;(122):6-10.

- III) Chupin D, Schuh H. Survey of present status of the use of artificial insemination in developing countries. *World Anim Rev* 1993;(74-75):26-35.

No se indica el autor.

- IV) Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

Suplemento de revista.

- V) Hall JB, Staigmiller RB, Short RE, Bellows RA, Bartlett SE. Body composition at puberty in beef heifers as influenced by nutrition and breed [abstract]. *J Anim Sci* 1998;71(Suppl 1):205.

Organización, como autor.

- VI) The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;(164):282-284.

En proceso de publicación.

- VII) Scifres CJ, Kothmann MM. Differential grazing use of herbicide treated area by cattle. *J Range Manage* [in press] 2000.

#### Libros y otras monografías

Autor total.

- VIII) Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 2nd ed. New York, USA: McGraw-Hill Book Co.; 1980.

Autor de capítulo.

- IX) Roberts SJ. Equine abortion. In: Faulkner LLC editor. *Abortion diseases of cattle*. 1st ed. Springfield, Illinois, USA: Thomas Books; 1968:158-179.

Memorias de reuniones.

- X) Loeza LR, Angeles MAA, Cisneros GF. Alimentación de cerdos. En: Zúñiga GJL, Cruz BJA editores. Tercera reunión anual del centro de investigaciones forestales y agropecuarias del estado de Veracruz. Veracruz. 1990:51-56.

- XI) Olea PR, Cuarón IJA, Ruiz LFJ, Villagómez AE. Concentración de insulina plasmática en cerdas alimentadas con melaza en la dieta durante la inducción de estro lactacional [resumen]. Reunión nacional de investigación pecuaria. Querétaro, Qro. 1998:13.

- XII) Cunningham EP. Genetic diversity in domestic animals: strategies for conservation and development. In: Miller RH et al. editors. *Proc XXVI eltsville Symposium: Biotechnology's role in genetic improvement of farm animals*. USDA. 996:13.

↓

Tesis.

- XIII) Alvarez MJA. Inmunidad humoral en la anaplasmosis y babesiosis bovinas en becerros mantenidos en una zona endémica [tesis maestría]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 1989.

- XIV) Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen [doctoral thesis]. Berkeley, California, USA: University of California; 1965.

Organización como autor.

- XV) NRC. National Research Council. The nutrient requirements of beef cattle. 6th ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1984.

- XVI) SAGAR. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Curso de actualización técnica para la aprobación de médicos veterinarios zootecnistas responsables de establecimientos destinados al sacrificio de animales. México. 1996.

- XVII) AOAC. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1990.

- XVIII) SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 6.03). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1988.

- XIX) SAS. SAS User's Guide: Statistics (version 5 ed.). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1985.

Publicaciones electrónicas

- XX) Jun Y, Ellis M. Effect of group size and feeder type on growth performance and feeding patterns in growing pigs. *J Anim Sci* 2001;79:803-813. <http://jas.fass.org/cgi/reprint/79/4/803.pdf>. Accessed Jul 30, 2003.
- XXI) Villalobos GC, González VE, Ortega SJA. Técnicas para estimar la degradación de proteína y materia orgánica en el rumen y su importancia en rumiantes en pastoreo. *Téc Pecu Méx* 2000;38(2): 119-134. <http://www.tecnicapecuaria.org/trabajos/200212175725.pdf>. Consultado 30 Ago, 2003.
- XXII) Sanh MV, Wiktorsson H, Ly LV. Effect of feeding level on milk production, body weight change, feed conversion and postpartum oestrus of crossbred lactating cows in tropical conditions. *Livest Prod Sci* 2002;27(2-3):331-338. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03016226>. Accessed Sep 12, 2003.
13. **Cuadros, Gráficas e Ilustraciones.** Es preferible que sean pocos, concisos, contando con los datos necesarios para que sean autosuficientes, que se entiendan por sí mismos sin necesidad de leer el texto. Para las notas al pie se deberán utilizar los símbolos convencionales.
- 14 **Versión final.** Es el documento en el cual los autores ya integraron las correcciones y modificaciones indicadas por el Comité Revisor. Se les enviará a los autores un instructivo que contendrá los puntos esenciales para su correcta elaboración. Las fotografías e imágenes deberán estar en formato jpg (o compatible) con al menos 300 dpi de resolución. Tanto las fotografías, imágenes, gráficas, cuadros o tablas deberán incluirse en el mismo archivo del texto. Los cuadros no deberán contener ninguna línea vertical, y las horizontales solamente las que delimitan los encabezados de columna, y la línea al final del cuadro.
15. Una vez recibida la versión final, ésta se mandará para su traducción al idioma inglés o español, según corresponda. Si los autores lo consideran conveniente podrán enviar su manuscrito final en ambos idiomas.
16. **Tesis.** Se publicarán como Artículo o Nota de Investigación, siempre y cuando se ajusten a las normas de esta revista.
17. Los trabajos no aceptados para su publicación se regresarán al autor, con un anexo en el que se explicarán los motivos por los que se rechaza o las modificaciones que deberán hacerse para ser reevaluados.
- 18.

**Abreviaturas de uso frecuente:**

- cal caloría (s)  
cm centímetro (s)  
°C grado centígrado (s)  
DL50 dosis letal 50%  
g gramo (s)  
ha hectárea (s)  
h hora (s)  
i.m. intramuscular (mente)  
i.v. intravenosa (mente)  
J joule (s)  
kg kilogramo (s)  
km kilómetro (s)  
L litro (s)  
log logaritmo decimal  
Mcal megacaloría (s)  
MJ megajoule (s)  
m metro (s)  
msnm metros sobre el nivel del mar  
µg microgramo (s)  
µl microlitro (s)  
µm micrómetro (s)(micra(s))  
mg miligramo (s)  
ml mililitro (s)  
mm milímetro (s)  
min minuto (s)  
ng nanogramo (s)  
P probabilidad (estadística)  
p página  
PC proteína cruda  
PCR reacción en cadena de la polimerasa  
pp páginas  
ppm partes por millón  
% por ciento (con número)  
rpm revoluciones por minuto  
seg segundo (s)  
t tonelada (s)  
TND total de nutrientes digestibles  
UA unidad animal  
UI unidades internacionales  
vs versus  
xg gravedades

Cualquier otra abreviatura se pondrá entre paréntesis inmediatamente después de la(s) palabra(s) completa(s).

19. Los nombres científicos y otras locuciones latinas se deben escribir en cursivas.

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

**Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias** is a scientific journal published in a bilingual format (Spanish and English) which carries three types of papers: Research Articles, Technical Notes, and Reviews. Authors interested in publishing in this journal, should follow the below-mentioned directives which are based on those set down by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) Bol Oficina Sanit Panam 1989;107:422-437.

1. Only original unpublished works will be accepted. Manuscripts based on routine tests, will not be accepted. All experimental data must be subjected to statistical analysis. Papers previously published condensed or *in extenso* in a Congress or any other type of Meeting will not be accepted (except for Abstracts).
2. All contributions will be peer reviewed by a scientific editorial committee, composed of experts who ignore the name of the authors. The Editor will notify the author the date of manuscript receipt.
3. Papers will be submitted in the Web site <http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>, according the "Guide for submit articles in the Web site of the Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias". Manuscripts should be prepared, typed in a 12 points font at double space (including the abstract and tables), At the time of submission a signed agreement co-author letter should enclosed as complementary file; co-authors at different institutions can mail this form independently. The corresponding author should be indicated together with his address (a post office box will not be accepted), telephone and Email.
4. To facilitate peer review all pages should be numbered consecutively, including tables, illustrations and graphics, and the lines of each page should be numbered as well.
5. Research articles will not exceed 20 double spaced pages, without including Title page and Tables and Figures (8 maximum and be included in the text). Technical notes will have a maximum extension of 15 pages and 6 Tables and Figures. Reviews should not exceed 30 pages and 5 Tables and Figures.
6. Manuscripts of all three type of articles published in **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias** should contain the following sections, and each one should begin on a separate page.

### Title page

### Abstract

### Text

### Acknowledgments and conflict of interest

### Literature cited

7. **Title page.** It should only contain the title of the work, which should be concise but informative; as well as the title translated into English language. In the manuscript is not necessary information as names of authors, departments, institutions and correspondence addresses, etc.; as these data will have to be registered during the capture of the application process on the OJS platform (<http://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>).
8. **Abstract.** On the second page a summary of no more than 250 words should be included. This abstract should start with a clear statement of the objectives and must include basic procedures and methodology. The more significant results and their statistical value and the main conclusions should be elaborated briefly. At the end of the abstract, and on a separate line, a list of up to 10 key words or short phrases that best describe the nature of the research should be stated.
9. **Text.** The three categories of articles which are published in **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias** are the following:

*a) Research Articles.* They should originate in primary works and may show partial or final results of research. The text of the article must include the following parts:

Introduction  
 Materials and Methods  
 Results  
 Discussion  
 Conclusions and implications  
 Literature cited

In lengthy articles, it may be necessary to add other sections to make the content clearer. Results and Discussion can be shown as a single section if considered appropriate.

*b) Technical Notes.* They should be brief and be evidence for technical changes, reports of clinical cases of special interest, complete description of a limited investigation, or research results which should be published as a note in the opinion of the editors. The text will contain the same

information presented in the sections of the research article but without section titles.

- c) *Reviews*. The purpose of these papers is to summarize, analyze and discuss an outstanding topic. The text of these articles should include the following sections: Introduction, and as many sections as needed that relate to the description of the topic in question.
10. **Acknowledgements.** Whenever appropriate, collaborations that need recognition should be specified: a) Acknowledgement of technical support; b) Financial and material support, specifying its nature; and c) Financial relationships that could be the source of a conflict of interest.

People which collaborated in the article may be named, adding their function or contribution; for example: "scientific advisor", "critical review", "data collection", etc.

11. **Literature cited.** All references should be quoted in their original language. They should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Text, tables and figure references should be identified by means of Arabic numbers. Avoid, whenever possible, mentioning in the text the name of the authors. Abstain from using abstracts as references. Also, "unpublished observations" and "personal communications" should not be used as references, although they can be inserted in the text (inside brackets).

#### *Key rules for references*

a. The names of the authors should be quoted beginning with the last name spelt with initial capitals, followed by the initials of the first and middle name(s). In the presence of compound last names, add a dash between both, i.e. Elias-Calles E. Do not use any punctuation sign, nor separation between the initials of an author; separate each author with a comma, even after the last but one.

b. The title of the paper should be written in full, followed by the abbreviated title of the journal without any punctuation sign; then the year of the publication, after that the number of the volume, followed by the number (in brackets) of the journal and finally the number of pages (this in the event of ordinary article).

c. Accepted articles, even if still not published, can be included in the list of references, as long as the journal is specified and followed by "in press" (in brackets).

d. In the case of a single author's book (or more than one, but all responsible for the book's contents), the title of the book should be indicated after the names(s), the number of the edition, the country, the printing house and the year.

e. When a reference is made of a chapter of book written by several authors; the name of the author(s) of the chapter should be quoted, followed by the title of the chapter, the editors and the title of the book, the country, the printing house, the year, and the initial and final pages.

f. In the case of a thesis, references should be made of the author's name, the title of the research, the degree obtained, followed by the name of the City, State, and Country, the University (not the school), and finally the year.

#### Examples

The style of the following examples, which are partly based on the format the National Library of Medicine of the United States employs in its Index Medicus, should be taken as a model.

#### Journals

*Standard journal article* (List the first six authors followed by *et al.*)

- I) Basurto GR, Garza FJD. Efecto de la inclusión de grasa o proteína de escape ruminal en el comportamiento de toretes Brahman en engorda. *Téc Pecu Méx* 1998;36(1):35-48.

#### *Issue with no volume*

- II) Stephano HA, Gay GM, Ramírez TC. Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs associated with a paramyxovirus infection. *Vet Rec* 1988;(122):6-10.
- III) Chupin D, Schuh H. Survey of present status of the use of artificial insemination in developing countries. *World Anim Rev* 1993;(74-75):26-35.

#### *No author given*

- IV) Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

#### *Journal supplement*

- V) Hall JB, Staigmiller RB, Short RE, Bellows RA, Bartlett SE. Body composition at puberty in beef heifers as influenced by nutrition and breed [abstract]. *J Anim Sci* 1998;71(Suppl 1):205.

#### Organization, as author

- VI) The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;(164):282-284.

*In press*

- VII) Scifres CJ, Kothmann MM. Differential grazing use of herbicide-treated area by cattle. *J Range Manage* [in press] 2000.

Books and other monographs

*Author(s)*

- VIII) Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 2nd ed. New York, USA: McGraw-Hill Book Co.; 1980.

*Chapter in a book*

- IX) Roberts SJ. Equine abortion. In: Faulkner LLC editor. Abortion diseases of cattle. 1st ed. Springfield, Illinois, USA: Thomas Books; 1968:158-179.

*Conference paper*

- X) Loeza LR, Angeles MAA, Cisneros GF. Alimentación de cerdos. En: Zúñiga GJL, Cruz BJA editores. Tercera reunión anual del centro de investigaciones forestales y agropecuarias del estado de Veracruz. Veracruz. 1990:51-56.
- XI) Olea PR, Cuarón IJA, Ruiz LFJ, Villagómez AE. Concentración de insulina plasmática en cerdas alimentadas con melaza en la dieta durante la inducción de estro lactacional [resumen]. Reunión nacional de investigación pecuaria. Querétaro, Qro. 1998:13.
- XII) Cunningham EP. Genetic diversity in domestic animals: strategies for conservation and development. In: Miller RH *et al.* editors. Proc XX Beltsville Symposium: Biotechnology's role in genetic improvement of farm animals. USDA. 1996:13.

*Thesis*

- XIII) Alvarez MJA. Inmunidad humoral en la anaplasmosis y babesiosis bovinas en becerros mantenidos en una zona endémica [tesis maestría]. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 1989.
- XIV) Cairns RB. Infrared spectroscopic studies of solid oxygen [doctoral thesis]. Berkeley, California, USA: University of California; 1965.

Organization as author

- XV) NRC. National Research Council. The nutrient requirements of beef cattle. 6th ed. Washington, DC, USA: National Academy Press; 1984.
- XVI) SAGAR. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Curso de actualización técnica para la aprobación de médicos veterinarios zootecnistas responsables de establecimientos destinados al sacrificio de animales. México. 1996.

- XVII) AOAC. Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1990.

- XVIII) SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 6.03). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1988.

- XIX) SAS. SAS User's Guide: Statistics (version 5 ed.). Cary NC, USA: SAS Inst. Inc. 1985.

*Electronic publications*

- XX) Jun Y, Ellis M. Effect of group size and feeder type on growth performance and feeding patterns in growing pigs. *J Anim Sci* 2001;79:803-813. <http://jas.fass.org/cgi/reprint/79/4/803.pdf>. Accessed Jul 30, 2003.
- XXI) Villalobos GC, González VE, Ortega SJA. Técnicas para estimar la degradación de proteína y materia orgánica en el rumen y su importancia en rumiantes en pastoreo. *Téc Pecu Méx* 2000;38(2): 119-134. <http://www.tecnicapecuaria.org/trabajos/200212175725.pdf>. Consultado 30 Jul, 2003.
- XXII) Sanh MV, Wiktorsson H, Ly LV. Effect of feeding level on milk production, body weight change, feed conversion and postpartum oestrus of crossbred lactating cows in tropical conditions. *Livest Prod Sci* 2002;27(2-3):331-338. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03016226>. Accessed Sep 12, 2003.

12. **Tables, Graphics and Illustrations.** It is preferable that they should be few, brief and having the necessary data so they could be understood without reading the text. Explanatory material should be placed in footnotes, using conventional symbols.

13. **Final version.** This is the document in which the authors have already integrated the corrections and modifications indicated by the Review Committee. The works will have to be elaborated with Microsoft Word. Photographs and images must be in jpg (or compatible) format with at least 300 dpi resolution. Photographs, images, graphs, charts or tables must be included in the same text file. The boxes should not contain any vertical lines, and the horizontal ones only those that delimit the column headings, and the line at the end of the box.

14. Once accepted, the final version will be translated into Spanish or English, although authors should feel free to send the final version in both languages. No charges will be made for style or translation services.

15. **Thesis** will be published as a Research Article or as a Technical Note, according to these guidelines.

16. Manuscripts not accepted for publication will be returned to the author together with a note explaining

the cause for rejection, or suggesting changes which should be made for re-assessment.

**17. List of abbreviations:**

cal calorie (s)  
cm centimeter (s)  
°C degree Celsius  
DL50 lethal dose 50%  
g gram (s)  
ha hectare (s)  
h hour (s)  
i.m. intramuscular (..ly)  
i.v. intravenous (..ly)  
J joule (s)  
kg kilogram (s)  
km kilometer (s)  
L liter (s)  
log decimal logarithm  
Mcal mega calorie (s)  
MJ mega joule (s)  
m meter (s)  
µl micro liter (s)  
µm micro meter (s)  
mg milligram (s)

ml milliliter (s)  
mm millimeter (s)  
min minute (s)  
ng nanogram (s)  
*P* probability (statistic)  
p page  
CP crude protein  
PCR polymerase chain reaction  
pp pages  
ppm parts per million  
% percent (with number)  
rpm revolutions per minute  
sec second (s)  
t metric ton (s)  
TDN total digestible nutrients  
AU animal unit  
IU international units  
*vs* *versus*  
xg gravidity

The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.

18. Scientific names and other Latin terms should be written in italics.



## Estudio de la Estructura y Diversidad genética de ganado Holstein del sistema familiar en México



Felipe de Jesús Ruiz-López <sup>a</sup>

José G. Cortés-Hernández <sup>b</sup>

José Luis Romano-Muñoz <sup>a</sup>

Fernando Villaseñor-González <sup>c</sup>

Adriana García-Ruiz <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Ajuchitlán Colón, 76280 Querétaro, México.

<sup>b</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ciudad Universitaria, Ciudad de México. México.

<sup>c</sup> INIFAP. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco. México.

\*Autor de correspondencia: [garcia.adriana@inifap.gob.mx](mailto:garcia.adriana@inifap.gob.mx)

### Resumen:

El objetivo fue conocer la estructura poblacional de los animales Holstein del sistema de lechería familiar, identificar posibles orígenes del material genético, conocer el grado de consanguinidad e identificar posibles huellas de selección en el genoma, que permitan vislumbrar las características que se han mejorado a través de los años. El estudio incluyó 270 animales genotipados con el chip GGP-50K®. Después del control de calidad de genotipos, se incluyeron 43,548 SNP autosómicos. Para conocer la estructura poblacional se realizaron análisis de mezclas y componentes principales (CP). Para conocer la consanguinidad genómica y detectar huellas de selección, se usó información de corridas de homocigosidad (ROH). El análisis de mezclas se realizó con el software Admixture, y los de

CP, ROH y consanguinidad se realizaron con SVS-v7.6.8. El análisis de mezclas mostró evidencia de seis componentes, todos ligados a familias de sementales Holstein con diferente país de origen. Los CP no evidenciaron estratificación de la población por hato. El coeficiente de consanguinidad promedio fue de  $0.59 \pm 0.53$  %. En las regiones del genoma con ROH más frecuentes en la población ( $\geq 20$  animales), se han reportado numerosas asociaciones, QTL y genes relacionados con producción y composición de la leche, parámetros de fertilidad, susceptibilidad a enfermedades, conformación corporal, eficiencia alimenticia y algunas características de composición de la canal. Los resultados reflejan la existencia de una amplia diversidad genética en esta población y la posibilidad de realizar trabajos de mejoramiento genético a través de selección sin afectar los niveles de consanguinidad.

**Palabras clave:** Diversidad genética, Huellas de selección, Consanguinidad, Sistema de lechería familiar.

Recibido: 17/12/2022

Aceptado: 09/05/2023

## Introducción

La industria lechera de ganado bovino en México produjo alrededor de 11,489 millones de litros de leche a nivel nacional en el 2020 (SIAP, 2020)<sup>(1)</sup> de los cuales, más del 30 % del volumen se produjo en el sistema de lechería familiar (SLF), que incluye aproximadamente al 78 % de los establos<sup>(2)</sup>. En los establos del SFL predominan los animales de la raza Holstein, aunque se pueden encontrar animales Pardo Suizo, así como las cruces de estos<sup>(3)</sup>. Actualmente en este sistema se cuenta con poca información de registros productivos por animal y en escasas ocasiones se puede recopilar información genealógica, lo que hace poco viable realizar evaluaciones genéticas de los animales de este sistema. El mejoramiento genético de estos animales se ha llevado a cabo por la selección que realiza el ganadero dentro de su hato, o por la introducción de material genético, pero no se tiene evidencia de apareamientos dirigidos con un fin genético determinado.

El uso de la información genómica ha permitido describir la estructura de las poblaciones que no cuentan con información genealógica o de registros. El estudio de estas poblaciones o animales se ha realizado a partir del estudio de marcadores de un solo polimorfismo (SNP) o los patrones de agrupamiento de los mismos; como, por ejemplo, las corridas de homocigosidad (ROH), que son segmentos homocigotos en el genoma, idénticos por descendencia, que pueden ser utilizados para estudiar la estructura de la población, la historia demográfica y para descifrar la estructura genética de enfermedades complejas<sup>(4)</sup>. Las ROH



son el resultado del cruzamiento entre individuos emparentados<sup>(5)</sup>, provenientes de poblaciones con alto nivel de intensidad de selección, influenciada por la disponibilidad de reemplazos y adopción de herramientas tecnológicas y reproductivas<sup>(6)</sup>, o bajas tasas de recombinación<sup>(7)</sup>. Su distribución y longitud depende de la intensidad de la selección, siendo más frecuentes y más extensas cuando ésta es mayor<sup>(8)</sup>, cuando los apareamientos entre parientes cercanos son frecuentes o cuando el tamaño de las poblaciones es reducida<sup>(4)</sup>.

El potencial de las ROH para ayudar al mejoramiento genético de los animales de producción es grande, debido a que dentro de ellas se encuentran una gran cantidad de genes que codifican para características de interés<sup>(9)</sup>. Además, la identificación de ROH puede ayudar a visualizar y reconocer patrones de haplotipos característicos de razas o especies<sup>(7)</sup>, permitiendo identificar regiones genómicas con posibles huellas de selección para la raza<sup>(10)</sup> y calcular los niveles de consanguinidad individual. Esto último, mediante la evaluación de la porción del genoma cubierto por los segmentos ROH, especialmente porque hay una alta probabilidad de detectar información genómica proveniente de parentescos antiguos<sup>(11)</sup>. Herramienta útil para poblaciones que no cuentan con información genealógica<sup>(12)</sup>.

Las huellas de selección son regiones del genoma que han sido conservadas por generaciones en las poblaciones debido a la selección natural o artificial. Estas secuencias de material genético están relacionadas con caracteres funcionalmente importantes<sup>(13)</sup> y su detección ayuda a identificar genes candidatos que se han favorecido en los procesos de selección a los que han sido expuestas las poblaciones, y a identificar mutaciones benéficas. Además, ayudan a la comprensión de las rutas moleculares relacionadas con los rasgos fenotípicos<sup>(14,15)</sup>.

Con los análisis de marcadores tipo SNP, también es posible conocer la estructura poblacional a través de análisis de mezclas y conocer los orígenes más influyentes en una población. Además, mediante métodos reductivos de información, como lo son los análisis de componentes principales, es posible determinar patrones de la estructura poblacional, información importante para establecer las bases de un programa de mejoramiento genético.

El objetivo del presente estudio fue conocer la estructura poblacional, identificar posibles orígenes del material genético, conocer el grado consanguinidad e identificar posibles huellas de selección en el genoma, que permitan vislumbrar las características que se han mejorado a través de los años por las decisiones de los ganaderos en sistemas de producción familiar de México.

## Material y métodos

Se utilizaron 270 genotipos de vacas Holstein, elegidas al azar de la población presente en tres hatos de SFL ubicados en la región de Tepatitlán, Jalisco, México. Los animales fueron genotipados con el chip GeneSeek Genomic Profiler Bovine GGP 50K®. El control de calidad a la información genómica consistió en excluir animales con tasa de llamada  $< 0.90$ ; excluir SNP con frecuencia del alelo menor (MAF)  $< 0.02$ , o con una tasa de llamada  $< 0.95$ , o con un valor de P para Hardy Weinberg  $< 0.0001$ <sup>(16,17)</sup>. Después del control de calidad, se incluyeron 43,548 SNP autosómicos.

Para conocer la estructura y principales orígenes poblacionales, se realizó un análisis de mezclas a través de la estimación basada en modelos de verosimilitud que definen la estructura de la ascendencia en individuos no relacionados, metodología implementada en el software Admixture V 1.3.0<sup>(18)</sup>. Mientras que, para identificar posibles agrupaciones poblacionales por hato, se realizaron análisis de Componentes principales (CP). Para estimar la consanguinidad con información genómica y huellas de selección en la población, se buscaron ROH en el genoma. Para definir las ROH, se incluyeron las corridas que contaban con una longitud mínima de 500 kb y una cantidad mínima de 25 SNP, con una densidad mínima de 1 marcador cada 50 kb y una brecha máxima entre marcadores homocigotos contiguos de 500 Kb. Con los parámetros mencionados, se evitó el riesgo de incluir ROH muy cortas, caso común debido al desequilibrio de ligamiento (DL)<sup>(17)</sup>. El DL se asocia con la presencia de genes ligados, por lo que al heredarse de padres a hijos lo hacen de forma conjunta, afectando la frecuencia de recombinación (menor del 50 %) y presencia de ROH en el genoma<sup>(19)</sup>. Adicionalmente, se permitió 1 SNP heterocigoto y 5 genotipos perdidos por corrida<sup>(20,21)</sup>.

El análisis de ROH se realizó con la plataforma bioinformática SNP & Variation Suite v7.6.8 Win64 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA)<sup>(22)</sup>, mientras que los análisis de los datos obtenidos se realizaron con SAS Institute 9.3.<sup>(23)</sup> Para analizar la distribución de  $L_{ROH}$ , se definieron seis clases, de acuerdo con su longitud, que fueron de 0.5 a 4,  $>4$  a 8,  $>8$  a 12,  $>12$  a 16,  $>16$  a 20 y  $>20$  Mb<sup>(24)</sup>.

Las huellas de selección se detectaron a través de la pérdida de variación genética, empleando las ROH identificadas en el genoma, utilizando las más frecuentes en la población (en al menos 10 % de los animales). De acuerdo con su posición física en el genoma, fueron identificadas anotaciones o regiones previamente relacionadas con genes, QTL o caracteres que se han realizado en otras poblaciones y que se encuentran reportadas en la base de datos Animal QTLdb Release 43<sup>(25)</sup>. Además, se buscaron huellas de selección previamente reportadas en la base de datos de Variación del Genoma Bovino (BGVD)<sup>(26)</sup>; lo anterior con

la finalidad encontrar información genómica que ayude a conocer posibles características que se han seleccionado en la población del Sistema de lechería familiar (SLF) en México.

Para el cálculo del coeficiente de consanguinidad por corridas (FROH) se utilizó la metodología propuesta por Mcquillan *et al*<sup>(27)</sup>, quienes la definieron como  $F_{ROH}^i = \Sigma L_{ROH}^i / L_{auto}$  donde  $F_{ROH}^i$  es el coeficiente de endogamia del individuo *i* calculado por ROH,  $\Sigma L_{ROH}^i$  es la suma total de los segmentos de ROH de un individuo *i* por encima de una longitud mínima especificada, en este caso > 500 kb y  $L_{auto}$  es la longitud del genoma autosómico cubierta por los SNP incluyendo los centrómeros. Como el año de nacimiento de los animales es desconocido, se calculó la tendencia de consanguinidad por número de lactación de los animales al momento del muestreo.

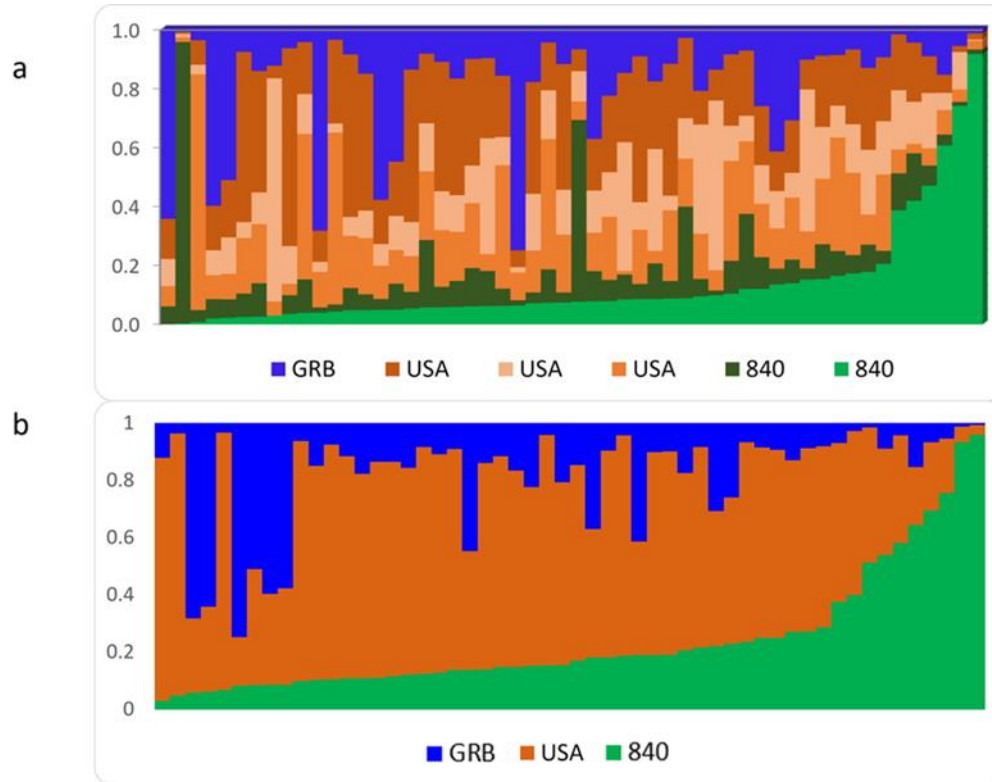
Adicionalmente se realizó el cálculo del coeficiente de consanguinidad a través de marcadores homocigotos observados y esperados (FHOE) para todos los animales, el cual se ha reportado tiene una correlación de  $0.96 \pm 0.001$  con la matriz de relaciones genómicas en ganado Holstein<sup>(28)</sup>, los valores de FHOE pueden oscilar entre -1 y +1. Los números negativos se refieren a la exogamia presente en el apareamiento entre individuos de poblaciones diferentes y los valores positivos indican el nivel de endogamia de individuos de la misma población; el cálculo se realizó a través del método referenciado por Ferenčaković *et al*<sup>(11)</sup> con el programa SNP & Variation Suite v7.6.8 Win64 (Golden Helix, Bozeman, MT, USA)<sup>(22)</sup>.

## Resultados y discusión

En el análisis de mezclas, el valor que mejor definió el número de poblaciones ancestrales (K) fue seis y de acuerdo con la información recopilada de algunos padres de vacas, se lograron identificar seis familias grandes, definidas principalmente por el país de origen de los sementales. En la Figura 1-a, se muestra la estructura de la población ligada a los seis grupos principales por país de origen de los sementales, aunque algunas de esas familias comparten el mismo país de origen. Por lo anterior, se conjuntaron los grupos que compartieron el mismo origen, quedando sólo representados tres grupos grandes, dos que representan a Estados Unidos de América y uno al Reino Unido (USA, 840 y GBR, respectivamente) (Figura 1-b). Los orígenes USA y 840 corresponden a Estados Unidos de América, sólo que el 840 es asignado a los animales que usan identificaciones de radiofrecuencia (RFID), dispositivos expedidos por el Comité Internacional de Registro Animal (ICAR); mientras que los animales registrados con país de origen USA no llevan un RFID y el uso del material genético es a nivel local o más limitado que los 840<sup>(29)</sup>. Los resultados de este estudio evidencian la dependencia genética que tiene el sistema familiar en México del material extranjero, principalmente proveniente de Estados Unidos, ya que

más del 80 % de los orígenes fueron ligados a familias con orígenes de este país, ya sea de comercio local o de los registrados internacionalmente.

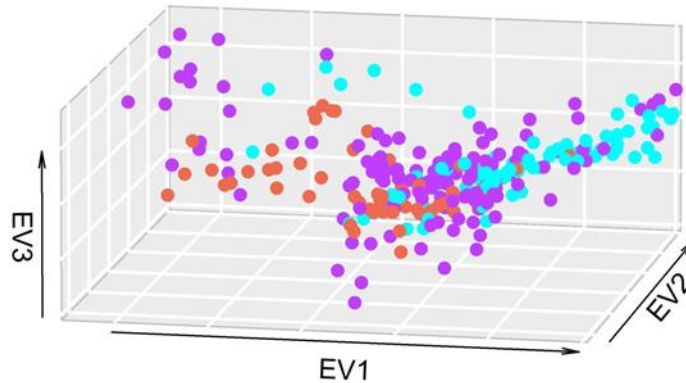
**Figura 1:** Estructura poblacional del ganado Holstein del sistema familiar a) incluyendo los seis orígenes atribuidos a familias de sementales y b) agrupados por país de origen



A pesar de que en otro estudio<sup>(29)</sup> se había reportado la influencia de otras razas de bovinos lecheros en el sistema familiar, en el presente estudio no se encontró evidencia del uso o cruce con otras razas. Estos resultados podrían sugerir que los ganaderos han seguido un sistema de apareamientos más dirigidos, y que se limitan a usar animales de la misma raza en los servicios.

En los análisis de CP (Figura 2), no se encontró estratificación por país de origen del semental, y cuando se evaluó el hato de origen, se observa un hato (morado) homogéneo en la población, y se aprecia una diferencia entre los animales de los otros hatos (rojo y azul). El porcentaje de la variabilidad asociada a cada componente fue de 2.9, 2.0 y 1.8 para los componentes o eigenvalores (EV) 1, 2 y 3 respectivamente.

**Figura 2:** Análisis de componentes principales de la población del sistema familiar con fenotipo Holstein, definidos por el hato de origen



El número total de ROH ( $N_{ROH}$ ) encontrado en la población estudiada fue 15,695 con una longitud promedio ( $L_{ROH}$ ) de 4.79 Mb, una longitud mínima y máxima de 0.5 y de 91.49 Mb, respectivamente. La longitud promedio del genoma cubierto por ROH fue de 278.76 Mb, con un mínimo y máximo de 13.28 y 535.83 Mb, respectivamente. De acuerdo con la frecuencia de las ROH en la población, se identificaron como únicas (en un solo animal) o repetidas, estas últimas con una misma longitud (idénticas) o de longitud variable. El 35.86 % de las ROH fueron únicas (Cuadro 1); mientras que el 64.14 % (10,067) fueron repetidas.

**Cuadro 1:** Número y porcentaje de corridas de homocigosidad (ROH) únicas y ROH repetidas con misma posición de inicio y fin, así como posiciones variables

Tipo de ROH	Longitud	Número de ROH	Porcentaje
Únicas	-	5,628	35.86
	Idénticas	5,663	36.08
Repetidas	Variable	4,404	28.06

El  $N_{ROH}$  fue menor en comparación con lo reportado en animales que provienen de sistemas especializados de producción, lo que podría atribuirse a una menor intensidad de selección, ya que la pérdida de variación genética o la formación de ROH en el genoma se encuentra influenciada, entre otros factores, por el nivel de intensidad de selección en las poblaciones, que a su vez está determinado por la disponibilidad de reemplazos y adopción de herramientas tecnológicas y reproductivas, como lo son la inseminación artificial (IA) y la

transferencia de embriones (ET). En ganado lechero, la intensidad de selección es muy alta y la selección de material genético se encuentra influenciada por un número limitado de familias progenitoras, por lo que el apareamiento de individuos emparentados puede ser común<sup>(30)</sup>. En el ganado Holstein del sistema especializado de producción en México, el  $N_{ROH}$  fue de 88,529, con un tamaño de la población mayor (~4,500 animales) y  $L_{ROH}$  fue mayor a 8.95 Mb<sup>(24)</sup>. En otros estudios en ganado Holstein del sistema especializado las  $L_{ROH}$  reportadas son aún mayores; por ejemplo, en EUA de 299.6 Mb<sup>(31)</sup> y en Italia de 297 Mb<sup>(32)</sup>.

El número promedio de ROH por animal fue de  $58.13 \pm 11.89$ , con un máximo y mínimo de 92 y 10; lo que es un valor alto comparado con los resultados de ganado Holstein del sistema especializado en México<sup>(24)</sup> reportado en promedio en 20.07 ROH por animal con un máximo de 283 y un mínimo de 1. Estudios en otras poblaciones Holstein de producción intensiva han reportado alrededor de  $82.3 \pm 9.83$  ROH por animal en ganado Holstein de EUA<sup>(31)</sup> y  $81.7 \pm 9.7$  corridas por animal en ganado Holstein de Italia<sup>(32)</sup>. Estas diferencias pueden ser debidas al alto grado de selección en las poblaciones de sistemas de producción especializados tanto de EUA como de Italia, así como a la disponibilidad de material genético de sementales altamente seleccionados en comparación con el SLF que se analizó en donde no están tan definidos los objetivos de selección.

De acuerdo con la clasificación de  $L_{ROH}$ , las corridas más frecuentes fueron las más cortas (0.5 a 4 Mb) con el 64.42 %, seguidas de las de 4 a 8 Mb con 20.45 %, y las menos frecuentes fueron las corridas más largas (>16 a 20 y >20; Cuadro 2). Las longitudes de las ROH proporcionan información sobre el número de generaciones en las que se comparte el ancestro común, siendo las más largas las formadas en generaciones recientes<sup>(21)</sup>, por lo que la longitud de las ROH encontradas en esta población reflejan una consanguinidad reciente y baja.

**Cuadro 2:** Frecuencia de corridas de homocigosidad (ROH) en distintas longitudes

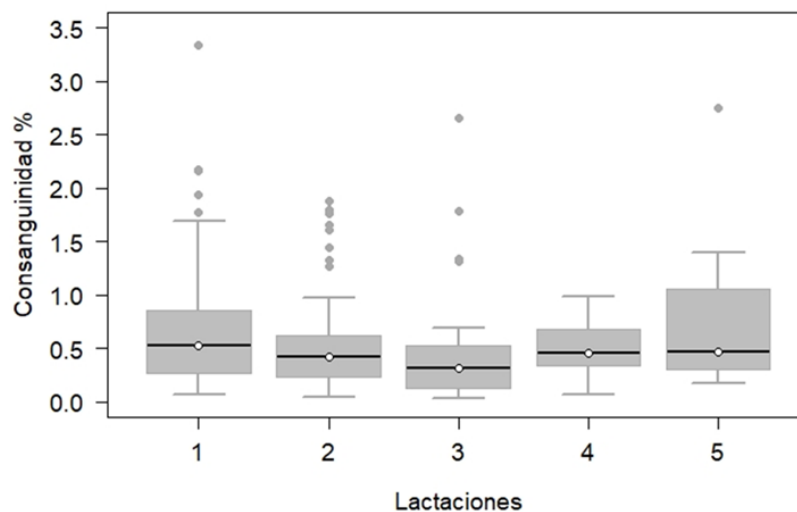
Longitud (Mb)	Cantidad	Porcentaje
0.5 a 4	10,110	64.42
>4 a 8	3,209	20.45
>8 a 12	1,131	7.21
>12 a 16	539	3.43
>16 a 20	296	1.89
>20	410	2.61

Mb= Mega bases.

El coeficiente de consanguinidad (FROH) promedio en la población fue de  $0.59 \pm 0.53$  % con un máximo de 3.35 % y un mínimo de 0.034 %. Los resultados concuerdan con la poca

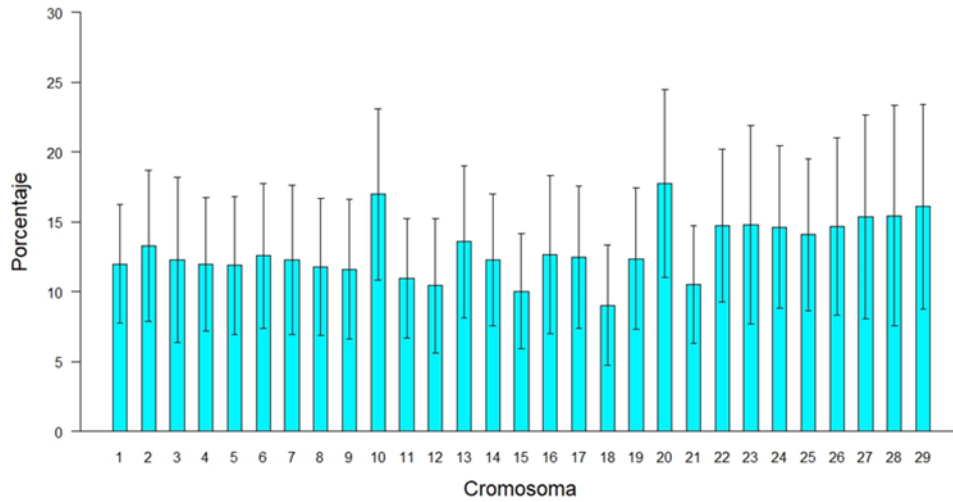
cantidad de ROH encontradas y la corta longitud promedio. Estos valores se encontraron muy por debajo a lo reportado en otras poblaciones de ganado Holstein altamente seleccionadas; por ejemplo, 4.2 % en EUA<sup>(33)</sup>. Aunque la consanguinidad encontrada en esta población fue insignificante, valor que se confirma con los valores calculados para FHOE que fueron de  $-0.02 \pm 0.08$ , al revisar los promedios por número de parto, se encontró un leve incremento en FROH de las generaciones recientes, lo que podría indicar el inicio de una tendencia desfavorable para el grupo estudiado (Figura 3).

**Figura 3:** Porcentajes de consanguinidad genómica (FROH) por número de lactación al momento del muestreo



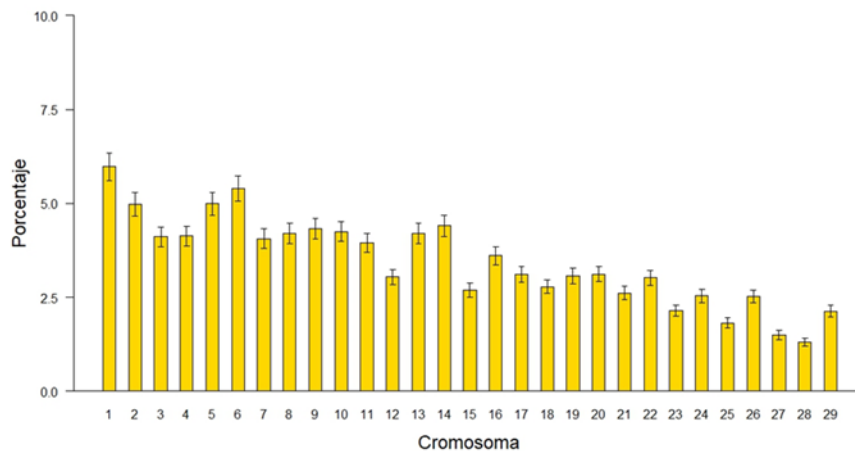
Para identificar las huellas de selección a lo largo del genoma, se buscaron cromosomas y regiones específicas en la ubicación y distribución de las ROH. La presencia de ROH se mostró en mayor medida en los cromosomas largos que en los cortos, aunque estos últimos presentaron una mayor proporción del genoma cubierta por regiones homocigóticas como lo fue en el caso de los cromosomas 10 y 20, que presentaron un 10 y un 20 con 16.98 % y 17.76 % (Figura 4), comportamiento similar a lo reportado por Szmatoła *et al*<sup>(34)</sup> en vacas Holstein de Polonia sugiriendo que estas regiones han estado sujetas a una mayor selección, por asociación a caracteres de interés económico. Los porcentajes de homocigosidad por cromosoma son mayores que el valor promedio de FROH porque se toma la longitud del cromosoma como el ciento por ciento y no la longitud total del genoma cubierto por los SNP; con esto se tiene una mejor percepción de la longitud del cromosoma cubierto por ROH.

**Figura 4:** Porcentaje del cromosoma cubierto por corridas de homocigosidad (ROH)



A lo largo del genoma se observó una relación positiva entre el tamaño de cromosoma y el número de ROH detectadas en ese cromosoma, pero no fue así para el porcentaje de la longitud del cromosoma cubierto por ROH, ya que los cromosomas cortos mostraron una mayor proporción cubierta por ROH (Figura 5), esto debido a que la longitud promedio de las ROH fue mayor en los cromosomas cortos que en los largos, debido a que en los cromosomas largos existe mayor recombinación que en los cromosomas cortos<sup>(8)</sup>. Del total de ROH determinado en la población, los cromosomas 1 y 6 fueron los que presentaron una mayor cantidad de ROH (5.98 y 5.39 %) y los cromosomas con una menor cantidad fueron los cromosomas 28 y 27 (1.31 y 1.50 %) resultados similares a los de Purfield *et al*<sup>(17)</sup> quienes también reportaron una mayor cantidad de ROH en los cromosomas largos que en los cortos.

**Figura 5:** Porcentaje de corridas de homocigosidad (ROH) en cada cromosoma





De acuerdo con la frecuencia de las ROH repetidas en la población, sólo 35 se encontraron en 10 animales o más y se distribuyeron en los cromosomas 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 19, 21, 22, 23, 26 y 29. Las ROH más frecuentes se encontraron en cromosomas 2 y 22, en 27 y 23 animales, respectivamente, siendo la longitud en estas corridas de 1.82 Mb y 1.61 Mb. En la misma posición de las corridas encontradas en el cromosoma 2 (83.84-85.66 Mb), Cole *et al*<sup>(35)</sup> dieron a conocer QTL (Loci de Rasgos Cuantitativos) relacionados con el ancho de la cadera y estatura en ganado Holstein de EUA; Cai *et al*<sup>(36)</sup> reportaron QTL asociados a producción de grasa en leche en ganado Holstein de países Nórdicos, pudiendo indicar huellas de selección en estos cromosomas<sup>(37)</sup>.

Del total de ROH con longitud variable, solo 37 se encontraron en 10 animales o más, distribuyéndose a lo largo del genoma, excepto en el cromosoma 8. En la región donde se encontraron las ROH más frecuentes en la población ( $\geq 20$  animales), se han reportado numerosas asociaciones, QTL y genes que se encuentran relacionados con producción y composición de la leche, parámetros de fertilidad, susceptibilidad a enfermedades, conformación corporal, eficiencia alimenticia y algunas características de composición de la canal (Cuadro 3). Los resultados muestran que a pesar de que las longitudes de las ROH en esta población (~4.79 Mb) sugieren un cruzamiento de animales emparentados hace aproximadamente 16 generaciones<sup>(11)</sup>, las regiones conservadas podrían indicar que la selección en esta población se encuentra dirigida a mejorar la producción de leche, composición, fertilidad y salud, como podría esperarse en los sistemas de producción de leche. En los cromosomas 1 y 2, además de las asociaciones con características de interés en ganado lechero, se observan asociaciones con características de la canal, hallazgos que pudieran sugerir posibles cruzamientos con otras razas.

Para buscar anotaciones de ROH con longitud variable, se tomó como referencia la ROH más corta con respecto a la posición final (Cuadro 3), para evitar proporcionar información fuera de la región común a todos los animales con una ROH específica.

**Cuadro 3:** Anotaciones en el genoma encontradas en las regiones donde se detectaron las corridas de homocigosidad (ROH) más frecuentes en la población de lechería familiar

BTA	Posición de inicio	Longitud (pb)	NoA	Asociaciones /QTL reportadas	Genes NCBI	Huellas de selección
13	389,736	1,593,318	38	CALEASE, PTAT, FY, MY, NM, PY, UHT, SB, STA, FANG, FTLEG, UA, RLEGR, RLEGS, RTPL, SCS, MRCT, FSC, CONCEPT, MBCASP, MPFRAT, DYF, DYST, TPL, TLGTH, UDPTH, PP, FP, HTINT.	Asociado: 287026.	TMX4, PLCB1, MIR2285M-1.
1	761,316	1,116,706	32	PP, MKCASP, CONCRATE, MUGKCASP, BTBS, SCS, FATTH, PY, RFI.	Asociado: 506426. Candidato: 282257.	ATP50, ITSN1, CRYZL1, DONSON, SON, GART, DNAJC28, TMEM50B, IFNGR2, IFNAR1, LOC104970778, IL10RB, IFNAR2, LOC526226, OLIG1, OLIG2.
17	67,686	1,209,677	32	FY, PY, CONCRATE, CONCEPT.		TMEM192, KLHL2, MSMO1, CPE, LOC101903170.
2	83,841,602	1,794,112	31	FSC, NRR, CONCRATE, CONCEPT, MUGKCASP, MSPD, BTBS, FY, BD, CALEASE, PTAT, FTPL, UA, NM, PL, RTPL, UHT, RUMWD, SCS, SB, STA, STR, UC, UDPTH, LMY, EY, BW, BVDV.	Candidato: 526800 Candidato: 19122 Gen: 521004.	SLC39A10, DNAH7, STK17B, LOC531691.
7	153,780	811,014	31	CALEASE, SB, FANG, FTLEG, PTAT, FTPL, UA, NM, PL, RLEGR, RLEGS, UHT, SCS, STA, UC, UDPTH, MBCASP.	Gen: 338031.	LOC107131408, LOC100125913, LOC101902704, FLT4, CNOT6, GFPT2, MAPK9, RASGEF1C.

BTA= cromosoma, NoA= número de animales.

**Asociaciones /QTLs reportados.** CALEASE= facilidad de parto, PTAT= puntos finales de conformación, FY= producción de grasa en leche, MY= producción de leche, NM= mérito Neto, PY= producción de

proteína en leche, UHT= altura de inserción de la ubre, SB= mortinatos, STA= estatura, FANG= ángulo de la pezuña, FTLEG= conformación de patas y pezuñas, UA= inserción de la ubre, RLEGR= colocación de las patas traseras - vista trasera, RLEGS= vista lateral de aplomos posteriores, RTPL= posición de tetas posteriores, SCS= puntuación de células somáticas, MRCT= tiempo de coagulación del cuajo de la leche, FSC= concepción a primer servicio, CONCEPT= número de inseminaciones por concepción, MBCASP= porcentaje de B-Caseína en leche, MPFRAT= proporción de proteína y grasa de leche, DYF= carácter lechero, DYST= distocia, TPL= posición de tetas, TLGTH= longitud de pezones, UDPTH= profundidad de la ubre, PP= porcentaje de proteína en leche, FP= porcentaje de grasa en leche, HTINT= intensidad del estro, MKCASP= porcentaje de Kappa caseína en leche, CONCRATE= tasa de concepción, MUGKCASP= porcentaje de kappa caseína en leche no glucosilada, BTBS= susceptibilidad a tuberculosis bovina, FATTH= espesor de grasa en la 12a costilla, RFI= consumo residual, NRR= tasa de no retorno, MSPD= velocidad de ordeño, BD= profundidad de Cuerpo, FTPL= posición de tetas anteriores, PL= duración de vida productiva, RUMWD= anchura del anca, STR= fortaleza lechera, UC= hendidura de ubre, LMY= rendimiento de carne magra, EY= energía de producción láctea, BW= peso corporal al nacimiento, BVDV= susceptibilidad a diarrea viral bovina.

**Genes NCBI.** 287026= fosfolipasa C beta 1, 506426= crystallin zeta codificador de proteínas, 282257= subunidad 1 del receptor de interferón alfa y beta, 526800= ankyrin repetidor dominio 44, 19122= proteína priónica, 521004= portador de soluto familia 39 miembro 10, 338031= receptor relacionado con fms tirosina quinasa 4.

**Huellas de selección (genes codificadores de proteínas).** TMX4= proteína transmembrana 4 relacionada con tiorredoxina, PLCB1= fosfolipasa C beta 1, MIR2285M-1= microARN que participan en la regulación postranscripcional de la expresión génica, ATP5O= subunidad del tallo periférico de la ATP sintasa, OSCP= subunidad periférica del tallo de ATP sintasa, ITSN1= intersección 1, CRYZL1= crystallin zeta codificador de proteínas, DONSON= factor de estabilización de la horquilla de replicación del ADN, SON= proteína de unión a ADN y ARN, GART= fosforribosilglicinamida formiltransferasa y sintetasa, fosforribosilaminoimidazol sintetasa, DNAJC28= familia de proteínas de choque térmico, TMEM50B= proteína transmembrana 50B, IFNGR2= receptor de interferón gamma 2, IFNAR1= subunidad 1 del receptor de interferón alfa y beta, LOC104970778= gen ARN no caracterizado, IL10RB= subunidad beta del receptor de interleucina, IFNAR2= subunidad 2 del receptor de interferón alfa y beta, LOC526226= histona H4, OLIG1= factor de transcripción de oligodendrocitos 1, OLIG2= factor de transcripción de oligodendrocitos 2, TMEM192= proteína transmembrana 192, KLHL2= kelch de la familia 2, MSMO1= metilsterol monooxigenasa 1, CPE= carboxipeptidasa E, LOC101903170= cen ARN no caracterizado, SLC39A10= familia de portadores de soluto 39, DNAH7= cadena pesada axonemal de dineína 7, STK17B= serina/treonina quinasa 17b, LOC531691= dominio HECT, C2 y WW que contiene la proteína ligasa 2 de ubiquitina E3, LOC107131408= familia de receptores olfativos 5 subfamilia W miembro 39, LOC100125913= gen no caracterizado, LOC101902704= familia de dominios de lectina de tipo C, 7, A, FLT4= receptor relacionado con fms tirosina quinasa 4, CNOT6= subunidad 6 del complejo de transcripción CCR4-NOT, GFPT2= glutamina-fructosa-6-fosfato transaminasa 2, MAPK9= proteína quinasa 9 activada por mitógeno, RASGEF1C= miembro de la familia de dominio RasGEF 1C.

En la población de estudio, se identificaron ROH que se han mantenido como resultado del proceso de selección de la población del sistema familiar. Estas regiones conservadas, se encuentran asociaciones de marcadores tipo SNP, QTL y genes; que en su mayoría están relacionados con características de interés económico en la industria lechera, como producción y composición de la leche, parámetros de fertilidad, susceptibilidad a enfermedades, conformación corporal, eficiencia alimenticia y algunas otras características como la composición de la canal, lo que podría tomarse como huellas de selección (Cuadro

3). Estos resultados muestran los caracteres que han sido incluidos en los procesos de selección en la población; ya sea de forma intencional por la selección que realizan los ganaderos o no intencional por la disponibilidad de material genético en el mercado, ya que, al usar la IA, la elección de sementales guía al ganadero a modificar la genética de sus animales en la forma que lo hacen las empresas de IA.

## **Conclusiones e implicaciones**

El ganado productor de leche del SLF tiene orígenes ancestrales de países que son proveedores de material genético a nivel internacional, como son EE.UU. y GBR, sin mostrar evidencia de cruzamientos recientes con otras razas lecheras. Dentro de la población estudiada, se puede observar genéticamente homogénea, con una menor cantidad y longitud de ROH que los animales en sistemas especializados de producción, lo que refleja una amplia variación genética causada por una baja intensidad de selección. En este trabajo se identificaron ROH que se han mantenido como resultado del proceso de selección, que en su mayoría están relacionados con características de interés económico en la industria lechera. Los resultados de este estudio reflejan la existencia de un bajo nivel de consanguinidad en la población y una mayor diversidad genética en esta población respecto a los que se encuentran en sistemas especializados, por lo que se tiene la posibilidad de realizar trabajos de mejoramiento genético dirigidos a las características de interés de los productores a través de selección, sin que la consanguinidad comprometa la productividad y salud de la población.

## **Agradecimientos y fuente financiadora**

Proyecto financiado por INIFAP-CENIDFyMA con el nombre “Desarrollo de una estrategia integral sustentable para incrementar la disponibilidad de remplazos Holstein de buena calidad en el sistema familiar de producción de leche en México” con No SIGI: 15352034772.

## **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

## **Literatura citada:**

1. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) 2020. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>.
2. Sainz-Sánchez PA, López-González F, Estrada-Flores JG, Martínez-García CG, Arriaga-Jordán CM. Effect of stocking rate and supplementation on performance of dairy cows grazing native grassland in small-scale systems in the highlands of central Mexico. *Trop Anim Health Prod* 2017;49(1):179-186.


3. Villamar AL, Oliveira CE. Situación actual y perspectiva de la producción de leche de bovino en México. Coordinación General de Ganadería. México, DF. SAGARPA. 2005.
4. Ceballos FC, Hazelhurst S, Ramsay M. Assessing runs of Homozygosity: a comparison of SNP Array and whole genome sequence low coverage data. *BMC Genomics* 2018; 19(106):1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4489-0>.
5. Hillestad B, Woolliams JA, Boison SA, Grove H, Meuwisse T, Våge DI, *et al.* Detection of runs of homozygosity in Norwegian Red : Density, criteria and genotyping quality control. *Acta Agric Scandinavica, Section A — Anim Sci* 2018;67(3-4):107-116. <https://doi.org/10.1080/09064702.2018.1501088>.
6. Ceballos FC, Joshi PK, Clark DW, Ramsay M, Wilson JF. Runs of homozygosity: Windows into population history and trait architecture. *Nat Rev Gen* 2018b;19(4):220–234. <https://doi.org/doi:10.1038/nrg.2017.109>.
7. Rebelato AB, Caetano AR. Runs of homozygosity for autozygosity estimation and genomic analysis in production animals. *Pes Agropec Brasileira* 2018;53(9):975–984. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2018000900001>.
8. Kim ES, Sonstegard TS, Van Tassell CP, Wiggans G, Rothschild MF. The relationship between runs of homozygosity and inbreeding in Jersey cattle under selection. *PloS One* 2015;10(7):e0129967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129967>.
9. Moravčíková N, Kasarda R, Kadlečík O, Trakovická A, Halo M, Candrák, J. Runs of homozygosity as footprints of selection in the norik of muran horse genome. *Acta Univ Agric Silv Mendel Brun* 2019; 67(5): 1165–1170. <https://doi.org/10.11118/actaun201967051165>.
10. Zavarez LB, Utsunomiya YT, Carmo AS, Neves HHR, Carvalheiro R, Ferencakovic M, Garcia JF. Assessment of autozygosity in Nellore cows (*Bos indicus*) through high-density SNP genotypes. *Front Genet* 2015;5(1):1–8. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00005>.
11. Ferencaković M, Hamzić E, Gredler B, Solberg TR, Klemetsdal G, Curik I, *et al.* Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity : empirical evidence from selected cattle populations. *Anim Breed Genet* 2013;(130):286–293. <https://doi:10.1111/jbg.12012>.
12. Gurgul A, Szmatoła T, Topolski P, Jasielczuk I, Żukowski K, Bugno-Poniewierska M. The use of runs of homozygosity for estimation of recent inbreeding in Holstein cattle. *J Appl Genet* 2016;57(4):527-530.

13. Qanbari S, Simianer H. Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. *Livest Sci* 2014;(166):133-143. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.003>.
14. Elferink MG, Megens HJ, Vereijken A, Hu X, Crooijmans RP, Groenen MA. Signatures of selection in the genomes of commercial and non-commercial chicken breeds. *PLoS One* 2012;7(2):e32720. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032720>.
15. Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Bhushan B, Dutt T, Mishra BP. Selection signatures in livestock genome: A review of concepts, approaches and applications. *Livest Sci* 2020;(241): e104257. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104257>.
16. Purfield DC, Berry DP, Mcparland S, Bradley DG. Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genetics* 2012;13(70):2–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-70>.
17. Peripolli E, Munari DP, Silva MVB, Lima ALF, Irgang R, Baldi F. Runs of homozygosity: Current knowledge and applications in livestock. *Anim Gen* 2017;48(3):255-271. <https://doi.org/10.1111/age.12526>.
18. Alexander DH, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res* 2009;(19):1655–1664.
19. Li N, Stephens M. Modeling linkage disequilibrium and identifying recombination hotspots using single-nucleotide polymorphism data. *Genetics* 2003;165(12):2213–2233. <https://doi.org/10.1534/genetics.104.030692>.
20. Kirin M, McQuillan R, Franklin CS, Campbell H, McKeigue PM, Wilson JF. Genomic runs of homozygosity record population history and consanguinity. *PLoS One* 2010;5(11):e13996. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013996>.
21. Ferenčaković M, Sölkner J, Curik I. Estimating autozygosity from high-throughput information: Effects of SNP density and genotyping errors. *Genet Sel Evol* 2013; 45(1):1–9. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-42>.
22. Golden Helix I, Bozeman M. SNP & Variation Suite TM Version 8 [Software]. Golden Helix, Inc. <http://www.goldenhelix.com>. Retrieved from [https://www.goldenhelix.com/products/SNP\\_Variation/index.html](https://www.goldenhelix.com/products/SNP_Variation/index.html).
23. SAS Institute© 2019 SAS Institute Inc. Cary, NC, USA [https://www.sas.com/es\\_mx/industry/life-sciences/solution/real-world-evidence.html](https://www.sas.com/es_mx/industry/life-sciences/solution/real-world-evidence.html).
24. Cortes-Hernández JG, Ruiz-López FJ, Vásquez-Peláez CG, García-Ruiz A. Runs of homocigosity and its association with productive traits in Mexican Holstein cattle. *PLoS One* 2022;17(9):e0274743. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274743>.


25. Hu ZL, Park CA, Reecy JM. Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. *Nucleic Ac Res* 2019;47(1): D701-D710.
26. Chen N, Fu W, Zhao J, Shen J, Chen Q, Zheng Z, *et al.* BGVD: An integrated database for bovine sequencing variations and selective signatures. *Genom Proteom Bioinform* 2020;18(2):186-193.
27. Mcquillan R, Leutenegger A, Abdel-rahman R, Franklin CS, Pericic M, Barac-lauc, *et al.* Runs of homozygosity in European populations. *Am J Hum Genet* 2008;(83)e359–372. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.08.007>.
28. Cortes-Hernández J, García-Ruiz A, Vásquez-Peláez CG, Ruiz-Lopez FdJ. Correlation of genomic and pedigree inbreeding coefficients in small cattle populations. *Animals*. 2021;11(11):3234. <https://doi.org/10.3390/ani11113234>.
29. García-Ruiz A, Ruiz-López FD, Van Tassell CP, Montaldo HH, Huson HJ. Genetic differentiation of Mexican Holstein cattle and its relationship with Canadian and US Holsteins. *Front Genet* 2015;(6)7. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00007>.
30. Bjelland DW, Weigel KA, Vukasinovic N, Nkrumah JD. Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *J Dairy Sci* 2013;96(7):4697-4706.
31. Forutan M, Ansari Mahyari S, Baes C, Melzer N, Schenkel FS, Sargolzaei M. Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics* 2018;19(1):1–12. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4453-z>.
32. Marras G, Gaspa, G, Sorbolini S, Dimauro C, Ajmone-marsan P, Valentini A, *et al.* Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Anim Genet* 2014;46(2):1–12. <https://doi.org/10.1111/age.12259>.
33. Mastrangelo S, Tolone M, Gerlando RD, Fontanesi L, Sardina MT, Portolano B. Genomic inbreeding estimation in small populations: evaluation of runs of homozygosity in three local dairy cattle breeds. *Anim Consor* 2016;10(5):746–754. <https://doi.org/10.1017/S1751731115002943>.
34. Szmatoła T, Gurgul A, Ropka-Molik K, Jasielczuk I, Zabek T, Bugno-Poniewierska M. Characteristics of runs of homozygosity in selected cattle breeds maintained in Poland. *Livest Sci* 2016;(188):72–80. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.04.006>.

35. Cole JB, Wiggans GR, Ma L, Sonstegard TS, Lawlor TJ, Crooker BA, *et al.* Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary US Holstein cows. *BMC genomics* 2011;12(1):1-7.
36. Cai Z, Guldbbrandtsen B, Lund MS, Sahana G. Dissecting closely linked association signals in combination with the mammalian phenotype database can identify candidate genes in dairy cattle. *BMC Genetics* 2019;20(15):1–12.
37. Dixit SP, Singh S, Ganguly, Bhatia AK, Sharma A, Kumar NA, *et al.* Genome-wide runs of homozygosity revealed selection signatures in *Bos indicus*. *Front Genet* 2020;11(2):1–11. doi:<https://10.3389/fgene.2020.00092>.





## Efecto de diferentes protocolos de castración en indicadores productivos de cerdos: meta-análisis



---

Humberto Rafael Silva-Santos <sup>a</sup>

Francisco Ernesto Martínez-Castañeda <sup>b</sup>

Gregorio Álvarez-Fuentes <sup>c</sup>

María de la Salud Rubio-Lozano <sup>d</sup>

María Elena Trujillo-Ortega <sup>e\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal. Ciudad de México, México.

<sup>b</sup> Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Toluca, México.

<sup>c</sup> Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Instituto de Investigación en Zonas Desérticas. San Luis Potosí, México.

<sup>d</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal. Ciudad de México, México.

<sup>e</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Programa Universitario de Alimentación Sostenible. Circuito de la investigación científica s/n, Ciudad universitaria. 04510. Ciudad de México, México.

\* Autora para correspondencia: [elenam@unam.mx](mailto:elenam@unam.mx)

### Resumen:

El objetivo fue evaluar el efecto de los diferentes protocolos de castración por medio del meta-análisis de los indicadores del consumo diario de alimento, conversión alimenticia,

ganancia diaria de peso, peso al rastro, peso de la canal caliente y rendimiento de la canal. Se revisaron 179 publicaciones de tres fuentes electrónicas (Scopus, PubMed, Web of Science) en un periodo de 24 años, de las cuales se seleccionaron los 26 estudios que cumplieron con los criterios de inclusión. El efecto se analizó con seis comparaciones: C1=castración quirúrgica vs enteros; C2=inmunocastración estándar vs enteros; C3=inmunocastración estándar vs castración quirúrgica; C4= inmunocastración alternativa vs enteros; C5= inmunocastración alternativa vs castrados quirúrgicamente; y C6= inmunocastración alternativa vs inmunocastración estándar. Las medias obtenidas fueron de consumo de alimento (kg) (0.23, 0.23, -0.05, 0.32, 0.11, -0.09), de conversión alimenticia (kg:kg) (0.27, 0.05, -0.16, 0.11, 0.11, -0.19), ganancia diaria de peso (g) (-9.54, 39.08, 40.70, 107.63, -53.0, 69.14), peso de la canal (kg) (-9.54, 39.08, 40.70, 107.63, -53.0, 69.14), y peso de la canal en caliente (kg) (1.23, 0.85, 0.46, 1.03, 1.02, -0.42) respectivamente. Los indicadores de consumo de alimento, conversión alimenticia, ganancia diaria de peso, peso al rastro y peso de la canal caliente fueron diferentes ( $P<0.05$ ); solo la variable de rendimiento de la canal no mostró diferencia ( $P>0.05$ ). Se concluye que, la inmunocastración mejora el desempeño en indicadores productivos y de la canal, la castración quirúrgica mejora el rendimiento de la canal, los cerdos enteros tienen mejor conversión alimenticia, y la inmunocastración estándar y alternativa difieren en su respuesta en indicadores de producción y medición de la canal.

**Palabras clave:** Inmunocastración, GnRH, Meta-análisis, Canal, Ganadería.

Recibido: 27/02/2023

Aceptado: 18/10/2023

## Introducción

En cerdos enteros para el abasto, el sabor y olor sexual en la carne es perceptible<sup>(1)</sup>, por lo que, a edades tempranas, preferentemente se castran de forma quirúrgica, que es la técnica más utilizada y también es una técnica invasiva<sup>(2)</sup>. En la década de los años 90s se abordaron distintos métodos de castración<sup>(3)</sup>, dentro de los cuales se distinguen los resultados del efecto de la aplicación de la inmunización contra GnRH en el olor sexual, la respuesta en los indicadores productivos y de la canal<sup>(4,5)</sup>.

El protocolo de inmunización en su aplicación estándar consta de dos dosis vía subcutáneas a las 12 y 16 semanas de vida<sup>(6)</sup>. La primera permite el reconocimiento inmunológico, la producción de anticuerpos y el anclaje a los gonadotropos. La segunda dosis incrementa la

respuesta inmunológica, provocando la atrofia gonadal y eliminando la androstenona como precursor del olor sexual<sup>(7)</sup>.

Se ha reportado que, con la inmunocastración existe un incremento en la ganancia diaria de peso, mayor peso de la canal a la matanza y la reducción en espesor de grasa dorsal<sup>(8,9)</sup>, sin embargo, otros autores refieren lo opuesto al observar menor rendimiento de la canal y menor ganancia diaria de peso<sup>(10,11)</sup>.

Se han publicado estudios donde aplicaron diferentes protocolos de inmunización contra GnRH que involucran la edad, el intervalo y el número de dosis. Como resultado de estos estudios se observó mejora en la conversión alimenticia y peso de la canal en los protocolos que tuvieron intervalos de 4 y 6 semanas entre dosis<sup>(12)</sup>, mejoraron los resultados en indicadores de crecimiento en protocolos de inmunocastración tardíos y prepuberales<sup>(13)</sup>, y los protocolos de inmunización estándar y tardío tuvieron mejor eficiencia alimenticia<sup>(14)</sup>.

Los resultados de los diferentes estudios entorno a los métodos de castración, han sido analizados con la herramienta estadística de meta análisis. Ejemplo de ello se observa en el trabajo del año 2012 de Batorek *et al*<sup>(15)</sup>, donde la comparación entre la inmunocastración contra castración quirúrgica y cerdos enteros, mostró que los cerdos inmunocastrados tuvieron canales más largas en comparación con los castrados quirúrgicamente y enteros. Mayor velocidad de crecimiento y mejor conversión alimenticia que los enteros.

En otro estudio de 2018<sup>(16)</sup>, la inmunocastración en cerdos tuvo mayor ganancia diaria de peso y menor conversión alimenticia que la castración quirúrgica. Por otro lado, en cerdas inmunocastradas contra cerdas enteras, se observó mayor ganancia diaria de peso, consumo de alimento, peso al rastro y grasa dorsal<sup>(17)</sup>.

El objetivo del presente meta-análisis fue evaluar el efecto de los diferentes protocolos de castración utilizados hasta el 2020, con énfasis en el análisis de la técnica de castración, así como el efecto en la edad de aplicación del protocolo de inmunocastración y su comparación entre la aplicación estándar y alternativa de inmunización, en indicadores productivos de ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento, conversión alimenticia y la evaluación de la canal como el peso vivo a rastro, peso de la canal caliente y el rendimiento de la canal.

## **Material y métodos**

El desarrollo del presente trabajo incluyó la revisión bibliográfica de las publicaciones relacionadas a los diferentes protocolos de castración (castrados quirúrgicamente, Inmunización contra GnRH estándar e inmunocastrados alternativos) además de considerar

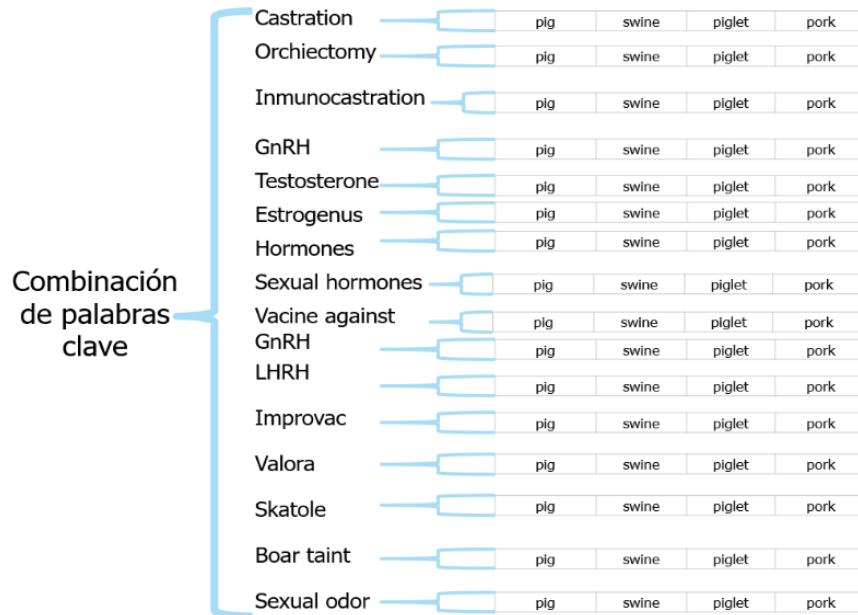
a los cerdos enteros. El procedimiento metodológico fue: búsqueda de la información; revisión sistemática; síntesis cuantitativa; categorías de análisis; y análisis estadístico.

### Búsqueda de la información

La búsqueda inició con el planteamiento y la pregunta de investigación de este trabajo, que enfocaron la revisión bibliográfica en las publicaciones que estudiaron el efecto de los protocolos de castración, quirúrgica e inmunológica, en el proceso de producción de cerdos para el abasto durante la crianza y la posterior salida de los cerdos terminados a rastro, así como la obtención y medición de la canal. La búsqueda de información fue a partir del año 1994, cuando se reportaron los primeros resultados en este tema hasta el año 2020. Para la búsqueda de los trabajos en la revisión sistemática se utilizaron los metabuscadores electrónicos Scopus, PubMed y Web of Science.

La búsqueda primaria se realizó por medio de la mezcla de palabras clave, relacionadas con el tema (Figura 1). Se realizó la segregación de las publicaciones disponibles dirigidas al campo de las ciencias biológicas, ciencias de la producción animal y ciencia y tecnología de la carne, así como la publicación de resultados, valores de media y medidas de dispersión correspondientes.

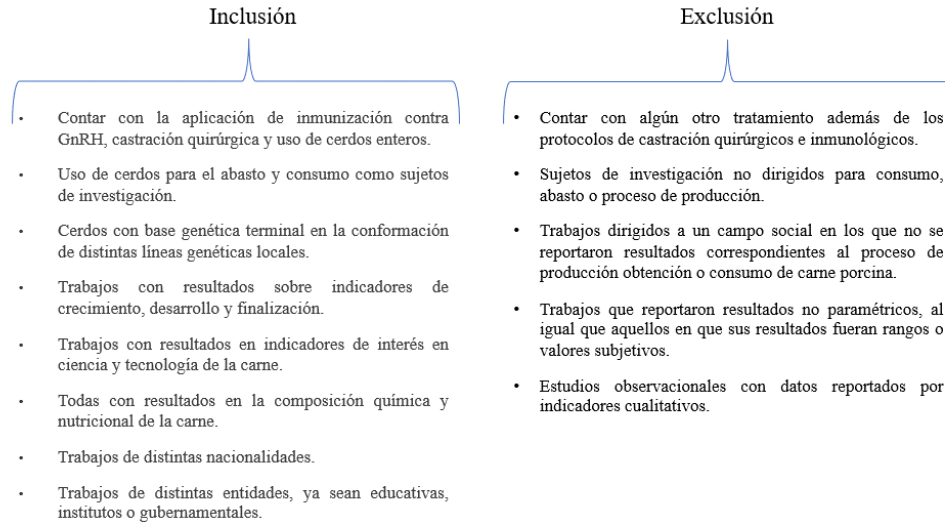
**Figura 1:** Combinaciones de palabras clave para la búsqueda de artículos



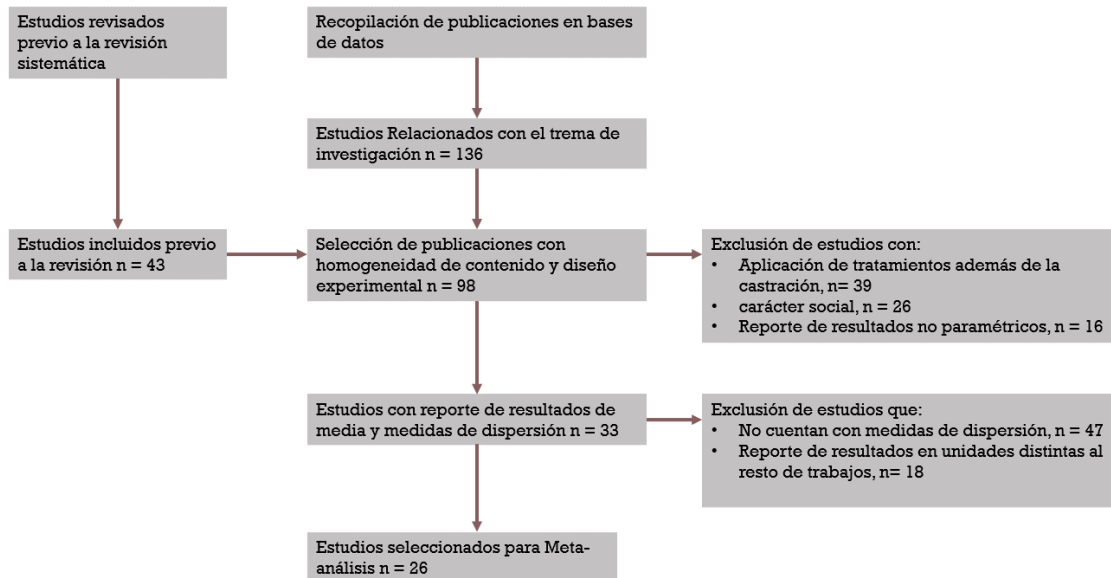
## Revisión sistemática

La selección de los trabajos se aplicó en 179 artículos, por dos miembros de equipo, donde se determinaron los criterios de selección y exclusión de los artículos, a partir del planteamiento y pregunta de investigación iniciales (Figura 2). Ya establecidos dichos criterios, el proceso de selección resultó en 26 artículos para su análisis (Figura 3).

**Figura 2:** Criterios de inclusión y exclusión para la selección de artículos



**Figura 3:** Flujo de selección de la información



## Síntesis cuantitativa

En el Cuadro 1, se presentan las características en técnica y método de castración de los trabajos incluidos para el análisis.

**Cuadro 1:** Detalles de las publicaciones seleccionadas para el análisis estadístico

<b>Autor</b>	<b>Genética</b>	<b>Sexo</b>	<b>Grupo experimental</b>
Andersson <i>et al</i> <sup>(19)</sup>	Yorkshire x Landrace	m, h	Q, Ie, Ia, E
Bonneau <i>et al</i> <sup>(3)</sup>	Large white x Pietrain	h	Q, Ie, E
Channon <i>et al</i> <sup>(20)</sup>	Large White x (Landrace x Duroc x Largewhite)	m	Ie, E
Daza <i>et al</i> <sup>(11)</sup>	Duroc x (Landrace x Large white)	m, h	Q, Ie, E
Di Martino <i>et al</i> <sup>(21)</sup>	Terminal	h	Ie, E
Dunsha <i>et al</i> <sup>(8)</sup>	Large white x Landrace	m	Q, Ie, Ia, E
Font <i>et al</i> <sup>(22)</sup>	Terminal	m, h	Q, Ie, E
Galleos <i>et al</i> <sup>(23)</sup>	Terminal	m	Ie, Ia
Gamero <i>et al</i> <sup>(24)</sup>	Ibérico x Duroc	h	Q, Ie, E
Gogic <i>et al</i> <sup>(25)</sup>	Swallow-bellied Mangalitsa	m	Ie, E
Grela <i>et al</i> <sup>(9)</sup>	Polish Zloynika	m	Q, Ie, Ia, E
Laelifano <i>et al</i> <sup>(12)</sup>	Large White x Landrace	m	Ie, Ia, E
Morales <i>et al</i> <sup>(26)</sup>	Terminal	m	Q, Ie, E
Oliviero <i>et al</i> <sup>(27)</sup>	Landrace	m	Q, E,
Pauly <i>et al</i> <sup>(28)</sup>	Large white	m	Q, Ie, E
Rikard-Bell <i>et al</i> <sup>(29)</sup>	Terminal	m	Ie, E
Rodriguez <i>et al</i> <sup>(30)</sup>	Terminal	h	Ie, E
Skrepl <i>et al</i> <sup>(31)</sup>	Cerdos gordos eslovacos x Duroc	m	Q, Ie, E
Skrepl <i>et al</i> <sup>(32)</sup>	Large white x Landrace x Duroc	m	Q, Ie, E
Stupka <i>et al</i> <sup>(33)</sup>	Duroc x (large White x landrace)	m, h	Q, Ie, E
Turkstra <i>et al</i> <sup>(10)</sup>	(Deutch Landrace x Finnish Landrace) x Large White	m	Q, Ie, Ia, E
Van den Broeke <i>et al</i> <sup>(34)</sup>	Terminal	m, h	Q, Ie, Ia, E
Weiler <i>et al</i> <sup>(35)</sup>	Terminal	m, h	Q, Ie, E
Yuan <i>et al</i> <sup>(36)</sup>	Duroc (Landrace x LargeWhite)	m	Q, Ie
Zoels <i>et al</i> <sup>(14)</sup>	Piértrain x Large White x Landrace	m	Q, Ie, Ia, E

\*sexo: m=machos, h=hembras; Grupo experimental: Q= castración quirúrgica, Ie= inmunocastración estándar, Ia= inmunocastración alternativa; E=enteros.

Los grupos para el análisis fueron:

Enteros: cerdos que permanecieron sin ningún tipo de intervención durante el periodo de producción.

Castración quirúrgica: cerdos a los que se les retiraron los testículos de forma quirúrgica, antes de los 7 días de vida.

Inmunocastración estándar: cerdos a los que se les aplicó el protocolo de inmunización según lo indicado por el fabricante, dos dosis vía subcutánea, alrededor de las 12 y 16 semanas de vida.

Inmunocastración alternativa: cerdos a los que se aplicó el protocolo de inmunización a edades distintas a la estándar o con un intervalo mayor entre cada dosis.

### **Categorías de análisis**

El análisis de la información se dividió en dos momentos:

- a) Periodo de producción: descrito por los indicadores de consumo de alimento, el índice de conversión alimenticia y la ganancia diaria de peso.
- b) Proceso de medición de la canal: descrito por los indicadores de peso al rastro, peso de la canal caliente y rendimiento de la canal.

De la identificación y descripción de las categorías de análisis se establecieron las siguientes comparaciones para el análisis de la información en cada uno de los indicadores mencionados:

C1: castración quirúrgica vs enteros.

C2: inmunocastración estándar vs enteros.

C3: inmunocastración estándar vs castración quirúrgica.

C4: inmunocastración alternativa vs enteros.

C5: inmunocastración alternativa vs castración quirúrgica.

C6: inmunocastración alternativa vs inmunocastración estándar.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico utilizado para síntesis de resultados de diferentes estudios sobre el efecto los protocolos de castración de los indicadores del periodo productivo y del proceso de medición de la canal, se realizó usando el software NCSS® (NCSS Statistical System for Windows, Kaysville, UT: Number Cruncher Statistical Systems, 2021), obteniendo medias de dispersión a partir de los valores de medias, desviación estándar y número de observaciones de cada indicador bajo estudio, se aplicó un modelo de efectos aleatorios,

donde se probaron la hipótesis de heterogeneidad, la diferencia estándar media del efecto, su intervalo de confianza ( $\alpha= 0.05$ ), la decisión se respaldó por pruebas de Ji cuadrada<sup>(18)</sup>.

## **Resultados**

El Cuadro 2 muestra las comparaciones, el resultado de las diferencias de medias se orienta al primer protocolo de análisis de cada una de ellas.

### **Indicadores del periodo de producción**

Para el indicador de consumo de alimento se observó que los protocolos de inmunocastración alterno (C4 y C5), castrados quirúrgicos (C1 y C3) e inmunización estándar (C2 y C6), obtuvieron el mayor consumo de alimento (Cuadro 2). Los animales dentro de los dos protocolos de inmunización tuvieron mayor consumo que los castrados (C3 y C5). Finalmente, entre los protocolos de inmunización, el estándar fue el que presentó mayor consumo.

Para la conversión alimenticia (Cuadro 2), el protocolo de cerdos enteros obtuvo el mejor valor (C1, C2 y C4), seguido de la inmunocastración estándar (C3 y C6) y el protocolo de castración quirúrgico (C5).

La ganancia diaria de peso (Cuadro 2), el protocolo de inmunización estándar presentó mejor resultado (C2, C3 y C6), seguido por el protocolo de inmunización alterno (C4 y C5) y los cerdos enteros (C1).

### **Indicadores del proceso de medición de la canal**



**Cuadro 2:** Resultados del análisis de los indicadores por cada comparación

<b>C1 Castración quirúrgica vs enteros</b>					<b>C4 Inmunocastración alternativa vs enteros</b>				
Variable	n	Diferencia de medias ± SE	Límites de coeficientes (95%)	P	Variable	n	Diferencia de medias ± SE	Límites de coeficientes (95%)	P
Consumo de alimento, kg	16	0.23 ± 0.03	(0.16; 0.29)	0.01	Consumo de alimento, kg	8	0.32 ± 0.09	(0.13; 0.51)	0.01
Conversión alimenticia, kg:kg	13	0.27 ± 0.04	(0.20; 0.34)	0.01	Conversión alimenticia, kg:kg	5	0.11 ± 0.15	(-0.18; 0.40)	0.01
Ganancia diaria de peso, g	15	-9.54 ± 16.62	(-42.12; 23.03)	0.01	Ganancia diaria de peso, g	8	107.63 ± 58.75	(-7.52; 222.78)	0.01
Peso al rastro, kg	14	4.11 ± 3.35	(-2.45; 10.68)	0.01	Peso al rastro kg	5	0.09 ± 1.36	(-2.56; 2.76)	0.01
Peso canal caliente, kg	17	1.23 ± 0.51	(0.22; 2.24)	0.01	Peso canal caliente, kg	6	1.03 ± 0.86	(-0.66; 2.72)	0.01
Rendimiento canal, %	9	0.33 ± 0.52	(-0.69; 1.35)	0.97	Rendimiento canal %	6	-0.22 ± 0.63	(-1.46; 1.01)	0.94
<b>C2 Inmunocastración estándar vs enteros</b>					<b>C5 Inmunocastración alternativa vs castración quirúrgica</b>				
Consumo de alimento, kg	17	0.23 ± 0.08	(0.08; 0.38)	0.01	Consumo de alimento, kg	5	0.11 ± 0.12	(-0.13; 0.34)	0.01
Conversión alimenticia, kg:kg	15	0.05 ± 0.04	(-0.0; 0.13)	0.01	Conversión alimenticia, kg:kg	5	-0.19 ± 0.14	(-0.56; 0.08)	0.01
Ganancia diaria de peso, g	21	39.08 ± 11.37	(16.79; 61.34)	0.01	Ganancia diaria de peso, g	6	69.14 ± 32.67	(5.10; 133.18)	0.01
Peso al rastro, kg	21	1.24 ± 0.59	(0.07; 2.42)	0.01	Peso al rastro, kg	7	1.28 ± 0.50	(0.29; 2.27)	0.01
Peso canal caliente, kg	25	0.85 ± 0.47	(-0.06; 1.76)	0.01	Peso canal caliente, kg	7	-0.42 ± 0.44	(-1.28; 0.44)	0.01
Rendimiento canal, %	12	-0.68 ± 0.46	(-1.58; 0.22)	0.99	Rendimiento canal, %	4	-0.10 ± 0.75	(-1.58, 1.37)	0.89
<b>C3 Inmunocastración estándar vs castración quirúrgica</b>					<b>C6 Inmunocastración alternativa vs inmunocastración estándar</b>				
Consumo de alimento, kg	12	-0.05 ± 0.07	(-0.19; 0.09)	0.01	Consumo de alimento, kg	6	- 0.09 ± 0.11	(-0.31; 0.12)	0.01

Conversión alimenticia, kg:kg	10	$-0.16 \pm 0.03$	(-0.23; -0.09)	0.01	Conversión alimenticia, kg:kg	7	$0.11 \pm 0.07$	(-0.03; 0.24)	0.01
Ganancia diaria de peso, g	14	$40.70 \pm 12.18$	(17.03; 64.77)	0.01	Ganancia diaria de peso, g	1	$-53.00 \pm$	(-100.66; -	0.01
Peso al rastro, kg	14	$1.21 \pm 0.53$	(0.16; 2.25)	0.01	Peso al rastro, kg	2	24.32	5.34)	0.01
Peso canal caliente, kg	17	$0.46 \pm 0.69$	(-0.90; 1.81)	0.01	Peso canal caliente, kg	9	$0.47 \pm 2.07$	(-3.58; 4.53)	0.01
Rendimiento canal, %	9	$-0.66 \pm 0.52$	(-1.68; 0.35)	0.45	Rendimiento canal, %	9	$1.02 \pm 1.67$	(-2.25; 4.30)	0.01
						9	$0.29 \pm 0.52$	(-0.72; 1.31)	0.76

El peso final mostró indicadores favorables para la inmunización alternativa en C4, C5 y C6 (Cuadro 2), seguido por la Inmunización estándar en C2 y C3, y la castración quirúrgica (C1). Al analizar el peso de la canal caliente el mayor peso se observó en el protocolo de inmunización estándar (C2 y C3), seguido por el protocolo de inmunización alternativo (C4 y C6), y la castración quirúrgica (C1 y C5).

Contrario al peso final y al peso de la canal caliente, la respuesta observada en el análisis de rendimiento de la canal mostró que el protocolo de castración quirúrgica obtuvo mayor porcentaje en C1, C3 y C5. Por otro lado, los cerdos enteros muestran mayor rendimiento en C2 y C4, dejando únicamente al protocolo de Inmunización alternativa con indicador favorable en C6.

Las figuras 4 y 5 representan el comportamiento heterogéneo ( $P < 0.05$ ) en el análisis del protocolo de inmunización alternativo en C4, C5 y C6. En ambos casos se observa incremento en resultados favorables a la aplicación la inmunización alternativa.

## Discusión

La respuesta de los indicadores analizados se explica a partir de los resultados de un animal entero, considerado como el ideal productivo por sus cualidades metabólicas y el efecto sobre la canal<sup>(37)</sup>.

### Indicadores del periodo de producción

#### Consumo de alimento

La cantidad de alimento consumido está regulado por el centro de saciedad, el cual responde a las concentraciones séricas de leptinas, producidas por los adipocitos. Diversos factores pueden modificar el consumo como son: la presentación y formulación del alimento, el estado físico y fisiológico del individuo, y la actividad física y social dentro del grupo<sup>(38)</sup>.

Considerando que el estado físico y fisiológico del animal modifica el consumo de alimento, la castración quirúrgica o la inmunocastración son protocolos que alteran este indicador, siendo que la castración quirúrgica incrementa el consumo, debido al incremento de la concentración sérica de leptinas, 2.97 ng/ml, por la redistribución e incremento del tejido adiposo tras el retiro de las gónadas<sup>(39,40)</sup>, las cuales saturan e inhiben el centro de saciedad ubicado en sistema nervioso central<sup>(41)</sup>. En cerdos inmunocastrados las concentraciones séricas de leptinas se mantienen similares a las de los cerdos enteros (2.68 ng/ml), por lo que la saciedad no se ve alterada<sup>(15)</sup>.

Así mismo, la interrupción del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal al retirar las gónadas afecta los hábitos de consumo y saciedad que también se ven influenciados por hormonas sexuales, en especial los estrógenos, los cuales al retirar los testículos no se aromatizan quedando el estrógeno producido por el tejido adiposo en bajas concentraciones, 0.34 pg/ml, mostrando resistencia a la glucosa y mayor consumo de alimento<sup>(42)</sup>. La concentración de estradiol disminuye en cerdos inmunizados, 0.37 pg/ml, sin embargo, su efecto puede variar dependiendo de la edad en que se aplique la segunda dosis<sup>(43)</sup>.

Otro elemento a considerar es la actividad física y social dentro del grupo, la cual modifica el consumo, donde los cerdos enteros muestran mayor actividad sexual, dominancia y competitividad por el alimento, lo que reduce el consumo<sup>(37)</sup>. La inmunocastración y castración quirúrgica disminuyen la presencia de andrógenos, reduciendo la actividad sexual y de dominancia en los cerdos, dentro de ellos los cerdos inmunocastrados incrementan su consumo<sup>(15)</sup>.

Con respecto a los protocolos de inmunización, los estudios no reportan diferencias, contrario a lo expuesto en este trabajo, donde la variabilidad en el momento de aplicación de las inmunizaciones alternativas puede alterar la respuesta de consumo<sup>(23)</sup>.

### **Conversión alimenticia**

La mejor conversión alimenticia se establece como la que tiene el menor consumo de alimento en relación con la producción de un kilogramo de carne; entre los factores que la pueden modificar se tienen al estado físico y fisiológico del cerdo.

La somatotropina es uno de los elementos requeridos para el desarrollo muscular, la cual es alterada si el estado físico cambia<sup>(41)</sup>, esto debido a la reducción sérica de IGF-1 en cerdos castrados a 256 ng/ml, relacionado con la reducción de estradiol, alterando los mecanismos de crecimiento y desarrollo muscular<sup>(43)</sup>. En cerdos inmunizados la concentración de IGF-1 llega a 332 ng/ml, en comparación a valores en cerdos enteros, 459 ng/ml<sup>(43)</sup>.

En la segunda dosis en el protocolo de inmunización alternativa tardía, el valor de la conversión alimenticia incrementa, por lo que la edad de aplicación es un factor relevante al permitir que los mecanismos fisiológicos permanezcan durante más tiempo<sup>(15,44)</sup>.

### **Ganancia diaria de peso**

Los mecanismos y estado fisiológicos, la actividad física y social de los cerdos son algunos de los factores que influyen en la ganancia de peso. El aprovechamiento de los nutrientes en la dieta promueve el crecimiento y desarrollo de los tejidos, ejemplo de ello son las masas musculares que responden a la presencia de lisina, con una retención de nitrógeno en músculo de 31.24 g/día<sup>(45,46)</sup>. La castración quirúrgica permite retención del 25.51 g/día de nitrógeno, mientras que en cerdos inmunocastrados retienen 22.95 g/día<sup>(45,47,48)</sup>.

La actividad física de los cerdos enteros es más dinámica considerando la jerarquización dentro de los grupos, así como la competencia en consumo de alimento, considerando además que, al acercarse la edad de pubertad, la incidencia de las agresiones incrementa<sup>(37)</sup>.

En el caso de los cerdos castrados quirúrgicamente la actividad física y demanda energética es menor, sin embargo, la competencia por el consumo de alimento prevalece y en algunos casos incrementa debido a la alteración en los centros de saciedad. En cerdos inmunizados el incremento en este indicador responde a la reducción de agresiones y actitudes de dominancia entre los cerdos, permitiendo un consumo homogéneo de alimento y así como una menor necesidad de sanar heridas y lesiones<sup>(41)</sup>.

## **Indicadores del proceso de medición de la canal**

### **Peso al rastro**

Al terminar el ciclo de producción, el peso final de los animales dependerá del estado físico y la edad de matanza; cabe resaltar que el resultado está relacionado con el índice de conversión alimenticia y la ganancia diaria de peso, así como los mecanismos metabólicos de estos indicadores. El ciclo productivo de los cerdos para el abasto suele durar aproximadamente de entre 20 a 22 semanas, es en este periodo que el cerdo entero alcanza un peso promedio de 110 kg, atribuido a su eficiencia metabólica, considerando que gran parte de este valor corresponde a masa muscular<sup>(38)</sup>.

Los cerdos bajo protocolo de castración quirúrgica incrementan el peso al final, por la redistribución y crecimiento del tejido adiposo, en especial la grasa subcutánea<sup>(49)</sup>. El peso de los cerdos inmunocastrados involucra un desarrollo muscular similar al de los cerdos enteros, una mayor cobertura grasa sin alcanzar las del protocolo de castración quirúrgica, un consumo homogéneo de alimento, aprovechamiento metabólico y mayor ganancia de peso por el comportamiento dócil<sup>(41)</sup>.

### **Peso de canal caliente**

Tras la matanza, el proceso de retiro de la cabeza y las vísceras se obtiene la canal, el peso está conformado por la morfología del cerdo, así como cantidad de grasa que contiene y su relación con los músculos. La canal de los cerdos enteros es más magra al contar con poca grasa de cobertura e intermuscular, además de la reducción del 1.4 % de peso correspondiente a los testículos<sup>(50)</sup>, lo que coincide con los resultados de meta-análisis del año 2012<sup>(15)</sup>.

En las canales de cerdos castrados quirúrgicamente, la cantidad de grasa de cobertura e intermuscular aumentan el peso, además de que la diferencia del peso final no se ve afectada por el retiro del aparato reproductor<sup>(41)</sup>.

En cerdos inmunizados la cobertura de grasa es mayor a la de los cerdos enteros y menor a la de cerdos castrados quirúrgicamente, tienen mejor respuesta metabólica después de la segunda dosis y permite el crecimiento y desarrollo muscular de forma similar a la que lo hace un cerdo entero<sup>(51)</sup>. Los protocolos de inmunización alternativos tienen mejor respuesta sobre todo en inmunización tardía o con un intervalo mayor entre la primer y segunda dosis<sup>(19)</sup>.

### **Rendimiento de la canal**

La relación entre el peso vivo y el peso de la canal, así como el número de cortes que se pueden obtener y el peso de estos, determinan el rendimiento de la canal, que se ve influenciado por la cantidad de grasa inter e intramuscular, así como la relación entre el volumen de las piezas cárnicas y grasa de cobertura<sup>(52)</sup>. Hay que considerar que algunos factores externos pueden influir en la expresión porcentual del rendimiento como lo son el ayuno previo a la matanza, el transporte y la duración de trayecto.

En el caso de los cerdos castrados quirúrgicamente hay mayor contenido de tejido adiposo intermuscular, dando mayor peso a los cortes a pesar de que el número de cortes en cerdos enteros es mayor por la longitud de la canal<sup>(53)</sup>.

Los cerdos inmunizados de ambos protocolos de aplicación, el volumen cárnico es menor en comparación de cerdos enteros, así como al conjunto de carne y grasa intermuscular desarrollada en los castrados quirúrgicos, por lo que su rendimiento es menor<sup>(15,16)</sup>.

## **Conclusiones e implicaciones**

En conclusión, el meta-análisis de diferentes protocolos de castración en cerdos, bajo condiciones experimentales muestra que los cerdos inmunocastrados, en protocolo de aplicación estándar y alternativo, son más eficientes en los indicadores de consumo y ganancia de peso, así como el peso vivo y de la canal caliente. Se observa mayor rendimiento de la canal en el protocolo de castración quirúrgica. Los cerdos enteros tienen mejor conversión alimenticia. Existen diferencias entre la inmunización estándar y la alternativa en los indicadores de producción y medición de la canal.

Es importante considerar que la edad de la inmunocastración modifica los resultados en los indicadores productivos. Los protocolos de castración exhiben diferentes efectos en la producción porcina, dependiendo del tipo y la edad en la que estos se apliquen. La ausencia de hormona liberadora de gonadotropinas y la concentración de andrógenos modifican la respuesta fisiológica del desempeño productivo. La inmunocastración estándar mejora la respuesta de los rasgos del proceso de producción porcina. La inmunocastración alternativa

mejora la respuesta de los rasgos de la canal. El protocolo alternativo de inmunocastración requiere de más investigación con respecto a la edad de aplicación y los efectos a obtener.

### **Agradecimientos y conflictos de interés**

Este estudio forma parte del proyecto de tesis doctoral de Humberto R. Silva Santos, como parte del programa de Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, de la Universidad Nacional Autónoma de México. El financiamiento se realizó con el proyecto PAPIIT. IN216921. No existe conflicto de intereses por parte de los autores. Al CONAHCyT, por la beca de estudios otorgada para sus estudios.

### **Literatura citada:**

1. Mainau E, Tample D, Manteca X. Efecto de la castración en el bienestar del ganado porcino. FAWEC 2013;5):<http://www.fawec.org/es/fichas-tecnicas/22-ganado-porcino/17-efecto-de-lacastracion-en-el-bienestar-del-ganado-porcino>. Consultado 12 Ene, 2023.
2. Llamas MS, Boyle LA, Lynch PB, Arkins S. Effect of surgical castration on the behavioural and acute phase responses of 5-day-old piglets. *Appl Anim Behav Sci* 2008;(111):133–145.
3. Bonneau M, Dufour R, Chouvet C, Roulet C, Meadus W, Squires EJ. The effects of immunization against luteinizing hormone-releasing hormone on performance, sexual development, and levels of boar taint-related compounds in intact male pigs. 1. *J Anim Sci* 1994;(72):14–20.
4. Deslandes B, Garie C, Houde A. Review of microbiological and biochemical effects of skatole. *Livest Prod Sci* 2001;(71):193–200.
5. Hennessy D, Ma C, Liu Z, Wu Q, Yang H. The growth performance of male pigs vaccinated with the boar taint vaccine, Improvac® and the effects on boar taint assessment. *Proceedings of the 55th International Congress of Meat Science and Technology*. Copenhagen, Denmark. 2009.
6. Pfizer. Technical bulletin. Pfizer 2008.
7. Brunius C, Zamaratskaia G, Andersson K, Chenc G, Norrby M, Madej A, *et al*. Early immunocastration of male pigs with Improvac® – Effect on boar taint, hormones and reproductive organs. *Vaccine* 2011;(29):9514– 9520.
8. Dunshea FR, Colantoni C, Howard K, McCauley I, Jackson P, Long KA, *et al*. Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *J Anim Sci* 2000;(78):2524–2535.

9. Grela ER, Kowalczyk-vasilev E, Florek M, Kosior-korzecka U, Ska P. An attempt of implementation of immunocastration in swine production—Impact on meat physicochemical quality and boar taint compound concentration in the meat of two native pig breeds. *Livest Sci* 2020;(232):103905.
10. Turkstra JA, Zeng XY, Diepen JTM, Van-Jongbloed AW, Oonk HB, Van-de-Wiel DFM, *et al.* Performance of male pigs immunised against GnRH is related to the time of onset of biological response. *J Anim Sci* 2002;(80):2953–2959.
11. Daza A, Latorre MA, Olivares A, López Bote CJ. The effects of male and female immunocastration on growth performances and carcass and meat quality of pigs intended for dry-cured ham production: A preliminary study. *Livest Sci* 2016:20-26.
12. Lealiifano AK, Pluske JR, Nicholls RR, Dunshea FR, Campbell RG, Hennessy DP, *et al.* Reducing the length of time between slaughter and the secondary gonadotropin-releasing factor immunization improves growth performance and clears boar taint compounds in male finishing pigs. *J Anim Sci* 2011;89(9):2782–2792.
13. Dunshea FR, Colantoni C, Howard K, McCauley I, Jackson P, Long KA, *et al.* Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. *J Anim Sci* 2000;(78):2524–2535.
14. Zoels S, Reiter S, Ritzmann M, Weiß C, Numberger J, Schütz A, *et al.* Influences of immunocastration on endocrine parameters, growth performance and carcass quality, as well as on boar taint and penile injuries. *Animals* 2020;(10):346.
15. Batorek N, Čandek-Potokar M, Bonneau M, Van Milgen J. Meta-analysis of the effect of immunocastration on production performance, reproductive organs and boar taint compounds in pigs. *Animal* 2012;6(8):1330–1338.
16. Poulsen Nautrup B, Van Vlaenderen I, Aldaz A, Mah CK. The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor on growth performance, carcass characteristics and boar taint relevant to pig producers and the pork packing industry: A meta-analysis. *Res Vet Sci* 2018;(119):182–195.
17. Poulsen Nautrup B, Van Vlaenderen I, Mah CK. The effect of immunization against gonadotropin-releasing factor in market gilts: Meta-analyses of parameters relevant for pig producers, pork packers and retailers/consumers. *Res Vet Sci* 2020;(131):159–172.
18. NCSS. Meta-analysis of means, Chapter 455. NCSS Statistical Software NCSS.com. 2022.




19. Andersson K, Brunius C, Zamaratskaia G, Lundström K. Early vaccination with Improvac®: Effects on performance and behaviour of male pigs. *Animal* 2012;(6):87–95.
20. Channon HA, D'souza DN, Dunshea FR. Validating post-slaughter interventions to produce consistently high quality pork cuts from female and immunocastrated male pigs. *Meat Sci* 2018;(142):14-22.
21. Di Martino G, Scollo A, Garbo A, Lega F, Stefani AL, Vascellari M, *et al.* Impact of sexual maturity on the welfare of immunocastrated vs entire heavy female pigs. *Animal* 2018;l(12-8):1631-1637.
22. Font M, García JA, Díaz I, Hortós M, Velarde A, Oliver MA, *et al.* Efecto de la inmunocastración de cerdos en las características de calidad de canal y carne, los niveles de androstenona y escatol y la composición en ácidos grasos. *Mundo Ganadero* 2009.
23. Gallegos-Lara R, Alarcón-Rojo A, García-Galicia I, Gamboa-Alvarado J, Santellano-Estrada E. Comportamiento productivo, características de la canal y calidad de la carne de cerdos inmunocastrados a diferente edad. *Interciencia* 2015;40(8):554-559.
24. Gamero-Negrón R, Sánchez del Pulgar J, García C. Immune-spaying as an alternative to surgical spaying in Iberian × Duroc females: Effect on quality characteristics and fatty acid profile in dry-cured shoulders and loins. *Meat Sci* 2015;(104):52–57.
25. Gogić M, Radović Č, Čandek-Potokar M, Petrović M, Radojković D, Parunović N, *et al.* Effect of immunocastration on sex glands of male Mangulica (Swallow-bellied Mangalitsa) pigs. *Rev Bras Zootec* 2019;(48):e20180286.
26. Morales JI, Serrano MP, Cámara L, Berrocoso JD, López JP, Mateos GG. Growth performance and carcass quality of immunocastrated and surgically castrated pigs from crossbreds from Duroc and Pietrain sires. *J Anitn Sei* 2013;(91):3955-3964.
27. Oliviero C, Ollila A, Andersson M, Heinonen M, Voutilala L, Serenius T, *et al.* Strategic use of anti-GnRH vaccine allowing selection of breeding boars without adverse effects on reproductive or production performances. *Theriogenology* 2016;85(3):476-482.
28. Pauly C, Spring P, O'doherty JV, Kragten SA, Bee G. Growth performance, carcass characteristics and meat quality of group-penned surgically castrated, immunocastrated (Improvac®) and entire male pigs and individually penned entire male pigs. *Animal* 2009;3(7):1057-1066.
- 29 Rikard-Bell C, Curtis MA, Van-Barneveld RJ, Mullan BP, Edwards AC, Gannon NJ, *et al.* Ractopamine hydrochloride improves growth performance and carcass composition in immunocastrated boars, intact boars, and gilts. *J Anim Sci* 2009;87(11):3536-3543.


30. Rodrigues LA, Almeida FRCL, Peloso JV, Ferreira FNA, Allison J, Fontes DO. The effects of immunization against gonadotropin-releasing hormone on growth performance, reproductive activity and carcass traits of heavy weight gilts. *Animal* 2019;13(6):1326-1331.
31. Škrlep M, Segula B, Prevolnik M, Kirbis A, Fazarinc G, Candek-Potokar M. Effect of immunocastration (Improvac) in fattening pigs II: Carcass traits and meat quality. *Slov Vet Res* 2010;(47):65–72.
32. Škrlep M, Batorek N, Bonneau M, Prevolnik M, Kubale V, Čandek-Potokar M. Effect of immunocastration in group-housed commercial fattening pigs on reproductive organs, malodorous compounds, carcass and meat quality. *Czech J Anim Sci* 2012;(57):290–299.
33. Stupka R, Čítek J, Vehovský K, Zadinová K, Okrouhlá M, Urbanová D, *et al.* Effects of immunocastration on growth performance, body composition, meat quality, and boar taint. *Czech J Anim Sci* 2017;62(6):249-258.
34. Van-den-Broeke A, Leen F, Aluwé M, Ampe B, Van Meensel J, Millet S. The effect of GnRH vaccination on performance, carcass, and meat quality and hormonal regulation in boars, barrows, and gilts. *J Anim Sci* 2016;94(7):2811-2820.
35. Weiler U, Götz M, Schmidt A, Otto M, Müller S. Influence of sex and immunocastration on feed intake behavior, skatole and indole concentrations in adipose tissue of pigs. *Animal* 2013;7(2):300-308.
36. Yuan YL, Li JL, Zhang WH, Li C, Gao F, Zhou GH. A comparison of slaughter performance and meat quality of pigs immunised with a gonadotrophin-releasing factor vaccine against boar taint with physically castrated pigs. *Animal Prod Sci* 2012;52(10):911-916.
37. Bee G, Chevillon P, Bonneau M. Entire male pig production in Europe. *Anim Prod Sci* 2015;55(12):1347-1359.
38. Xue JL, Dial GD, Pettigrew JE. Performance, carcass, and meat quality advantages of boars over barrows: A literature review. *J Swine Health Prod* 1997;(1):21-28.
39. Fettman MJ, Stanton CA, Banks LL, Hamar DW, Johnson DE, Hegstad RL, *et al.* Effects of neutering on bodyweight, metabolic rate and glucose tolerance of domestic cats. *Res Vet Sci* 1997;(62):131–136.
40. Laflamme DP. Understanding and managing obesity in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim. Pract* 2006;36(6):1283–1295.

41. Bonneau M, Weiler U. Pros and cons of alternatives to piglet castration: welfare, boar taint, and other meat quality traits. *Animals* 2019;9(11):884.
42. Cooke PS, Nanjappa MK, Ko C, Prins GS, Hess RA. Estrogens in male physiology. *Physiol Rev* 2017;97(3):995–1043.
43. Brunius C, Zamaratskaia G, Andersson K, Chenc G, Norrby M, Madej A, *et al.* Early immunocastration of male pigs with Improvac® – Effect on boar taint, hormones and reproductive organs. *Vaccine* 2011;(29):9514–9520.
44. EFSA. Welfare aspects of the castration of piglets. Scientific Report of the Scientific Panel for Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of the castration of piglets. European Food Safety Authority AHAW/04-087, 2004.
45. Metz C, Hohl K, Waidelich S, Drochner W, Claus R. Active immunization of boars against GnRH at an early age: consequences for testicular function, boar taint accumulation and N-retention. *Livest Prod Sci* 2002;74(2):147–157.
46. Aymerich P, Tokach MD, Dritz SS, Gasa J, Coma J, Solà-Oriol D. Lysine requirements of finishing boars and gilts: A meta-analysis. *Animal* 2021;15(5):100218.
47. Lundström K, Matthews KR, Haugen J. Pig meat quality from entire males. *Animal* 2009;(3):1497–1507.
48. Van den Broeke A, Aluwé M, Kress K, Stefanski V, Škrlep M, Batorek N, *et al.* Effect of dietary energy level in finishing phase on performance, carcass and meat quality in immunocastrates and barrows in comparison with gilts and entire male pigs. *Animal* 2022;16(1):100437.
49. Huber L, Squires EJ, Mandell IB, de Lange CFM. Age at castration (surgical or immunological) impacts carcass characteristics and meat quality of male pigs. *Animal* 2017;12(03):648–656.
50. Morales J, Gispert M, Hortos M, Pérez J, Suárez P, Piñeiro C. Evaluation of production performance and carcass quality characteristics of boars immunized against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) compared with physically castrated male, entire male and female. *Span J Agric Res* 2010;(8):599–606.
51. Pauly C, Luginbühl W, Ampuero S, Bee G. Expected effects on carcass and pork quality when surgical castration is omitted—Results of a meta-analysis study. *Meat Sci* 2012;(92):858–862.
52. USDA. User’s guide to USDA’s pork carcass cutout. United States Department of Agriculture, Agricultural marketing service. January, 2022.

53. Ray FK. Pork carcass evaluation and procedures. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. 2004.



## Acumulación de materia seca, rendimiento y calidad nutricional del forraje de híbridos de maíz cosechados a diferentes días después de la siembra



Diego Eduardo Ramírez Gutiérrez <sup>a</sup>

José de Jesús Olmos Colmenero <sup>a</sup>

Alfonso Peña Ramos <sup>b</sup>

Juan Isidro Sánchez Duarte <sup>c</sup>

Ernesto Medina Núñez <sup>d</sup>

Silviano Gallardo Ramírez <sup>e</sup>

Omar Iván Santana <sup>b\*</sup>

<sup>a</sup> Centro Universitario de los Altos – Universidad de Guadalajara. Jalisco, México.

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) – Campo Experimental Pabellón. Aguascalientes, México.

<sup>c</sup> INIFAP – Campo Experimental La Laguna. Coahuila, México.

<sup>d</sup> Escuela Nacional de Lechería Sustentable SPR de RL. Jalisco, México.

<sup>e</sup> Proteína Animal S. A. de C.V. San Juan de los Lagos, Jalisco, México.

\*Autor de correspondencia: [santana.omar@inifap.gob.mx](mailto:santana.omar@inifap.gob.mx)

### Resumen:

El objetivo fue evaluar la acumulación de materia seca (MS) por componente, rendimiento y composición nutricional del forraje de cuatro híbridos de maíz cosechados a 121, 128, 135 y 142 días después de la siembra. En cada cosecha, se tomaron al azar cinco plantas y se

separaron en sus componentes (tallos, hojas, grano, olote, brácteas y espiga) y se determinó la MS; en una muestra compuesta de planta completa se analizó la composición química y digestibilidad *in situ*. La acumulación de grano en la MS total se incrementó de 35.8 a 43.9 % de los 121 a 142 días a cosecha, respectivamente, y diluyó a los demás componentes, sobre todo la proporción de tallo y de hojas, que decrecieron inversamente proporcional a la acumulación de grano. El contenido de MS total difirió entre híbridos de 3.8 y hasta 8.3 unidades porcentuales a mismos días a cosecha. Sin embargo, el híbrido no afectó el rendimiento de MS ni la producción de grano incrementándose 2.1 y 1.4 t ha<sup>-1</sup> entre cosecha, respectivamente. El contenido de FDN disminuyó y el almidón se incrementó (ambos linealmente), afectando la energía neta de lactancia que aumentó de 1.49 a 1.56 Mcal kg<sup>-1</sup> de los 121 a 142 días a cosecha, respectivamente. La interacción entre días a cosecha e híbrido afectó el contenido de almidón, el cual fue 5.2 unidades superior en un híbrido con similar contenido de CNF y FDN que sus contrapartes. Las digestibilidades de la MS, de la FDN y del almidón fueron afectadas por el híbrido, pero no por los días a cosecha.

**Palabras clave:** Almidón, Ensilaje de maíz, Vaca lechera.

Recibido: 12/09/2023

Aceptado: 15/02/2024

## Introducción

En el norte y centro de México, el forraje de maíz es ampliamente utilizado como ensilado en las dietas de vacas lecheras<sup>(1)</sup>, en donde representa entre el 40 y 60 % de la base seca de la dieta<sup>(2)</sup>. El nivel de inclusión del ensilado de maíz en la ración está en función del rendimiento y la calidad nutritiva del forraje<sup>(3)</sup>. En México, en los últimos 10 años, el rendimiento por hectárea de maíz forraje (en verde) en riego se ha mantenido relativamente sin cambios<sup>(4)</sup>. Lo anterior se asocia principalmente con una inadecuada selección de híbridos y cosechas tempranas<sup>(2,5)</sup>; lo cual merma el rendimiento de materia seca (MS) y el contenido de grano, que es donde se concentra el mayor valor energético del forraje<sup>(6)</sup>.

En el centro de México, la cuenca lechera de Aguascalientes y de los Altos norte de Jalisco comparten características agroclimáticas similares, contribuyen con el 9 y 19 % de la producción nacional de leche y se cultivan alrededor de 15,000 y 45,000 ha de maíz forraje en riego, respectivamente<sup>(4)</sup>. En esta región, la escasez de agua, la creciente demanda de ensilado de maíz y los altos costos de granos y concentrados instan a hacer una producción de maíz más eficiente por unidad de superficie y por m<sup>3</sup> de agua utilizado<sup>(2)</sup>. Así pues,

incrementar el rendimiento y la calidad del forraje es preponderante para lograr una producción de leche más sustentable<sup>(1,2,7)</sup>.

La utilización de híbridos sobresalientes es el primer paso para tener alto rendimiento y calidad nutritiva del forraje<sup>(8)</sup>. La selección del híbrido y cosechar en una etapa de madurez óptima es esencial para lograr una máxima acumulación MS en el grano en un tiempo razonable<sup>(8,9)</sup>. El ensilado de maíz con mejor calidad nutricional y producido localmente puede desplazar de la dieta el grano de maíz importado y reducir costos de alimentación. Conforme se retrasan los días a cosecha, ocurre mayor acumulación de grano en la planta, incrementándose el valor energético del forraje al diluirse la proporción de otros componentes en la planta con menor digestibilidad<sup>(9)</sup>. No obstante, al incrementarse los días a cosecha para favorecer la acumulación de grano se disminuye la digestibilidad de la fibra detergente neutra (FDN), lo cual afecta negativamente el consumo de alimento en ganado lechero<sup>(6,9)</sup>. Así pues, la hipótesis del presente estudio fue que al retrasar los días a cosecha se incrementa el rendimiento de MS y acumulación de grano sin afectarse la digestibilidad de la MS y FDN que son mayormente influenciadas por el efecto de híbrido. Por consiguiente, el objetivo fue determinar la respuesta de cuatro híbridos cosechados a 121, 128, 135 o 142 días en la acumulación de MS por componente, rendimiento de MS total, composición bromatológica y digestibilidad de la MS, FDN y almidón.

## Material y métodos

### Área de estudio y diseño experimental

El estudio se realizó bajo condiciones de riego con goteo superficial en el ciclo PV-2019 en un predio ubicado en San Juan de los Lagos, Jalisco (21°17'40" N y 102°18'01" O) a 1,838 msnm; en donde el clima es templado semi-seco con una precipitación media de 600 mm. El suelo es alcalino (pH 7.8) con un 1.9 % de contenido de materia orgánica y 71 mg kg<sup>-1</sup> de N inorgánico. Se utilizó un diseño en bloques al azar con arreglo en parcelas divididas con cuatro repeticiones, en donde la parcela grande fue el híbrido y las parcelas chicas los días a cosecha. Los híbridos utilizados fueron DK-4018 (H1, Dekalb®), Noble (H2, Aspros®), Antílope (H3; Asgrow®) y XR-49 (H4, Ceres®); los cuales se seleccionaron por tener un rendimiento superior a la media de una evaluación local en el año anterior. Todos los híbridos fueron de ciclo intermedio y grano blanco semi-dentado. La cosecha se realizó a los 121, 128, 135 y 142 días después de la siembra, lo cual correspondió aproximadamente a una etapa de madurez de grano aproximada a R2, R3, R4 y R5, respectivamente. La parcela experimental fueron cuatro surcos de 5.0 m de largo y 0.75 m de ancho, y la parcela útil los dos surcos centrales. La siembra se realizó el 30 de mayo en suelo húmedo depositando la semilla manualmente a 15 cm de distancia en el fondo del surco; la densidad de población a cosecha promedió en 93,211 ± 2,090 plantas ha<sup>-1</sup>.

## Manejo agronómico, toma de datos y muestreo

Previo a la siembra entre el primer y segundo paso de rastra se aplicaron 4 t ha<sup>-1</sup> de composta de bovino y gallinaza con una concentración de 1.1% de N y 0.8% de P; adicionalmente se aplicaron 200 kg de nitrato de amonio entre las etapas vegetativas V3 y V6. El total de N disponible en el suelo para el cultivo se estimó en 340 kg ha<sup>-1</sup>. No se presentaron enfermedades y solo fue necesario una aplicación para gusano cogollero (*Spaidoptera frugiperda*) en etapa V3 que se controló con una aplicación de clorantraniliprol (Coragen, FMC®, Mobile, AL). La precipitación y las temperaturas mínima y máxima se registraron en una estación meteorológica (Em50, Meter Group Inc., Pullman, WA) ubicada a 80 m del terreno experimental. Los grados días de desarrollo (GDD) se calcularon como la diferencia entre la temperatura media y la temperatura base del maíz (10 °C). La floración se registró cuando el 50 % de la parcela experimental exhibió inflorescencia masculina (espigas liberando polen) e inflorescencia femenina (estigmas en el jilote).

A los 121, 128, 135 y 142 días después de la siembra (DDS), se cosecharon el total de plantas de parcela útil a 15 cm sobre nivel del suelo y se registró el peso fresco total. Una muestra aleatoria de cinco plantas completas se separó en cinco componentes: elote, tallo, hojas, espiga y brácteas. Cada componente se pesó en fresco y se introdujo en bolsas de papel para secar a 55 °C hasta peso constante para determinar MS. Después de secar, el elote se separó en olote y grano, y las muestras de cada componente se molieron (SR300 Retsch®, Staufen, Alemania) para pasar una criba de 1 mm; posteriormente se hizo una muestra compuesta de 100 g (peso seco) de planta completa en proporción de cada componente al peso seco total. La muestra completa se utilizó para realizar análisis bromatológicos y de digestibilidad *in situ*.

## Análisis bromatológicos y de digestibilidad

Los análisis químicos se realizaron en el laboratorio de forrajes de la Unión de Cooperativas de Consumo Alteñas S.C. de R.L. (UCCA, San Juan de los Lagos, Jal.). El contenido de cenizas se determinó al introducir 1.0 g de muestra en un crisol e incinerar a 550 °C por 6 h en una mufla. El contenido de FDN y FDA se determinó de manera secuencial en 0.5 g de muestra introducida en bolsa F-57 en el analizador de fibras (A200, Ankom Tech., Macedonia, NY); primero se realizó la determinación de FDN utilizando alfa-amilasa y sulfito de sodio y enseguida la determinación de FDA en solución de CTAB y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La concentración de nitrógeno (N) total se determinó con el procedimiento de Dumas en combustión en seco (Leco FP-528, St. Joseph, MO) y el contenido de proteína cruda (PC) se calculó como % N × 6.25. El contenido de almidón se determinó con el procedimiento enzimático-colorimétrico<sup>(10)</sup>. Inicialmente se liberó la glucosa al incubar 1.0 g de muestra a 100 °C por 1 h en 30 ml de solución buffer de acetato 100 mM a pH 5.0 y se adicionaron 100



$\mu$ l de alfa-amilasa (Megazyme Ltd., Wicklow, Irlanda), enseguida la reacción se incubó por 2 h a 50 °C en 3 ml de solución GOPOD (Megazyme Ltd., Wicklow, Irlanda) y después se determinó la absorbancia a 505 nm en un espectrofotómetro de luz visible (Genesys 10S, Thermo Sci., Madison, WI). Finalmente, el contenido de extracto etéreo (EE) se analizó con el método gravimétrico en el equipo Golfish (Novatech GF-6, Tlaquepaque, Jal.) utilizando hexano como solvente.

La digestibilidad se determinó *in situ* utilizando dos vacas rumen-fistuladas entre los 70 y 95 días en leche (ENLS, Zapotlanejo, Jal.) alimentadas con una ración totalmente mezclada compuesta de 50 % ensilado de maíz, 25 % grano de maíz molido y 25 % de núcleo proteico-mineral. Primeramente, 4.5 g de muestra se introdujeron en bolsas de dacrón de 10 × 20 cm (R1020, Ankom Tech., Macedonia, NY) y se aseguraron con un cincho. Las muestras en duplicado se introdujeron en el saco ventral del rumen para determinar la digestibilidad de la MS, la digestibilidad de la FDN (DFDN) a 48 h, la fracción no digestible de la FDN (uFDN) a 120 h y digestibilidad del almidón a 12 y 24 h. Todas las muestras fueron removidas simultáneamente y se enjuagaron en un ciclo de 12 min en una lavadora hasta obtener agua clara. Posteriormente, las bolsas se secaron a 55 °C hasta peso constante para calcular la digestibilidad de la MS por diferencia de peso inicial vs final; la DFDN, uFDN y la digestibilidad del almidón se calcularon al analizar el residuo de la bolsa con los procedimientos ya descritos para FDN y almidón.

### Análisis estadísticos

Todos los datos fueron analizados en el programa estadístico R (R Studio Inc., Boston, MA) utilizando el paquete *agricolae* y la instrucción *aov* para el análisis de varianza (ANOVA) con el siguiente modelo:

$$Y = \mu + A_i + H_j + \delta_{ij} + D_k + (H \times D)_{jk} + E_{ijk}$$

En donde:

$Y$  es la variable respuesta,

$\mu$  es la media general,

$A$  es el efecto aleatorio de la repetición  $i$  ( $i= 1$  a 4),

$H$  es el efecto fijo del  $j$ -ésimo híbrido ( $j= 1$  a 4),

$\delta$  es el error experimental asociado con la parcela grande (híbrido),

$D$  es el efecto fijo del  $k$ -ésimo días a cosecha ( $k= 1$  a 4),

$(D \times H)$  es la interacción entre híbrido y días a cosecha,

$E_{ijk}$  es el error residual. Para los datos de digestibilidad, se incluyó el efecto aleatorio de la vaca ( $l = 1$  a 2) empleando el modelo antes descrito.

Todos los datos son medias de cuadrados mínimos y la significancia estadística se declaró a  $P \leq 0.05$ . Las medias de híbridos y de días a cosecha cuando se detectó un efecto lineal o cuadrático, se separaron utilizando la prueba de Tukey (*TukeyHSD test*).

## **Resultados y discusión**

### **Floración, días a cosecha y acumulación de GDD**

Los días a floración fueron de 73 para los híbridos H1, H2 y H3 y de 71 para el híbrido H4. Los días a cosecha fueron el 29 de septiembre (121 días), 6 de octubre (128 días), 13 de octubre (135 días) y 20 de octubre (142 días); para cada fecha se acumularon 1,266, 1,329, 1,397 y 1,470 GDD, respectivamente. En los primeros 34 días del cultivo, la temperatura media promedió en 25 °C y después fluctuó entre los 19 y 23 °C.

### **Acumulación de MS por componente**

Como se muestra en el Cuadro 1, el análisis de varianza no detectó interacciones significativas entre DDS e híbrido en cinco componentes de la planta, con la excepción en porcentaje de olote ( $P=0.01$ ) en donde las diferencias fueron mínimas. Los componentes con menor proporción fueron espiga, olote y brácteas; los cuales se mantuvieron relativamente con similar proporción en las cuatro cosechas y juntos sumaron alrededor del 14.5 % de la MS total. En contraste, los componentes de mayor proporción fueron tallo, hojas y grano, incrementándose el porcentaje de este último al avanzar en días a cosecha.

**Cuadro 1:** Acumulación de materia seca (MS) por componente de la planta, contenido de MS y rendimiento en planta completa de cuatro híbridos cosechados a diferentes días después de la siembra (DDS)

	Componente, % de la MS total						Planta completa	
	Tallo	Hojas	Espiga	Grano	Olote	Brácteas	MS, %	MS, t/ha
DDS <sup>1</sup>								
121	20.4 <sup>A</sup>	28.3 <sup>A</sup>	0.8	35.8 <sup>C</sup>	6.7	8.0 <sup>A</sup>	25.8 <sup>D</sup>	24.9 <sup>C</sup>
128	18.6 <sup>B</sup>	26.2 <sup>B</sup>	0.8	40.2 <sup>B</sup>	6.6	7.6 <sup>B</sup>	29.5 <sup>C</sup>	25.7 <sup>C</sup>
135	18.7 <sup>B</sup>	25.6 <sup>B</sup>	0.8	41.7 <sup>B</sup>	6.4	6.8 <sup>BC</sup>	34.6 <sup>B</sup>	30.3 <sup>B</sup>
142	19.3 <sup>B</sup>	23.3 <sup>C</sup>	0.6	43.8 <sup>A</sup>	6.4	6.6 <sup>C</sup>	37.8 <sup>A</sup>	33.3 <sup>A</sup>
Híbrido <sup>2</sup>								
H1	19.7 <sup>b</sup>	25.8	0.7 <sup>b</sup>	39.9 <sup>b</sup>	6.2	7.7 <sup>a</sup>	32.3 <sup>b</sup>	29.0
H2	19.2 <sup>b</sup>	26.7	0.6 <sup>b</sup>	39.7 <sup>b</sup>	7.0	6.8 <sup>b</sup>	29.0 <sup>c</sup>	28.1
H3	17.3 <sup>c</sup>	25.3	0.7 <sup>b</sup>	42.0 <sup>a</sup>	6.7	8.0 <sup>a</sup>	35.2 <sup>a</sup>	28.9
H4	20.7 <sup>a</sup>	25.6	1.0 <sup>a</sup>	40.0 <sup>b</sup>	6.1	6.6 <sup>b</sup>	31.2 <sup>b</sup>	28.3
EEM	0.354	0.451	0.025	0.481	0.074	0.163	0.885	0.791
DDS	Q**	L**	NS	Q*	NS	L**	L**	L**
Híbrido	< 0.01	0.184	< 0.01	< 0.01	NS	< 0.01	< 0.01	0.805
D × H	0.662	0.089	0.468	0.226	0.013	0.061	0.014	0.865

<sup>1</sup>Fecha de siembra: 30 de mayo de 2019.

<sup>2</sup>Híbrido: (H1: DK-4018; H2: Noble; H3: Antílope; H4: XR-49).

EEM= error estándar de la media; DDS= respuesta de días a cosecha lineales (L) o cuadráticos (Q) denotada por: \*0.01 < P ≤ 0.05 y \*\* (P < 0.01), D × H= interacción entre DDS e híbrido, NS= no significativo.

<sup>ABC</sup> Medias con diferente literal en mayúscula difieren estadísticamente en DDS (P ≤ 0.05)

<sup>abc</sup> Medias con diferente literal en minúscula difieren estadísticamente entre híbridos (P ≤ 0.05).

El porcentaje de tallo exhibió una respuesta cuadrática (P < 0.01) al disminuir de 121 a 128 días a cosecha y a partir del cual se mantuvo sin cambios significativos. Además, se observó que el híbrido afectó el porcentaje de tallo (P < 0.01), el H4 superó al H1, H2 y H3 con 1.1, 1.6 y 3.5 unidades, respectivamente. El porcentaje de hojas decreció linealmente (P < 0.01) al disminuir 1.2 unidades porcentuales entre cada cosecha, pero no se detectaron efectos de híbrido en este componente. El porcentaje de grano se incrementó de manera cuadrática (P = 0.02) con los días a cosecha al aumentar 4.5 unidades porcentuales de los 121 a los 128 días, y entre 0.6 y 2.2 unidades de los 135 y 142 días respectivamente. El híbrido H3 superó en porcentaje de grano a los híbridos H1, H2 y H4 con 2.1, 2.3 y 2.1 unidades, respectivamente. El mayor incremento en proporción de grano de 121 a 128 correspondió con una disminución del porcentaje de tallo en ese mismo lapso.

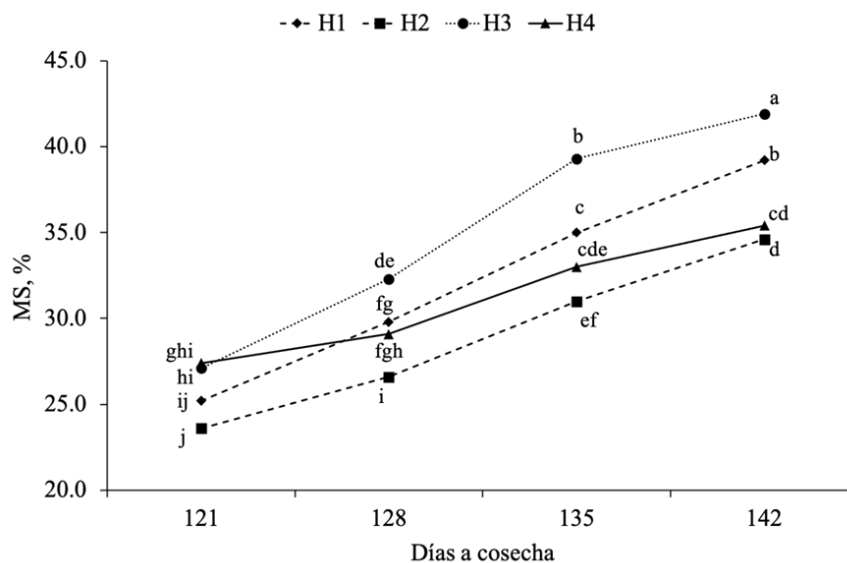
La proporción de espiga no fue afectada por los días a cosecha, pero sí se detectaron diferencias entre híbridos (P < 0.01) que pueden ser no trascendentales en la composición total de la planta por su baja proporción a la MS total. El porcentaje de olote no fue afectado por

los días a cosecha o híbrido y se mantuvo relativamente constante al promediar en  $6.5 \pm 0.3$  % de la MS total. La proporción de brácteas exhibió una respuesta lineal ( $P < 0.01$ ) al decrecer a razón de 0.3 unidades porcentuales entre cada cosecha; también se detectó diferencia entre híbridos ( $P < 0.01$ ) y fue mayor en H1 y H3 comparado a los híbridos H2 y H4 (7.7 y 8.1 vs 6.8 y 6.6 %, respectivamente). Los híbridos H1 y H3 con mayor proporción de brácteas también tuvieron mayor acumulación de grano.

## Contenido y rendimiento de MS de planta completa

La interacción entre híbrido y días a cosecha afectó el contenido de MS ( $P < 0.01$ ), como se muestra en la Figura 1. Los híbridos H3 y H2 fueron los que tuvieron en las cuatro cosechas el mayor y menor contenido de MS, respectivamente; en tanto que el híbrido H1 exhibió una acumulación de MS casi lineal e intermedia entre H3 y H2. En contraste, el híbrido H4 mostró mayor variación en acumulación de MS entre cada cosecha. Esas discrepancias pueden estar asociadas mayormente a la acumulación de grano, pero también podría ser que el carácter *stay-green* (del inglés ‘que permanece verde’) de cada híbrido para conservar la humedad (principalmente en los tallos) afectara el contenido de MS<sup>(11)</sup>. La acumulación de MS se incrementó linealmente ( $P < 0.01$ ) a razón de 3 unidades porcentuales semanales equivalentes a 0.4 % por día (Cuadro 1). Se ha reportado que la acumulación de MS es de alrededor de 0.7 a 1.0 % por día en condiciones templadas<sup>(12,13)</sup>. En el presente estudio, el riego por goteo y la distribución regular de lluvias registrada en el ciclo, podría haber ayudado a mantener constante la humedad en el suelo y reducir la pérdida de humedad de la planta.

**Figura 1:** Contenido de materia seca (MS, %) en el forraje de cuatro híbridos de maíz (H1= DK-4018, H2= Noble, H3= Antílope y H4= XR-49) cultivados en condiciones de riego y cosechados a 121, 128, 135 y 142 días después de la siembra



Medias con diferente literal difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ).

La producción de MS se incrementó linealmente ( $P<0.01$ ) a razón de  $2.1 \text{ t ha}^{-1}$  por semana, pero no hubo efecto de híbrido pese a la interacción detectada en el contenido de MS. El aumento en producción de MS se debió principalmente a la acumulación de grano, ya que fue el único componente que incrementó en proporción a la MS total con los días a cosecha. La producción de grano ( $\text{t ha}^{-1}$ ) se incrementó linealmente con los días a cosecha ( $P<0.01$ ) y fue de 8.9, 10.3, 12.6 y  $14.6 \text{ t ha}^{-1}$  a los 121, 128, 135 y 142 días a cosecha, respectivamente; pero no se detectó efecto de híbrido o su interacción con los días a cosecha.

### Composición química

Con la excepción del contenido de PC y EE, las demás variables bromatológicas se afectaron por los días a cosecha e híbrido (Cuadro 2). Los contenidos de PC y EE se mantuvieron dentro de los rangos normales y relativamente estables, con diferencias significativas entre híbridos, pero éstas fueron mínimas. En contraste, los valores de FDN, FDA, CNF y almidón difirieron en mayor grado con los días a cosecha y entre híbridos. El contenido de FDN disminuyó linealmente ( $P<0.01$ ) a razón de 1.6 unidades porcentuales entre cada cosecha; mientras que la proporción de FDA se incrementó linealmente ( $P<0.01$ ) a razón de 0.9 unidades porcentuales por semana. También se detectaron diferencias entre híbridos para los contenidos de FDN y FDA (ambos  $P<0.01$ ), en donde los híbridos H3 y H4 acumularon menor porcentaje de FDN y FDA que H1 y H2 (Cuadro 2). Estos hallazgos difieren de lo reportado en un estudio local en el cual la FDN y FDA se redujeron alrededor de 3.1 y 1.0 unidades porcentuales, respectivamente, en un lapso de 10 días<sup>(14)</sup>. En otra investigación en donde se realizaron cuatro cosechas a similar contenido de MS, también se reportó una reducción de FDN y FDA; lo cual se atribuyó a la dilución de estos componentes por el aumento en porcentaje de grano<sup>(9)</sup>. En el presente trabajo, se especula que la baja altura de corte (15 cm) a la que se cosechó pudo haber influido en tener más celulosa a expensas de hemi-celulosa; lo cual ha sido documentado en otros trabajos en los que el tallo más bajo acumula más FDA y lignina<sup>(15,16)</sup>.

**Cuadro 2:** Composición química de la materia seca (MS) en planta completa de maíz de cuatro híbridos cosechados a diferentes días después de la siembra (DDS)

	% MS <sup>1</sup>							
	PC	FDN	FDA	ALM	CNF	EE	CEN	ENL Mcal kg <sup>-1</sup>
DDS <sup>2</sup>								
121	8.0	52.1 <sup>A</sup>	22.5 <sup>D</sup>	19.8 <sup>D</sup>	30.9 <sup>D</sup>	2.4	6.6 <sup>A</sup>	1.49 <sup>D</sup>
128	7.8	49.9 <sup>B</sup>	24.2 <sup>C</sup>	20.9 <sup>C</sup>	33.4 <sup>C</sup>	2.6	6.3 <sup>A</sup>	1.51 <sup>C</sup>
135	7.5	48.3 <sup>C</sup>	24.8 <sup>B</sup>	23.2 <sup>B</sup>	35.1 <sup>B</sup>	2.8	6.3 <sup>A</sup>	1.52 <sup>B</sup>
142	7.9	45.6 <sup>D</sup>	25.9 <sup>A</sup>	25.4 <sup>A</sup>	38.1 <sup>A</sup>	2.8	5.6 <sup>B</sup>	1.56 <sup>A</sup>
Híbrido <sup>3</sup>								
H1	7.6 <sup>c</sup>	49.5 <sup>a</sup>	25.1 <sup>a</sup>	20.6 <sup>d</sup>	33.6 <sup>b</sup>	2.8 <sup>b</sup>	6.5 <sup>a</sup>	1.51 <sup>b</sup>
H2	7.3 <sup>d</sup>	49.4 <sup>a</sup>	25.0 <sup>a</sup>	21.5 <sup>c</sup>	34.5 <sup>ab</sup>	2.2 <sup>d</sup>	6.6 <sup>a</sup>	1.50 <sup>c</sup>
H3	7.9 <sup>b</sup>	48.7 <sup>b</sup>	23.7 <sup>b</sup>	25.2 <sup>a</sup>	34.5 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>	5.9 <sup>b</sup>	1.54 <sup>a</sup>
H4	8.5 <sup>a</sup>	48.2 <sup>b</sup>	23.7 <sup>b</sup>	22.0 <sup>b</sup>	34.7 <sup>a</sup>	2.7 <sup>c</sup>	5.9 <sup>b</sup>	1.53 <sup>a</sup>
EEM	0.020	0.246	0.062	0.034	0.286	0.022	0.064	0.006
DDS	NS	L**	L**	L**	L**	NS	Q*	L*
Híbrido	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.042	< 0.01	< 0.01	< 0.01
D × H	0.610	0.054	0.201	< 0.01	0.072	< 0.01	< 0.01	0.060

<sup>1</sup>Expresado en % de materia seca (MS) total de planta completa, a menos que se indique lo contrario.

PC= proteína cruda, FDN= fibra detergente neutro, FDA= fibra detergente ácido, ALM= almidón, CNF= carbohidratos no fibrosos, EE= extracto etéreo, CEN= cenizas; ENL= energía neta de lactancia calculada con la composición química aquí presentada y digestibilidad de la FDN a 48 h (Eq. 2.11; NRC, 2001).

<sup>2</sup>Fecha de siembra: 30 de mayo de 2019.

<sup>3</sup>Híbrido: (H1= DK-4018; H2= Noble; H3= Antílope; H4= XR-49).

EEM= error estándar de la media; DDS= respuesta de días a cosecha lineales (L) o cuadráticos (Q) denotados por: \*0.01 < P ≤ 0.05 y \*\* (P < 0.01), D × H = interacción entre DDS e híbrido, NS= no significativo.

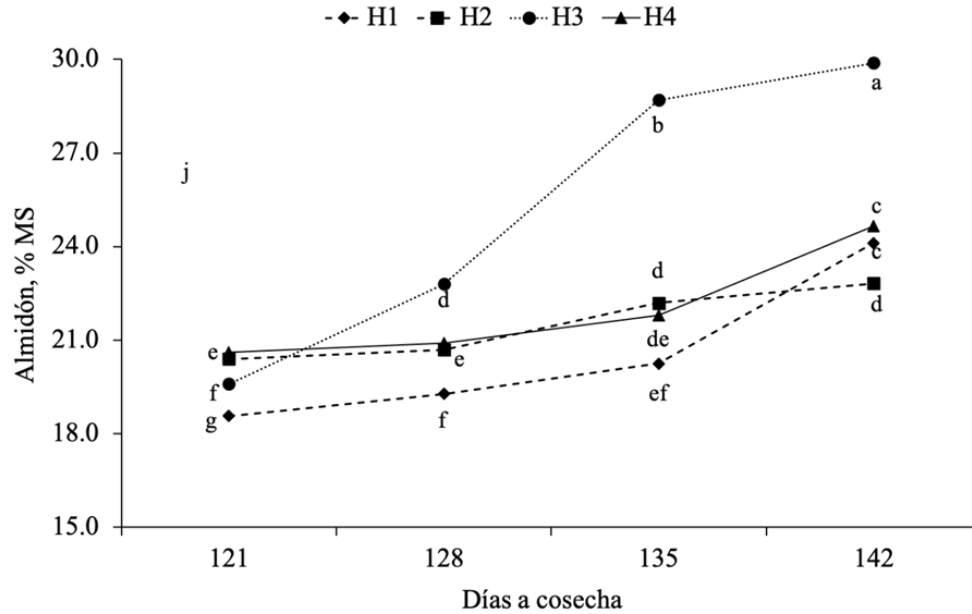
<sup>ABC</sup> Medias con diferente literal en mayúscula difieren estadísticamente en DDS (P ≤ 0.05)

<sup>abc</sup> Medias con diferente literal en minúscula difieren estadísticamente entre híbridos (P ≤ 0.05).

El contenido de CNF se incrementó linealmente (P < 0.01) a razón de 1.8 unidades porcentuales por semana. El aumento en CNF fue inversamente proporcional al decremento en FDN. Aunque hubo diferencias en CNF entre híbridos (P < 0.01), éstas fueron mínimas de 0.9 al 1.1 % y solo difirió el híbrido H1 con el menor contenido de CNF. En el presente estudio, los valores obtenidos de CNF a los 135 o 142 días a cosecha fueron inferiores a los reportados en otras investigaciones a similares días a cosecha<sup>(9,14)</sup>. La acumulación de almidón fue afectada por la interacción entre días a cosecha e híbrido (P < 0.01); el híbrido H3 superó consistentemente a los demás materiales a los 128, 135 y 142 días a cosecha, excepto a los 121 días a cosecha, cuando el contenido de almidón difirió levemente entre híbridos (Figura 2). Lo anterior podría estar relacionado a la variabilidad observada en acumulación de MS y de grano que afecta la síntesis de almidón en el grano<sup>(17)</sup>. En días a

cosecha, se detectó un efecto lineal ( $P<0.01$ ) en la acumulación de almidón, el cual se incrementó a razón de 1.4 unidades entre cosecha.

**Figura 2:** Contenido de almidón en la materia seca (MS) del forraje de cuatro híbridos de maíz (H1= DK-4018, H2= Noble, H3= Antflope y H4= XR-49) cultivados en condiciones de riego y cosechados a 121, 128, 135 y 142 días post-siembra



abcdfg Medias con diferente literal difieren estadísticamente ( $P\leq 0.05$ ).

### Digestibilidad

En el Cuadro 3 se presentan los parámetros de digestibilidad evaluados a diferente tiempo de incubación *in situ*. No se detectaron interacciones entre híbrido y días a cosecha para ninguno de los parámetros evaluados. Contrario a lo esperado, los días a cosecha no afectaron ni digestibilidad de la MS, la digestibilidad de la FDN (DFDN) y tampoco la del almidón. Estos hallazgos difieren de lo reportado en otros estudios en los que la DFDN a 36 o 48 h disminuye al retrasar los días a cosecha y la madurez de la planta<sup>(14,18)</sup>. Por otra parte, los valores de DFDN aquí reportados, son inferiores a los reportados en otros trabajos locales utilizando el mismo método *in situ* y tiempo de incubación<sup>(14,19)</sup>. Por otra parte, la digestibilidad de la MS y DFDN se afectaron por el híbrido ( $P=0.02$  y  $P=0.01$ , respectivamente). El híbrido H1 que tuvo la mayor digestibilidad de MS también obtuvo la superior DFDN. El incremento en DMS se asocia con la acumulación de grano, mientras que la disminución se atribuye a una menor DFDN<sup>(9,20)</sup>. Sin embargo, en el presente estudio, la mayor acumulación de grano del híbrido H3 no compensó su menor digestibilidad de la FDN.

**Cuadro 3:** Digestibilidad *in situ* de la materia seca, fibra detergente neutro y almidón de cuatro híbridos de maíz cosechados a diferentes días después de la siembra (DDS)

	<b>Digestibilidad <i>in situ</i></b>				
	<b>DMS<sub>48</sub></b> <b>% MS</b>	<b>DFDN<sub>48</sub></b> <b>% FDN</b>	<b>uFDN<sub>120</sub></b> <b>% FDN</b>	<b>DAL<sub>12</sub></b> <b>% almidón</b>	<b>DAL<sub>24</sub></b> <b>% almidón</b>
DDS <sup>1</sup>					
121	59.6	32.2	47.3	46.9	96.7
128	59.0	30.1	47.6	47.0	95.6
135	60.2	30.2	48.8	46.6	94.5
142	60.7	30.0	49.3	44.6	94.4
Híbrido <sup>2</sup>					
H1	62.0 <sup>a</sup>	34.2 <sup>a</sup>	47.1	43.2 <sup>c</sup>	96.9
H2	57.9 <sup>c</sup>	30.5 <sup>ab</sup>	49.6	48.6 <sup>a</sup>	95.3
H3	60.0 <sup>b</sup>	29.6 <sup>b</sup>	49.2	46.8 <sup>b</sup>	93.8
H4	59.5 <sup>b</sup>	28.2 <sup>b</sup>	48.2	46.5 <sup>b</sup>	95.1
EEM	1.600	1.130	1.530	1.230	1.620
DDS	NS	NS	NS	NS	NS
Híbrido	0.021	0.041	0.257	0.014	0.265
D × H	0.140	0.072	0.128	0.124	0.202

<sup>1</sup>Fecha de siembra: 30 de mayo de 2019.

<sup>2</sup>Híbrido: (H1: DK-4018; H2: Noble; H3: Antílope; H4: XR-49).

DMS<sub>48</sub>= digestibilidad de la materia seca (MS) a 48 h de incubación, DFDN<sub>48</sub>= digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN) a 48 h de incubación, uFDN<sub>120</sub>= FDN no digestible a 120 h de incubación, DAL<sub>12</sub>= digestibilidad del almidón a 12 h de incubación, DAL<sub>24</sub>= digestibilidad del almidón a 24 h de incubación.

EEM= error estándar de la media; DDS= efectos de días a cosecha lineales (L) o cuadráticos (Q) denotados por: \*0.01 < P ≤ 0.05 y \*\* (P < 0.01), D × H= interacción entre DDS e híbrido.

<sup>abc</sup> Medias con diferente literal difieren (P ≤ 0.05).

La fracción de FDN no digestible a 120 h (uFDN) no difirió entre días a cosecha ni entre híbridos, y las medias fueron de  $48.2 \pm 0.9$  y  $48.2 \pm 1.4$  %, respectivamente. En el presente estudio, los valores de uFDN fueron hasta 10 unidades mayores a la reportada en otras investigaciones<sup>(18,19)</sup>. Un alto valor de uFDN se asocia con fracciones de fibra lignificadas principalmente de la base del tallo; en donde se acumula más lignina con la senescencia de la planta y aumento en contenido de MS<sup>(19,20,21)</sup>. Así pues, es posible que los bajos valores de uFDN encontrados en este trabajo se asocien con la baja la altura de corte utilizada en el presente estudio comparado con trabajos antes citados (15 vs 25 cm, respectivamente) y otro local utilizando hasta 40 cm de altura de corte<sup>(22)</sup>. Finalmente, la digestibilidad del almidón a 12 o 24 h no fue afectada al avanzar en días a cosecha, y solamente se detectó un efecto de híbrido (P=0.01) en la digestibilidad del almidón a 12 h. Aunque todos los híbridos utilizados fueron de grano semi-dentado, es posible que el gradiente de vitreosidad al madurarse el grano afectara la digestibilidad del almidón a 12 h y éste quedara sin efecto a las 24 h<sup>(23)</sup>.



## Conclusiones e implicaciones

En el presente estudio, la acumulación de grano y contenido de MS se incrementaron al retrasar los días a cosecha y estuvieron influenciados por el efecto del híbrido. Sin embargo, el rendimiento de MS no fue afectado por el híbrido y solo se incrementó con los días a cosecha. El contenido de FDN disminuyó y el de almidón se incrementó al avanzar en días a cosecha, pero este factor no afectó los parámetros evaluados de digestibilidad. En general, se pudo maximizar el rendimiento de MS y acumulación de grano al retrasar hasta 142 días a cosecha sin afectarse la digestibilidad de la FDN, pero es necesario explorar algunas estrategias agronómicas a la cosecha para reducir el valor de la uFDN.

### Agradecimientos

Al CONAHCyT el apoyo otorgado al primer autor para llevar a cabo sus estudios de posgrado. Un agradecimiento a Proteína Animal S.A. de C.V (PROAN), a la Unión de Cooperativas de Consumo Alteñas S.C. de R.L. (UCCA) y al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) quienes facilitaron los medios financieros, técnicos y científicos para la realización del estudio. Asimismo, se agradece a la Escuela Nacional de Lechería Sustentable S.P.R. de R.L. (ENLS) por el cuidado de las vacas rumen-fistuladas utilizadas en el estudio de digestibilidad.

### Literatura citada:

1. Reta SDG, Figueroa VU, Serrato CJS, Quiroga GHM, Gaytán MA, Cueto WJA. Potencial forrajero y productividad del agua en patrones de cultivos alternativos. *Rev Mex Cienc Pecu* 2015;6(2):153-170.
2. Santana OI. Impact of forage source and level in intensive dairy systems: whole-farm nutrient balance, lactation performance, and feeding behavior [doctoral thesis]. Madison, Wisconsin, USA: University of Wisconsin-Madison; 2018.
3. Akins MS, Shaver RD. Influence of corn silage hybrid type on lactation performance by Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2014;(97):7811-7820.
4. SIAP. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción Agrícola y Ganadera. México. Consultado 15 Feb, 2023.
5. Martínez-García CD, Rayas-Amor AA, García-Martínez A, Estrada-Flores JG, Arriaga-Jordan CM. Small-scale dairy producers' intention to use corn silage and the role of socioeconomic and socio-psychological factors in decision making. *Trop SubTrop Agroecosyst* 2021;(24):1-16.

6. Ferrareto LF, Shaver RD, Luck BD. Silage review: Recent advances and future technologies for whole-plant and fractioned corn silage harvesting. *J Dairy Sci* 2018;(101):3937-3951.
7. Martin NP, Ruselle MP, Powell JM, Sniffen CJ, Smith SI, Tricarico JM, Grant RJ. Invited review: Sustainable forage and grain crop production for the US dairy industry. *J Dairy Sci* 2017;(100):9479-9494.
8. Bal MA, Shaver RD, Joveile HA, Coors JG, Lauer JG. Corn silage hybrid effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *J Dairy Sci* 2000;(83):2849-2858.
9. Hatew B, Bannink A, van Laar H, de Jonge LH, Dijkstra J. Increasing harvest maturity of whole-plant corn silage reduces methane emission of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2016;(99):354-368.
10. Hall MB. Determination of dietary starch in animal feeds and pet food by an enzymatic-colorimetric method: collaborative study. *J AOAC Intl* 2015;98(2):397-409.
11. Arriola KG, Kim SC, Huisden CM, Adesogan AT. Stay-green ranking and maturity of corn hybrids: 1. Effects on dry matter yield, nutritional value, fermentation characteristics, and aerobic stability of silage hybrids in Florida. *J Dairy Sci* 2012;(95):964-974.
12. Amador AL, Boshcini CF. Fenología productiva y nutricional de maíz para la producción de forraje [nota técnica]. *Agronomía Mesoam* 2000;11(1):171-177.
13. The Ohio State University – Agronomic Crops Network. Corn silage harvest timing [newsletter] Columbus, Ohio, USA 2020. <https://agcrops.osu.edu/newsletter/corn-newsletter/2020-28/corn-silage-harvest-timing>.
14. Santana OI, Sánchez-Duarte JI, Granados NJA, Peña RA, Ochoa ME. Rendimiento, composición química y cinética de degradación ruminal del forraje de híbridos de maíz cultivados en dos ambientes agroclimáticos [resumen]. Reunión nacional de investigación pecuaria. Ciudad de México. 2021:230-232. <http://reunionescientificas2021.inifap.gob.mx/>.
15. Bernard JK, West JW, Trammell DS, Cross GH. Influence of corn variety and cutting height on nutritive value of silage fed to lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004;(87):2172-2176.
16. Der Bedrosian MC, Nestor KE, Kung L Jr. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *J Dairy Sci* 2012;(95):5115-5126.

17. Kosgey JR, Moot D, Fletcher AL, McKenzie BA. Dry matter accumulation and post-silking N economy of 'stay-green' maize (*Zea mays* L.) hybrids. *European J Agron* 2013;51(10):43-52.
18. Ferrareto LF, Shaver RD. Effects of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactation performance by dairy cows through a meta-analysis. *J Dairy Sci* 2015;(98):2662-2675.
19. Bender RW, Cook DE, Combs DK. Comparison of *in situ* versus *in vitro* methods of fiber digestion at 120 and 288 hours to quantify the indigestible neutral detergent fiber fraction of corn silage samples. *J Dairy Sci* 2016;(99):5394-5400.
20. Weiss WP, Wyatt DJ. Effect of corn silage hybrid and metabolizable protein supply on nitrogen metabolism of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2006;(89):1644-1653.
21. González CF, Peña RA, Núñez HG, Jiménez GCA. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz. *Rev Fitotec Mex* 2005;28(4):393-397.
22. Santana OI, Peña RA, Sánchez-Duarte JI, Reyes-González A. Effects of tillage system and cutting height at harvest on dry matter yield, chemical composition, and digestibility of forage maize. *J Dairy Sci* 2021;(104):246-247.
23. Philippeau C, Michalet-Doreau B. Influence of genotype and ensiling of corn grain on *in situ* degradation of starch in the rumen. *J Dairy Sci* 1998;(81):2178-2184.



## Análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X de enterolitos de equinos en el valle de Aburrá, Antioquia, Colombia



Sergio Andrés Vélez Gil <sup>a</sup>

Juan José Patiño Marulanda <sup>a</sup>

José Ramón Martínez Aranzales <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Medicina Veterinaria. Línea de Investigación en Medicina y Cirugía Equina – LIMCE, Grupo de Investigación Centauro. Medellín, Colombia.

\* Autor de correspondencia: [jose.martinez@udea.edu.co](mailto:jose.martinez@udea.edu.co)

### Resumen:

El objetivo de este estudio fue determinar la composición mineralógica de enterolitos de equinos del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia. Muestras de ocho enterolitos de ocho caballos, fueron sometidas a análisis por Difracción de Rayos X Semicuantitativo (DRX) y microscopía electrónica de transmisión y barrido (METB). La METB de los enterolitos analizados reportó carbono, oxígeno, fósforo, magnesio, calcio, silicio, potasio, bromo, hierro, azufre y aluminio. A través de DRX se identificó estruvita, newberyta, kyanita, quartz low, actinolita, nitratina, cordierita, vivianita. Ambas técnicas empleadas en el análisis de los enterolitos se correlacionaron al coincidir los compuestos minerales, con los elementos químicos determinados. Los principales componentes minerales de los enterolitos fueron fosfatos de magnesio, siendo la estruvita y la newberyta los más comunes.

**Palabras clave:** Cólico, Enterolitiasis, Equino, Estruvita.

Recibido: 18/10/2023

Aceptado: 18/02/2024

## Introducción

Los enterolitos son concreciones derivados de precipitaciones de minerales alrededor de un núcleo o nido de material orgánico o inorgánico, localizado en el tracto gastrointestinal<sup>(1,2)</sup>. Estos cuerpos extraños poseen diversas formas, siendo los de

conformación esférica o tetraédrica e irregulares los más comunes, con diferentes tamaños y pesos<sup>(3)</sup>. Se han determinado regiones geográficas con alta predisposición a la formación de enterolitos debido a los componentes minerales específicos del suelo, del agua y especies vegetales<sup>(2-8)</sup>.

Factores de riesgo como las fuentes de agua y elevado consumo de heno de alfalfa con altos niveles de magnesio, nitrógeno y fósforo en la dieta, pueden contribuir a la formación de enterolitos, ya que la estruvita conformada por estos minerales predispone a su formación<sup>(9)</sup>. La alfalfa facilita la formación de óxido de magnesio al promover un pH alcalino, que favorece las condiciones para la deposición y formación de enterolitos; de allí que esta leguminosa en la dieta de los caballos se describe como un posible factor de riesgo. Entre otros factores involucrados se reportan, el ambiente, pH intestinal, hipomotilidad y la presencia de núcleos que hacen posible la formación de estos cuerpos extraños<sup>(1,8,10)</sup>.

Además de los factores predisponentes exógenos, se describen factores endógenos como la raza, sexo, edad y particularidades fisiológicas de los caballos para la presentación de enterolitos y fitobezoares<sup>(4,9)</sup>. Se reporta, por ejemplo, caballos con 15 años de edad tuvieron enterolitiasis en el colon mayor y de 13 años en el colon menor<sup>(3)</sup>; sin embargo, también se reportan en animales de todas las edades<sup>(2,4)</sup>, aunque es menos común en animales jóvenes por el tiempo requerido para su formación<sup>(7)</sup>.

La velocidad de formación de los enterolitos en el tracto intestinal es variable, ya que se relaciona con particularidades del microambiente luminal del colon, tipo de alimentación, principalmente concentrado y manejo en confinamiento<sup>(8,9,10)</sup>, forma del crecimiento a partir del núcleo y presencia de minerales y elementos traza<sup>(11)</sup>. Las alteraciones en el pH intestinal pueden contribuir tanto en la formación como en la disolución de los enterolitos, afectando de esta manera el tiempo de formación<sup>(1)</sup>. Ante estas situaciones, se requieren estudios encaminados a identificar y determinar la participación de factores predisponentes para establecer medidas preventivas adecuadas y evitar la solución quirúrgica como última instancia<sup>(12)</sup>. Por tal motivo, este estudio tuvo como objetivo evaluar la composición mineralógica a través de microscopía electrónica (elementos químicos) y difracción de rayos X (compuestos químicos) de enterolitos obtenidos de caballos en Colombia.

## Material y métodos

Se utilizaron enterolitos recolectados (extracción quirúrgica y excreción espontánea) de equinos (caballo Criollo colombiano y Silla argentina) con edades entre los 12 y 16 años, con alimentación a base de concentrado comercial, heno de Angleton (*Dichantium aristatum*), sal y agua a voluntad, ubicados en el Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia. Una vez registrados fotográficamente, se pesaron y se clasificaron por aspecto, forma y tamaño; para posteriormente fragmentarlos con sierra eléctrica sinfín, permitiendo identificar su nido o núcleo central. Los cortes facilitaron la evaluación del color y características de la arquitectura interna como la textura y la porosidad. Se analizaron ocho muestras de enterolitos de igual número de caballos en laboratorios especializados en mineralogía, cristalografía o en caracterización de materiales; a través de la técnica de difracción de rayos X y por microscopía electrónica de transmisión y barrido (METB).

Fragmentos de enterolitos se procesaron para obtener su pulverización e inmediatamente ser colocados en el cristal de cuarzo para el análisis de composición mineralógica, a través de la técnica de difracción de rayos X semicuantitativo (DRX) (Empyrean<sup>®</sup> Serie II – Alpha 1, Modelo 2012, Madrid, Spain). El análisis de las fases cristalinas y cuantificación, se realizó con el software High Score Plus y base de datos PDF-4-2012, ICSD, para la identificación de fases. Con la configuración de reflexión estándar, ángulo  $2^{\theta}$  – 5-80°, paso: 0.0263°, tiempo: 46.359 seg. La identificación de los minerales se obtuvo por la comparación de los patrones de difracciones de las muestras de enterolitos con patrones estándares.

Por otro lado, muestras de los enterolitos se cortaron en láminas que fueron pulidas por ambos lados, para posteriormente deshidratarse en placa de calor y preparadas para procedimiento de rutina para ser examinadas con METB (Tecnai<sup>®</sup> G2 F20 de FEI), acoplado a un rayo X espectroscópico dispersivo, para el escaneo del material de estudio.

Los datos fueron tabulados y sistematizados en planillas de MS Excel, analizados con estadística descriptiva y presentados en tablas de frecuencia con reportes en porcentajes de los elementos y compuestos minerales en la composición de cada una de las muestras de enterolitos. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales (CEEA) de la Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia (protocolo No. 1062016).

## Resultados

El tamaño, forma y textura de los enterolitos recolectados se muestran en la Figura 1. Predominaron las formas esféricas, poliédricas e irregulares con superficies lisas, ásperas y porosas. La figura muestra, además, la textura macroscópica y por microscopía electrónica de algunos enterolitos. Los enterolitos presentaron tamaños entre 5 a 15 cm, peso de  $664.14 \pm 385.01$  g (máximo 1,157 g; mínimo: 127 g). Por otro lado, se identificó material de origen vegetal (fibra y semillas) en todos los núcleos de los enterolitos estudiados, al fragmentarlos con la sierra.

**Figura 1:** Enterolitos obtenidos de equinos

a) Forma, tamaño y textura de enterolitos. b) Imagen de microscopía electrónica de enterolitos, según la textura y conformación de los cristales de estruvita.

Los elementos químicos en porcentajes composicional reportados durante el análisis de cada enterolito por METB se muestran en el Cuadro 1. Los elementos con mayor porcentaje fueron el carbono (C) 46.06 %, oxígeno (O) 26.85 %, fósforo (P) 11.55 %, magnesio (Mg) 5.97 % y calcio (Ca) 3.71 %, habiendo minerales como silicio (Si) 2.74 %, potasio (K) 1.24 %, bromo (Br) 0.35 %, hierro (Fe) 0.71 %, azufre (S) 0.61 % y aluminio (Al) 0.17 %. La presencia de estos elementos varió entre los enterolitos, sobre todo los elementos considerados como trazas.

**Cuadro 1:** Composición porcentual de elementos minerales de enterolitos de ocho caballos procedentes del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia, analizado por microscopía electrónica de transmisión y de barrido (METB)

Enterolito	Elemento (%)										
	C	O	P	Mg	Ca	Si	K	Br	Fe	S	Al
1	31.86	21.07	32.46	12.32	0	0	2.29	0	0	0	0
2	38.07	30.61	11.32	2.56	13.96	2.88	0.60	0	0	0	0
3	57.46	24.00	3.27	1.27	4.12	4.37	1.35	0	1.98	1.48	0.71
4	27.16	27.22	30.18	13.29	0	0	2.15	0	0	0	0
5	61.81	23.79	1.18	0	1.18	9.37	0	2.66	0	0	0
6	32.56	30.45	7.13	11.23	5.21	3.56	2.34	0	3.45	3.40	0.67
7	63.45	27.04	2.34	4.23	1.56	1.23	0	0.15	0	0	0
8	56.12	30.67	4.56	2.89	3.67	0.56	1.23	0	0.30	0	0

Los compuestos determinados en cada enterolito por el análisis de DRX se muestran en el Cuadro 2. Los compuestos minerales con la mayor concentración fueron estruvita (fosfato amónico de magnesio hexahidrato  $[MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O]$ ) 78.68 %, newberyta (fosfato ácido de magnesio) 11.23 %, kyanita (silicato de aluminio) 3.18 %, quartz low (óxido de silicio) 2.36 %, actinolita (inosilicato) 2.15 %, nitratina (nitrato de sodio) 1.45 %, cordierita, (ciclocilicado de magnesio) 0.46 %, vivianita, (fosfato de hierro

hidratado) 0.45 %. Ninguna de las muestras estuvo compuesta por más de cinco de los compuestos encontrados.

**Cuadro 2:** Concentración porcentual de compuestos minerales de enterolitos de caballos procedentes del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia, analizado por difracción de rayos X (DRX)

Enterolito	Compuesto (%)							
	Estruvita	Nitratina	Newberyta	Quartz low	Cordierita	Actinolita	Vivianita	Kyanita
1	83.8	7.8	1.1	6.9	0.3	0	0	0
2	99.6	0	0.4	0	0	0	0	0
3	81.9	3.3	3.1	4.0	0	7.8	0	0
4	81.5	0	18.1	0.1	0	0.3	0	0
5	96.1	0	0.5	0	3.4	0	0	0
6	96.4	0	0	0	0	0	3.6	0
7	55.7	0	33.3	7.9	0	3.1	0	0
8	34.5	0.5	33.4	0	0	6.0	0	25.5

## Discusión

La literatura reporta que los enterolitos en equinos, se forman principalmente por la precipitación de estruvita, con aumentada presencia de Mg, nitratos, fosfatos y elevadas concentraciones de cationes en un medio alcalino del colon<sup>(5,7,13)</sup>. Además, elevadas concentraciones de Mg en el colon del equino se han asociado con la dietas (> 50 %) basadas en alfalfa y son considerados predisponentes a enterolitos; sin embargo, no todos los caballos que se alimentan con alfalfa desarrollan cuadros de enterolitiasis, indicando la presencia de otros factores inductores en la formación de estas concreciones, como aspectos individuales, la hipomotilidad, flora bacteriana, dietas, incapacidad buferante y calidad del agua; que pueden influir en el pH intestinal y contenido mineral colónico<sup>(6,9,10)</sup>.

En este estudio no se analizaron los factores de predisposición de formación de enterolitos ni la evolución de los cuadros clínicos de los caballos diagnosticados con enterolitiasis, siendo una limitante reconocida del presente trabajo, ya que no se puede inferir sobre la participación de estos en la conformación de los enterolitos, tan solo se describe la composición de estos. No obstante, los enterolitos provienen de una zona geográfica del departamento Antioquia, Colombia; donde el suministro de alfalfa no es común en la alimentación de los equinos y no hay un contexto desértico, contrastando con reportes previos donde regiones del mundo con alta oferta de alfalfa y en suelos arenosos se han señalado con tener las mayores frecuencias de presentación de la enterolitiasis<sup>(1-4,6,7)</sup>, indicando que la génesis de los enterolitos puede ser multifactorial.

La variedad de forma, tamaño y textura, y la configuración de los nidos fueron similares a otros reportes<sup>(13)</sup>; sin embargo, a diferencia de otros trabajos, todos los nidos fueron identificados, siendo el material vegetal predominante, difiriendo de otros estudios que han descrito materiales diferentes al vegetal<sup>(1,9)</sup>. No se pudo comprobar la presencia única o múltiple de enterolitos, donde los esféricos se interpretan como presencia única de cuerpos extraños y los poliédricos con presencia múltiple<sup>(14,15)</sup>, ya que no se dispuso de la información completa de los cuadros clínicos de los equinos.



La identificación de la estruvita como el compuesto mineral predominante en los enterolitos es similar a otros estudios<sup>(6,7,13)</sup>. Igualmente, la presencia de vivianita, aunque en menor proporción en la composición, fue semejante a lo reportado por Hassel *et al*<sup>(13)</sup>. Sin embargo, la presencia de newberyta, kyanita, quartz low, actinolita, nitratina y cordierita, elementos minerales y minerales trazas determinados por METB (Cuadro 1) no ha sido reportado; sin embargo, no se puede inferir que sea una característica de los enterolitos obtenidos de los animales de esta región geográfica, dado el bajo número de muestras. Asimismo, es de resaltar el hallazgo de más de tres compuestos en la mayoría de los enterolitos, a excepción del compuesto por estruvita y vivianita.

Si bien se determinó la presencia de ocho compuestos en el grupo de enterolitos seleccionados, no se encontró presencia de apatita (fosfato de Ca), coincidiendo con Hassel *et al*<sup>(13)</sup>, aunque se requiere un mayor número de muestras para confirmar este hallazgo. Sin embargo, en caninos y felinos, los cálculos urinarios de estruvita se pueden acompañar de cálculos de apatita<sup>(16,17)</sup>, indicando condiciones especiales y de interacción o sustitución de iones que pueden influir en la cristalización de la apatita, como es el caso del K y el Mg<sup>(18)</sup>.

Con relación a los elementos mayores, la concentración de P, Mg, K, Ca y C orgánico y los elementos trazas como Fe, coincidieron con las reportadas en los estudios petrográficos y de mineralogía realizados por Rouff *et al*<sup>(11)</sup>, en muestras de enterolitos provenientes de regiones geográficas diferentes. Sin embargo, contrastaron con la concentración de S, Si, Br, Al, que fueron reportada en este estudio, pero no se determinaron la presencia de Zn y Mn. Adicionalmente, en ninguno de los estudios se detectó cobre (Cu), a pesar de encontrarse en los análisis nutricionales del alimento de los equinos, realizados por estos mismos autores<sup>(11)</sup>. Por tanto, es posible que la precipitación y cristalización de los compuestos minerales, no solo depende de la saturación, sino también de la interacción de iones y condiciones de pH en el fluido del colon<sup>(18)</sup>. Con todo lo anterior, es posible plantearse como hipótesis, que la diferencia de contextos y de sistemas de alimentación de los equinos, pueden afectar la saturación iónica en el fluido del colon, lo que podría explicar en parte la cantidad de elementos mayores y de trazas determinados en este trabajo.

A pesar de la oferta alimentaria y de la presencia en el fluido del colon de algunos minerales, no forman compuestos o no se detectan en la composición de los enterolitos, reforzando la hipótesis de la existencia de otros factores predisponentes que participan en su formación y crecimiento<sup>(11,13,18)</sup>. Sin embargo, es interesante que la estruvita sea el mayor componente de los enterolitos analizados en varias partes del mundo, lo que podría conllevar a analizar la existencia de una posible analogía con la formación de los cálculos urinarios de estruvita, donde existe evidencia de participación de metabolismo microbiano, más que, saturación mineral<sup>(19,20)</sup>. No obstante, este proceso es complejo y aún no existe evidencia de que suceda en el colon de los equinos<sup>(9,21)</sup>.

El reconocimiento de los elementos trazas e impurezas orgánicas dentro la composición de la estruvita es importante, debido a que mayor concentración de estos elementos, mayor susceptibilidad de descomposición<sup>(11)</sup>. Además, los cálculos de apatita de caninos y felinos, son más resistentes que los de estruvita<sup>(16,17)</sup>; sin embargo, estos son ausentes en la enterolitiasis de los equinos. Por tanto, es posible considerar estrategias médicas (disolventes) y de manipulación de dietas para la prevención de enterolitos, una vez que

los análisis mineralógicos mostraron altas impurezas de material orgánico y de elementos trazas que los convierte susceptibles a la desintegración, ya que según la composición puede ser viable el uso de disolventes como las bebidas carbonatadas tipo Coca-Cola<sup>®(12)</sup>.

## Conclusiones e implicaciones

Ambas técnicas (METB y DRX) empleadas en el análisis de los enterolitos se correlacionaron al coincidir los compuestos minerales con los elementos químicos determinados. En síntesis, los principales componentes minerales de los enterolitos analizados, se constituyeron de fosfatos de Mg, siendo la estruvita y la newberyta los más comunes, a diferencia de la vivianita que también se determinó, pero en una menor proporción a lo reportado previamente<sup>(13)</sup>. Igualmente, se reportaron otros compuestos distribuidos en todas las muestras analizadas, sin embargo, se requiere estudios con un mayor número de muestras y con información relevante de manejo, alimentación y condición clínica asociada a la enterolitiasis de los animales, para determinar asociación con la composición mineralógica de los enterolitos.


## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con recursos del CODI de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Antioquia, Centro de investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias (CIAG) y Recursos de sostenibilidad 2019 – 2020 del Grupo Centauro.


## Literatura citada:

1. Hassel DM. Enterolithiasis. *Clin Tech Equine Pract* 2002;1(3):143-147. <https://doi.org/10.1053/ctep.2002.35576>.
2. Pérez L, Calderón VR, Rodríguez MA, Jacinto ME. Estudio recapitulativo de cinco casos de enterolitiasis en caballos remitidos al hospital para équidos del DMZE FMVZ-UNAM, durante 2003. *Vet Méx* 2006;37:223-238.
3. Pierce RL. Enteroliths and other foreign bodies. *Vet Clin Equine* 2009;25:329-340. doi: 10.1016 / j.cveq.2009.04.010.
4. Cohen ND, Vontur CA, Rakestraw PC. Risk factors for enterolithiasis among horses in Texas. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216(11):1787-1794. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.216.1787>.
5. Hassel DM, Rakestraw PC, Gardner IA, Spier SJ, Snyder JR. Dietary risk factors and colonic pH and mineral concentrations in horses with enterolithiasis. *J Vet Intern Med* 2004;18:346-349. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02556.x>.
6. House AM, Warren LK. Nutritional management of recurrent colic and colonic impactions. *Equine Vet Educ* 2016;28:167-172. doi:10.1111/eve.12543.
7. Turek B, Witkowski M, Drewnowska O. Enterolithiasis in horses: analysis of 15 cases treated surgically in Saudi Arabia. *Iran J Vet Res* 2019;20(4):270-276.

8. Nardi KB, Barros AMC, Zoppa ALV, Silva LCL, Ambrósio AM, Hagen SCF, *et al.* Large bowel obstruction by enteroliths and/or foreign bodies in domestic equids: a retrospective study of cases seen from January 2003 to March 2020. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2022;74:83-92. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-12442>.
9. Hassel DM, Spiers SJ, Aldridge BM, Watnick M, Argenzio RA, Snyder JR. Influence of diet and water supply on mineral content and pH within the large intestine of horses with enterolithiasis. *Vet J* 2009;182:44-49. doi:10.1016/j.tvjl.2008.05.016.
10. Hassel DM, Aldridge BM, Drake CM, Snyder JR. Evaluation of dietary and management risk factors for enterolithiasis among horses in California. *Res Vet Sci* 2008;85(3):476-480. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.03.001>.
11. Rouff, AA, Lager GA, Arrue D, Jaynes J. Trace elements in struvite equine enteroliths: concentration, speciation and influence of diet. *J Trace Elem Med Biol* 2018;45:23-30. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.09.019>.
12. Vélez SAG, Patiño JJM, Martínez JRM. *In vitro* evaluation of the dissolving effect of carbonated beverages (Coca-Cola®) and enzyme-based solutions on enteroliths obtained from horses: pilot study. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2021;58:1-7. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.182579>.
13. Hassel DM, Schiffman P, Snyder JR. Petrographic and geochemic evaluation of equine enteroliths. *Am J Vet Res* 2001;62(3):350-358. <https://10.2460/ajvr.2001.62.350>.
14. Lloyd K, Hintz HF, Wheat JD, Schryver HF. Enteroliths in horses. *Cornell Vet* 1987;77:172- 186.
15. Bray RE. Enteroliths: feeding and management recommendations. *J Equine Vet Sci* 1995;15(11):474-478. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81820-4](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81820-4).
16. Neumann RD, Ruby AL, Ling GV, Schiffman PS, Johnson DL. Ultrastructure of selected struvite-containing urinary calculi from cats. *Am J Vet Res* 1996a;57:12-24.
17. Neumann RD, Ruby AL, Ling GV, Schiffman PS, Johnson DL. Ultrastructure of selected struvite-containing urinary calculi from dogs. *Am J Vet Res* 1996b;57:1274-1287.
18. Legeros RZ, Legeros JP. Phosphate minerals in human tissues. In: Nriagu JO, Moore PB, editors. *Phosphate minerals*. Springer-Verlag Inc (Berlin). 1984;31-385. doi:10.107 / 978-3-642-61736-2\_12.
19. Kramer G, Klingler HC, Steiner GE. Role of bacteria in the development of kidney stones. *Curr Opin Urol* 2000;10:35-38. doi:10.1097/00042307-200001000-00009.
20. Prywer J, Torzewska A. Bacterially induced struvite growth from synthetic urine: experimental and theoretical characterization of crystal morphology. *Crys Growth Des* 2009;9(8):3538-3543. <https://doi.org/10.1021/cg900281g>.
21. Blue MG, Wittkopp RW. Clinical and structural features of equine enteroliths. *J Am Vet Med Assoc* 1981;179:79-82.



## Prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de leche de Chiquinquirá (Colombia)



Diana M. Bulla-Castañeda <sup>a</sup>

Deisy J. Lancheros Buitrago <sup>a</sup>

Leneth B. Castañeda Sedano <sup>a</sup>

Rosa I. Higuera Piedrahita <sup>b</sup>

Martin O. Pulido-Medellin <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia – UPTC. Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria y Zootecnia – GIDIMEVETZ. Tunja, Colombia.

<sup>b</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán, México.

\*Autor de correspondencia: [martin.pulido@uptc.edu.co](mailto:martin.pulido@uptc.edu.co)

### Resumen:

La criptosporidiosis es una enfermedad que se caracteriza por generar episodios de diarrea en bovinos alrededor del mundo causada por un parásito protozoario del género *Cryptosporidium* spp. del phylum Apicomplexa y Familia Cryptosporiidae. Es responsable de importantes pérdidas económicas, y sumado a esto, genera un impacto en la salud humana, al poseer la capacidad de parasitar a humanos. El objetivo fue determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de Chiquinquirá (Colombia). Se desarrolló un estudio descriptivo de corte transversal con muestreo aleatorio simple, en donde se tuvo en cuenta un tamaño muestral de 1,044 bovinos, entre machos y hembras, de diferentes razas, y grupos etarios con el programa estadístico WinEpi. Las muestras de materia fecal se tomaron directamente del recto y procesadas mediante la técnica de Ziehl-Neelsen modificada (ZN) para la identificación de ooquistes del parásito en el objetivo de 100X. Los datos se procesaron con el programa estadístico Epi Info®. Se encontró una

prevalencia general del 7.3 % (73/1000), las hembras, los bovinos de 2 a 4 años y los cruces raciales fueron los más prevalentes. No se encontró asociación estadística significativa entre la raza, edad y sexo de los individuos evaluados, y la positividad al protozooario ( $P \geq 0,05$ ). La compra de animales y las producciones de mayor tamaño se consideraron como factores de riesgo para la parasitosis. Se deben diseñar e implementar planes de prevención y control del protozooario basados en prácticas sanitarias que impidan la diseminación de los ooquistes que se encuentran en materia fecal.

**Palabras clave:** *Cryptosporidium* spp., Criptosporidiosis, Bovinos.

Recibido: 21/04/2023

Aceptado: 13/02/2024

## Introducción

*Cryptosporidium* spp. es un parásito protozario, coccidiano, zoonótico, intracelular obligado que forma parte del phylum Apicomplexa y familia Cryptosporiidae; el cual se encuentra distribuido en todo el mundo<sup>(1-5)</sup>. El parásito afecta el tracto gastrointestinal de especies de vertebrados como bovinos, aves, pequeños rumiantes, roedores, caninos, felinos, conejos, ardillas e incluso al hombre<sup>(6-9)</sup>. Recientes reportes indican que existen más de 40 especies de *Cryptosporidium* spp. descritas, de las cuales *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* y *C. andersoni* se presentan de forma rutinaria en el ganado bovino<sup>(5)</sup>.

Los parásitos de este género causan una enfermedad gastrointestinal grave conocida como criptosporidiosis<sup>(7,8)</sup>, que impacta tanto la salud humana como la sanidad animal<sup>(1,5,6)</sup>. El ganado, especialmente los terneros, han sido identificados como uno de los reservorios más comunes de este protisto<sup>(1,4)</sup>, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en terneros de 1 mes de edad o menos a nivel mundial<sup>(10)</sup>. Sin embargo, existe una gran variedad de hospedadores que pueden actuar como reservorios del parásito, lo que favorece que *Cryptosporidium* spp. persista en el medio ambiente durante tiempos prolongados como ooquistes, aumentando el riesgo de transmisión a los huéspedes susceptibles<sup>(6,7)</sup>.

Las infecciones por *Cryptosporidium* spp. constituyen una carga sustancial para la salud pública y son responsables de pérdidas económicas en los rebaños de ganado en todo el mundo<sup>(11)</sup>. Por lo tanto, la reducción de la enfermedad y el desprendimiento de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se considera como un objetivo importante en las producciones ganaderas, mediante la inhibición de la transmisión del protista a través del contacto directo con animales infectados, o la ingestión de alimentos y agua contaminados con heces de

animales<sup>(9)</sup>. El diagnóstico del protozooario se basa en la identificación de ooquistes del mismo a nivel de laboratorio, en donde lo habitual es llevar a cabo una observación microscópica de los ooquistes, aplicando a frotis fecales una tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) con solución de alcohol ácido, auramina con fenol o inmunofluorescente<sup>(12)</sup>.

Las opciones terapéuticas disponibles para tratar la criptosporidiosis son limitadas<sup>(11)</sup>. A pesar del interés sustancial en este tipo de parásitos, el progreso en términos de desarrollo del tratamiento y comprensión de la mayoría del ciclo de vida de este organismo inusual es escaso<sup>(7)</sup>. Hasta donde se sabe, en el Departamento de Boyacá no hay estudios recientes de la identificación de ooquistes del parásito en materia fecal por microscopia, ni el análisis de diferentes variables<sup>(13)</sup>. Por consiguiente, el objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia y factores de riesgo asociados a *Cryptosporidium* spp. en bovinos de Chiquinquirá (Colombia).

## Material y métodos

### Ubicación geográfica

Boyacá cuenta con cuatro municipios especializados en producción de leche (Chiquinquirá, Caldas, San Miguel de Sema y Saboyá), alcanzando un volumen de 70,000 L diarios derivados de aproximadamente 50,000 hembras bovinas destinadas a la producción láctea<sup>(14)</sup>. De acuerdo con los datos del gobierno nacional, la ganadería en Chiquinquirá representa un renglón importante de la economía del municipio, que se encuentra situado a 5°36'48" N y a 0°15'21" de longitud meridiano de Bogotá, a una altitud de 2,000 a 3,200 msnm y una temperatura promedio de 15 °C<sup>(15)</sup>.

### Tamaño de muestra

Chiquinquirá para el año 2022 reportó 33,398 cabezas de ganado según el Censo Pecuario Nacional del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)<sup>(16)</sup>. Con base en los datos reportados y siguiendo la fórmula obtenida del programa estadístico WinEpi, se determinó un tamaño de muestra de 947 hembras y 47 machos bovinos de diversos grupos etarios y razas con potencial lechero. Además, se tuvo en cuenta un intervalo de confianza del 95%, error aceptado del 5%, una fracción de muestreo de 1.15% y una prevalencia esperada del 50 %.

$$n = \left( \frac{Z \frac{a}{2\sqrt{p(1-p)}}}{E} \right)^2 = \frac{Z^2 \alpha/2 \cdot p(1-p)}{E^2}$$

Dónde: n= tamaño de la muestra; E= error aceptado; p= valor esperado de la proporción;  $\alpha$ = probabilidad de cola.

## Toma y procesamiento de muestras

Se tomaron entre 2 a 5 g de materia fecal directamente del recto mediante palpación rectal. Las muestras fueron rotuladas y almacenadas en neveras de refrigeración, para ser transportadas al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC) para su procesamiento. Para la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en las heces de los bovinos se implementó la técnica de Ziehl Neelsen modificada (ZN) o tinción en frío de Kinyoun. Se realizó un frotis delgado de materia fecal en el portaobjetos, el cual se dejó secar al aire libre. Posteriormente, las láminas se colocaron en gradillas de tinción en donde se colorearon durante 10 min con fucsina de ZN. Luego, se realizó decoloración de las láminas durante 2 min con alcohol ácido de ZN y se llevó a cabo un enjuague con agua de flujo lento. A continuación, las láminas se suspendieron durante 6 min en azul de metileno de ZN y fue empleado un secado al aire libre. Las láminas se examinaron microscópicamente con Objetivo 100x con aceite de inmersión). Se consideraron como positivas aquellas muestras en las cuales los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se tiñeron de rojo brillante<sup>(17)</sup>.

## Análisis estadístico

La identificación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en la materia fecal de los bovinos y los datos obtenidos en la encuesta epidemiológica, fueron consolidados y filtrados. Dentro de los factores evaluados, es importante mencionar que en cuanto a las prácticas de manejo, se hace referencia a la ausencia o presencia del evento, hato grande fueron aquellos con más de 10 animales en producción y los hatos pequeños con 10 o menos. En cuanto a las fuentes de agua la única que proveía agua potable y tratada fue el acueducto. Los resultados se analizaron con el programa estadístico Epi Info® versión 7.2.4.0.

La proporción de individuos afectados por *Cryptosporidium* spp y expuestos a los factores que se evaluaron en el estudio, fueron comparados con la misma proporción de una población no expuesta a ese factor para estimar las razones de prevalencia (RP). El RP se utilizó para medir la asociación entre cryptosporidiosis y los factores causales hipotéticos, así como la importancia de estas asociaciones mediante una prueba exacta de Fisher<sup>(18)</sup>.

Los valores de RP superiores a 1 (intervalo de confianza inferior 95% < 1) y con  $P < 0.05$  se consideraron como factores de riesgo, mientras que los valores de RP inferiores a 1 (intervalo de confianza superior 95% < 1) y con  $P < 0,05$  fueron factores de protección. La variable dependiente incluyó los resultados de ZN modificada; mientras que las variables independientes fueron todas las variables determinantes establecidas en la encuesta epidemiológica aplicada durante la toma de la muestra. Una vez establecidos estos factores, se realizó una regresión logística<sup>(19)</sup>.

## Consideraciones éticas

El estudio se realizó de acuerdo con la Resolución 8430 del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, y la Ley 84 de 1989. Estas establecen las normas que son idóneas para el bienestar de los animales durante la investigación. Asimismo, antes de la toma de las muestras de sangre, se obtuvo la firma de consentimiento informado por parte de los propietarios de los bovinos.

## Resultados

Una prevalencia general de 7.3 % (73/1000) fue determinada en el municipio de Chiquinquirá. Las hembras fueron más prevalentes que los machos con 7.39 (70/947) y 6.98 % (3/43), respectivamente. Los bovinos de 2 a 4 años y ejemplares de raza cruzada tuvieron mayor presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. (Cuadro 1). No se encontró asociación estadística significativa entre la raza, edad y género de los individuos evaluados, y la positividad al protozooario ( $P \geq 0,05$ ).

**Cuadro 1:** Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. por grupo etario y raza en bovinos del municipio de Chiquinquirá, Boyacá

Variable	N	Positivos <i>Cryptosporidium</i> spp.	Prevalencia (%)
Grupos etarios			
< 2 años	304	20	6.58
2-4 años	84	10	11.90
> 4 años	612	43	7.03
Razas			
Ayrshire	138	11	7.97
Cruces	95	9	9.47
Holstein	767	53	6.91

En cuanto a las variables evaluadas, las prácticas de manejo como la presencia de ganado de otros propietarios ( $P=0.0018$ ), arriendo de pastos ( $P=0.0010$ ) y la compra de animales ( $P=0.0062$ ) tuvieron asociación estadística significativa con la presentación del parásito en los bovinos evaluados (Cuadro 2).



**Cuadro 2:** Análisis de las prácticas de manejo como posibles factores de riesgo asociados a las infecciones por *Cryptosporidium* spp.

Variable	Categoría	RP	Intervalo de confianza (95%)	P-valor
Prácticas de manejo	Corral	0.9769	0.9416 - 1.0135	0.1234
	Ganado de otros propietarios	0.9427	0.9136 - 1.0729	0.0018
	Otras especies	0.9352	0.8351 - 1.0474	0.1113
	Arriendo de pastos	0.9455	0.9138 - 1.0783	0.0013
	Compra de animales	1.0472	1.0118 - 1.0839	0.0062
	Cercas dañadas	1.0056	0.9696 - 1.0430	0.4254
	Desparasitación	0.9352	0.8351 - 1.0474	0.1113

Los resultados se presentan como razón de prevalencia (RP) e intervalo de confianza (IC) del 95%.

La diarrea presentó asociación estadística significativa con la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en las muestras de materia fecal analizadas. El tamaño del hato tuvo significancia estadística, en donde los hatos grandes se consideraron como posible factor de riesgo y el hato pequeño se estableció como factor de protección para la presentación del parásito. Por otra parte, al analizar la fuente de agua de consumo el acueducto y la quebrada, presentaron asociación estadística significativa con la positividad del protozooario, además la quebrada se estableció como posible factor de riesgo, mientras el acueducto fue factor de protección (Cuadro 3).

**Cuadro 3:** Análisis de las manifestaciones clínicas, tamaño del hato y fuente de agua de consumo como posibles factores de riesgo asociados a las infecciones por *Cryptosporidium* spp.

Variable	Categoría	RP	Intervalo de confianza (95%)	P-valor
Manifestaciones clínicas	Diarrea	0.9552	0.9208 - 1.0909	0.0078
	Fiebre	0.9699	0.9366 - 1.0044	0.0545
Tamaño del hato	Hato grande	1.051	1.0169 - 1.0863	0.0081
	Hato pequeño	0.9515	0.9206 - 0.9834	0.0072
Fuente de agua	Acueducto	0.9496	0.9175 - 0.9829	0.0023
	Aljibe	0.9694	0.9364 - 1.0035	0.0657
	Quebrada	1.0589	1.0122 - 1.1078	0.0041

Los resultados se presentan como razón de prevalencia (RP) e intervalo de confianza (IC) del 95%.

El análisis de las variables que se determinaron como posibles factores de riesgo mediante regresión logística, permitió determinar que la compra de animales y aquellas unidades de producción en donde hay más 10 animales, como factores de riesgo para la presentación de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en los bovinos evaluados (Cuadro 4).

**Cuadro 4:** Análisis de variables como posibles factores de riesgo asociados a las infecciones por *Cryptosporidium* spp

Variable	Odds ratio	ICI	ICS	P-valor
Compra de animales	2.252	1.3358	3.7965	0.0023
Hato grande	2.6677	1.2593	5.651	0.0104
Quebrada	1.5773	0.9484	2.6232	0.0791

Odds ratio= razón de probabilidades; ICI= intervalo de confianza inferior; ICS= intervalo de confianza superior.

## Discusión

La infección por protozoarios entéricos en el ganado puede representar una amenaza para la productividad y la supervivencia de los bovinos, lo que genera impactos negativos en la industria ganadera<sup>(20)</sup>. En este grupo de patógenos que afectan la salud animal, *Cryptosporidium* spp. es un parásito intracelular obligado que se transmite por vía fecal-oral tras la ingestión de ooquistes que pueden contaminar, persistir y resistir la desinfección en el agua y en los alimentos<sup>(21)</sup>. La literatura publicada sobre el parásito es extensa, proporcionando detalles de su distribución en la mayoría de las regiones del mundo<sup>(22)</sup>. En este sentido, se han reportado prevalencias de 52.2 % en Argelia<sup>(10)</sup>, 16.2 % en Etiopia<sup>(4)</sup>, 53 % en fincas de Letonia<sup>(23)</sup> y 64 % en bovinos muestreados en la región lagunera de México<sup>(24)</sup>.

De la misma forma, a nivel nacional existen prevalencias del 22 % en la región Sabana Centro (Cundinamarca)<sup>(25)</sup>, 22 % y 7 % en Chiquinquirá<sup>(26,27)</sup>, 48 % en bovinos de Boyacá<sup>(28)</sup> y el diagnóstico microscópico reveló que 115 terneros (26.6 %) de 44 granjas (59.5 %) dieron positivo en una área central de Colombia (Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Meta)<sup>(29)</sup>, las cuales se encuentran por arriba de la encontrada en el presente estudio. Las variaciones reportadas se pueden presentar debido a las diferentes condiciones medioambientales, las prácticas de manejo y el número de animales en las explotaciones, por lo que se debe considerar el papel que tiene el medio ambiente en la contaminación directa e indirecta, principalmente en lo que se relaciona con la acumulación de ooquistes en animales que se encontraban previamente en el hato, y facilitan la ruta de transmisión fecal-oral de los bovinos, pues puede modificar la prevalencia de infección del parásito<sup>(30)</sup>.

En el presente estudio, los bovinos de 2 a 4 años tuvieron la mayor prevalencia del parásito, lo cual difiere con lo reportado en África<sup>(6,10)</sup>, Asia<sup>(20)</sup> y Suramérica<sup>(29)</sup> en donde se detectó una mayor tasa de infección en ganado joven en comparación con los animales adultos. No se encontró asociación estadística significativa con la edad de los bovinos ( $P \geq 0,05$ ), lo cual se relaciona con la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* en el ganado bovino de

Etiopía central<sup>(31)</sup>, pero difiere con los datos obtenidos de bovinos de explotaciones lecheras de Colombia<sup>(28)</sup>, Estados Unidos<sup>(32)</sup> e India<sup>(2)</sup>; dado que en las investigaciones se encontraron asociación entre la edad y la excreción de ooquistes en materia fecal. Así mismo, la edad no se consideró como un factor de riesgo para el protozoario en el presente estudio. No obstante, los bovinos <12 meses de edad fueron los factores asociados a la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en Colombia<sup>(28)</sup>. En este sentido, se debe tener en cuenta que los terneros lactantes tienen mayor predisposición a adquirir la infección por el parásito; además, la enfermedad clínica puede estar influenciada por el estado inmunitario del huésped<sup>(33)</sup>.

Das *et al*<sup>(2)</sup> reportan que, existe significancia estadística entre la positividad a *Cryptosporidium* spp. y el sexo de los bovinos, lo cual no se evidenció en el presente estudio; sin embargo, en la prevalencia de la infección por *Cryptosporidium* en Etiopía<sup>(31)</sup> y Nigeria<sup>(6)</sup> no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre machos y hembras, lo cual se relaciona con nuestros resultados. Por otra parte, los cruces raciales tuvieron la mayor excreción de ooquistes del protozoario, sin existir una asociación estadística entre la raza de bovinos con la presentación del parásito ( $P \geq 0,05$ ), lo cual coincide con la ausencia de relación reportada en la prevalencia de la infección en bovinos en Addis Abeba y sus alrededores<sup>(31)</sup>, que es probable se presente debido a la posibilidad del ganado de carne como el de leche de ser infectados por el coccidiano<sup>(2)</sup>.

Los factores de riesgo de *Cryptosporidium* spp. se asocian principalmente con el manejo y la condición sanitaria de los animales<sup>(31)</sup>. La presencia de ganado de otros propietarios en los hatos, el arriendo de pastos y la compra de animales, de los cuales no se conocía los antecedentes sanitarios y de desparasitación, se asociaron a la presencia de ooquistes en las muestras evaluadas ( $P \leq 0,05$ ), esto debido a que la transmisión de la criptosporidiosis se debe principalmente a las prácticas de manejo que permitan la diseminación de ooquistes que se encuentran en el medio ambiente o en animales enfermos o huéspedes susceptibles. Del mismo modo, la compra de animales se determinó como factor de riesgo para la presencia del parásito, esto se puede presentar debido a que *Cryptosporidium* spp, no es específico del huésped. Por tanto, un ambiente contaminado con ooquistes durante un brote en bovinos puede dar lugar a la infección otras especies que posteriormente utilicen la misma zona de pastoreo, además al desconocer los antecedentes sanitarios de los individuos puede aumentar la posibilidad de transmisión del protozoario<sup>(2)</sup>.

El tamaño del hato se asoció con la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp., en donde las producciones de menor tamaño se consideraron como factor de protección y los hatos con mayor cantidad de individuos se establecieron como factor de riesgo para la infección, lo que concuerda con la asociación positiva entre la mayor densidad de población bovina con la excreción fecal de *Cryptosporidium* spp en África<sup>(31)</sup>, Asia<sup>(20)</sup>, Europa<sup>(34)</sup> y Norteamérica<sup>(32)</sup>. Del mismo modo, la crianza individual de terneros disminuye la infección por el protozoo en aproximadamente 2.5 veces en comparación con la crianza de terneros en grupo<sup>(31)</sup>,

existiendo una diferencia en el desprendimiento de ooquistes entre los sistemas de alojamiento, con una mayor prevalencia en los terneros mantenidos de manera grupal comparado con el sistema individual. Sin embargo, dependerá de la edad de los animales<sup>(34)</sup>; esto demuestra la importancia que tienen las instalaciones utilizadas en las explotaciones intensivas con mayores densidades de animales<sup>(29)</sup>.

El consumo de agua de bebida proveniente del acueducto y de la quebrada presentó significancia ( $P \leq 0,05$ ), en donde el acueducto se estableció como un factor de protección para la positividad al parásito. Explotaciones con fuentes de agua potable como pozos, ríos o arroyos; adquirieron *Cryptosporidium* 2.4 y 2.9 veces más, en comparación con las granjas que usan agua del grifo para proveer de agua a los bovinos<sup>(31)</sup>. Así mismo, los hatos que eliminan las aguas residuales al campo en comparación con las granjas que arrojan aguas residuales a los pozos cercanos también podrían tener mayores posibilidades de padecer la infección al protozooario<sup>(31)</sup>. La infección por *Cryptosporidium* spp. tiene una asociación significativa con los síntomas del animal infectado<sup>(2)</sup>, de allí que la presentación de diarrea en los individuos evaluados tuviera asociación significativa ( $P \leq 0,05$ ). No obstante, estudios previos indicaron que no hubo asociación entre la presencia de diarrea y desprendimiento de ooquistes<sup>(6,34,35)</sup>, así como una prevalencia ligeramente mayor en el ganado diarreico comparado con el no diarreico<sup>(6)</sup>. A pesar de esto, la tasa de infección por *Cryptosporidium* spp en Colombia<sup>(27,28)</sup> y Algeria<sup>(10)</sup> es mayor en animales que manifiestan diarrea comparada con la de aquellos individuos que no la presentan, lo que concuerda con lo encontrado en Chiquinquirá; destacándose que el riesgo de que el síntoma se presente en los bovinos puede disminuir a medida que van alcanzando la edad adulta<sup>(23)</sup>.

En la actualidad no existe en el mercado una vacuna o un fármaco para el tratamiento y control de la criptosporidiosis en rumiantes, lo que dificulta su prevención. En este sentido, es necesario implementar estrategias que permitan reducir la propagación de la infección en los hatos, y en donde se incluyan buenas prácticas de manejo de la enfermedad, tales como la separación de bovinos con diarrea, la limpieza y desinfección de las instalaciones antes de la introducción de animales, el retiro y eliminación de materia fecal o basura húmeda, higiene de comederos y bebederos, el desarrollo de estrategias para reducir la humedad en los hatos así como el suministro adecuado de calostro a los recién nacidos<sup>(36)</sup>.

## Conclusiones e implicaciones

Se encontró una prevalencia moderada de la infección por *Cryptosporidium* spp. en los bovinos de Chiquinquirá, en donde las hembras, los bovinos de 2 a 4 años y los cruces raciales fueron los más prevalentes, aunque la infección por el protozooario se presenta con mayor frecuencia en terneros, los adultos pueden convertirse en fuente de diseminación del parásito, por lo que su prevención y control debe ser primordial en los hatos. La compra de animales

y las producciones de mayor tamaño se consideraron como factores de riesgo para la parasitosis; en este sentido, las prácticas sanitarias y de manejo deben ser ajustadas de tal manera que en los sistemas extensivos y en aquellos en donde se permite el ingreso de animales sin conocer antecedentes sanitarios, se minimice la excreción de ooquistes en materia fecal.

### Conflicto de intereses

Los autores del presente artículo declaran que no existe ningún tipo de conflicto de intereses, ni ninguna relación económica, personal, política, interés financiero, ni académico que pueda influir en el juicio de los mismos.

### Literatura citada:

1. Mammeri M, Chevillot A, Chenafi I, Thomas M, Julien C, Vallée I, Polack B, Follet J, Adjou K. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from diarrheal dairy calves in France. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2019;18:1–8.
2. Das K, Nair LV, Ghosal A, Sardar SK, Dutta S, Ganguly S. Genetic characterization reveals evidence for an association between water contamination and zoonotic transmission of a *Cryptosporidium* sp. from dairy cattle in West Bengal, India. *Food Waterborne Parasitol* 2019;17:1–5.
3. Widmer G, Köster PC, Carmena D. *Cryptosporidium hominis* infections in non-human animal species: revisiting the concept of host specificity. *Int J Parasitol* 2020;50:253–262.
4. Seyoum-Tarekegn Z, Tigabu Y, Dejene H. *Cryptosporidium* infection in cattle and humans in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Parasite Epidemiol Control* 2021;14:1-15.
5. Guy RA, Yanta CA, Bauman CA. Molecular identification of *Cryptosporidium* species in Canadian post-weaned calves and adult dairy cattle. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2022;34:1-7.
6. Olalekan Odeniran P, Oluwafemi Ademola I. Epidemiology of *Cryptosporidium* infection in different hosts in Nigeria: A meta-analysis. *Parasitol Int* 2019;71:194–206.
7. Bones AJ, Jossé L, More C, Miller CN, Michaelis M, Tsaousis AD. Past and future trends of *Cryptosporidium in vitro* research. *Exp Parasitol* 2019;196:28–37.
8. Putignani L. *Cryptosporidium*. In: Elsevier. *Encyclopedia of Infection and Immunity* 2022:450–462.

9. Guo Y, Ryan U, Feng Y, Xiao L. Emergence of zoonotic *Cryptosporidium parvum* in China. *Trends Parasitol* 2022;38(4):335–343.
10. Ouakli N et al. *Cryptosporidium*-associated diarrhea in neonatal calves in Algeria. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2018;12:78–84.
11. Woolsey ID, Zeller WE, Blomstrand BM, Øines Ø, Enemark HL. Effects of selected condensed tannins on *Cryptosporidium parvum* growth and proliferation in HCT-8 cell cultures. *Exp Parasitol* 2022;241:1–6.
12. OIE. Office International des Epizooties. Criptosporidiosis. (2.4.13). Manual de la OIE sobre animales terrestres. 2016:1-17.
13. Ballesteros CMF, Paramo MAP. Prevalencia de *Cryptosporidium* spp en terneros menores de 30 días en el Valle de Ubaté-Chiquinquirá Colombia [Trabajo de pregrado]. Colombia, Bogotá. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A; 2019.
14. Castrillón FD. INFORME: Cuencas lecheras, motores de la producción nacional. Contexto ganadero 2014. <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/informe-cuencas-lecheras-motores-de-la-produccion-nacional>. Consultado: Abr 20, 2023.
15. Chiquinquirá A. Información del municipio. <https://www.chiquinquiraboyaca.gov.co/MiMunicipio/Paginas/Informacion-del-Municipio.aspx> 2023; Consultado Abr 20, 2023.
16. ICA. (2022). Censo Pecuario Nacional. Censo Bovino en Colombia. <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>; Consultado Abr 20, 2023.
17. Muhammad Zaglool DA, Mohamed A, Wahid Khodari YA, Usman Farooq M. *Crypto-Giardia* antigen rapid test versus conventional modified Ziehl-Neelsen acid-fast staining method for diagnosis of cryptosporidiosis. *Asian Pac J Trop Med* 2013;63:212–215.
18. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. 2nd ed. New Jersey, USA: Editorial Blackwell Publishing Ltd.; 2005.
19. Martin SW, Meek A, Willebreg P. *Veterinary epidemiology: Principles and methods*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.; 1997.
20. Abdullah DA et al. Molecular detection and epidemiological risk factors associated with *Cryptosporidium* infection among cattle in Peninsular Malaysia. *Food Waterborne Parasitol* 2019;12:1–9.

21. Hagos B, Molestina RE. A simple alcohol-based method of oocyst inactivation for use in the development of detection assays for *Cryptosporidium*. Food Waterborne Parasitol 2022;27:1–11.
22. Mahmoudi MR, Ongerth JE, Karanis P. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis: The Asian perspective. Int J Hyg Environ Health 2017;220(7):1098–1109.
23. Deksne G, Mateusa M, Cvetkova S, Derbakova A, Keidāne D, Troell K, Schares G. Prevalence, risk factor and diversity of *Cryptosporidium* in cattle in Latvia. Vet Parasitol Reg Stud Reports 2022;28:1–11.
24. López TLL, López CO, Vázquez VC, Alvarado GOG, Vázquez AR, Rodríguez FH, *et al.* Prevalencia de *Cryptosporidium* spp. en hatos lecheros de la región lagunera, México. Rev Bio Cienc 2020;7(811):1–14.
25. Avendaño C, Amaya Á, Bayona M. Caracterización epidemiológica de la criptosporidiosis en bovinos de la región Sabana Centro (Cundinamarca). Rev. U.D.C.A Act Div Cient 2010;13(2):109–116.
26. Avendaño C, Quílez J, Sánchez-Acedo C. Prevalencia de *Cryptosporidium* en terneros en el Valle de Ubaté – Chiquinquirá (Colombia). Rev U.D.C.A Act Div Cient 2010;13(1):41–47.
27. Montaña JS, Avendaño C. Contribución al conocimiento de la epidemiología de la criptosporidiosis bovina en el Valle de Chiquinquirá. Rev U.D.C.A Act Div Cient 2012;15(2):391–398.
28. Pulido-Medellín MO, Andrade-Becerra RJ, Iván Rodríguez-Vivas R, Garcia-Corredor DJ. Prevalencia y posibles factores de riesgo en la excreción de ooquistes de *Cryptosporidium* spp en bovinos de Boyacá, Colombia. Rev Mex Cienc Pecu 2014;5(3):357–364.
29. Avendaño C, Ramo A, Vergara-Castiblanco C, Sánchez-Acedo C, Quílez J. Genetic uniqueness of *Cryptosporidium parvum* from dairy calves in Colombia. Parasitol Res 2018;117(5):1317–1323.
30. Constancis C, Ravinet N, Bernard M, Lehebel A, Brisseau N, Chartier C. Rearing system with nurse cows and risk factors for *Cryptosporidium* infection in organic dairy calves. Prev Vet Med 2021;190:1–8.
31. Manyazewal A, Stomeo F, Pal M, Gezahegn M, Tesfaye M, Lucy M, Teklu W, Getachew T. Prevalence, risk factors and molecular characterization of *Cryptosporidium* infection in cattle in Addis Ababa and its environs, Ethiopia. Vet Parasitol Reg Stu Reports 2018;13:79–84.

32. Li X. *et al.* Statewide cross-sectional survey of *Cryptosporidium* and *Giardia* in California cow-calf herds. *Rangel Eco Management* 2019;72:461–466.
33. Holzhausen I, Lendner M, Dauschies A. Bovine *Cryptosporidium parvum* field isolates differ in cytopathogenicity in HCT-8 monolayers. *Vet Parasitol* 2019;273:67–70.
34. Åberg M, Emanuelson U, Troell K, Björkman C. Infection dynamics of *Cryptosporidium bovis* and *Cryptosporidium ryanae* in a Swedish dairy herd. *Vet Parasitol* 2019;276S:1–6.
35. Åberg M, Emanuelson U, Troell K, Björkman C. A single-cohort study of *Cryptosporidium bovis* and *Cryptosporidium ryanae* in dairy cattle from birth to calving. *Vet Parasitol Reg Stu Reports* 2020;20:1–5.
36. Russell S, Power M, Ens E. *Cryptosporidium* and *Giardia* in feral water buffalo (*Bubalus bubalis*) in the South East Arnhem Land Indigenous Protected Area, Australia. *Parasitol Res* 2020;119(7):2149–2157.



**Influencia del tipo de recipiente y de los métodos tradicionales en el almacenamiento a largo plazo de la miel producida por *Scaptotrigona mexicana* sin aguijón: compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes**

Naida Juárez-Trujillo <sup>a</sup>

Simón Carrouché <sup>b,c</sup>

María Remedios Mendoza-López <sup>d</sup>

Juan L. Monribot-Villanueva <sup>e</sup>

José A. Guerrero-Analco <sup>e</sup>

Maribel Jiménez-Fernández <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Veracruzana. Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Av. Dr. Luis Castelazo, s/n. 91000. Xalapa, Veracruz, México.

<sup>b</sup> Istom. Ecole-Supérieure D'agro-Développement International, Francia.

<sup>c</sup> Chasseurs De Saveurs S.L. de R.L. Company, Veracruz, México.

<sup>d</sup> Instituto de Química Aplicada, Universidad Veracruzana, Veracruz, México.

<sup>e</sup> Instituto de Ecología, A.C. Red de Estudios Moleculares Avanzados. Veracruz, México.

\*Autor de correspondencia: maribjimenez@uv.mx

**Resumen:**

La miel de *Scaptotrigona mexicana* se caracteriza por sus propiedades nutricionales y antioxidantes, pero tiene un alto contenido de humedad que afecta su estabilidad durante el almacenamiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes mediante espectroscopía UV-Visible, perfil de compuestos fenólicos por cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas y ácidos

grasos y compuestos volátiles mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, minerales por espectroscopía de emisión atómica de plasma de microondas, a partir de miel almacenada en diferentes recipientes que, junto con los métodos tradicionales, se utilizan comúnmente para aumentar su estabilidad. La mayoría de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes no fueron significativamente diferentes de las de la miel recién cosechada. Los resultados sugieren que el envase con válvula de retención de escape tiene un efecto significativo en la disminución del contenido de humedad y la actividad del agua, pero no en las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes durante al menos 2 años de almacenamiento. Estos resultados sugieren que el tipo de recipiente debe considerarse al momento de almacenar la miel, ya que afecta significativamente ( $P < 0.05$ ) sus propiedades y calidad.

**Palabras clave:** Actividad antioxidante; Recipiente; Miel; *Scaptotrigona mexicana*; Abejas meliponas sin aguijón.

Recebido: 08/05/2023

Aceptado: 01/10/2024

## Introducción

La miel de las abejas sin aguijón es muy demandada por los consumidores, debido a sus propiedades curativas y a su calidad<sup>(1)</sup>. Sin embargo, este tipo de miel se caracteriza por un mayor contenido de humedad, lo que aumenta la probabilidad de su deterioro. Además, se ha reportado que el exceso de agua puede ser un atributo negativo de calidad, ya que crea un alto riesgo de inducir procesos de fermentación y, consecuentemente, alterar las propiedades organolépticas de la miel<sup>(2)</sup>. Se han reportado diversas metodologías para mantener las propiedades nutricionales y sensoriales de la miel, aumentar su estabilidad y mejorar sus condiciones de manejo y comercialización para obtener un producto inocuo para el consumidor<sup>(3)</sup>, como el uso de la deshidratación en bandejas de plástico utilizando hornos de temperatura controlada<sup>(4)</sup>. No obstante, la exposición a altas temperaturas produce un aumento en el contenido de hidroximetilfurfural<sup>(5)</sup>. Se ha reportado que el calentamiento a temperatura de ebullición elimina las levaduras y reduce el contenido de humedad y que ciertos recipientes, como las ollas de barro sin esmaltar, producen una reducción en el contenido de humedad de hasta un 20 %, aumentando la vida útil de la miel<sup>(6)</sup>. Sin embargo, los recipientes de barro tienen la desventaja de ser frágiles, de baja capacidad y no funcionales para el transporte. En un método tradicional utilizado en la región del Totonacapan, Veracruz, México, se agregan frijoles a la miel ya que, según los habitantes, estas semillas absorben la humedad de la miel, haciéndola más estable. Otra técnica tradicional es el uso del envasado al vacío para evitar la entrada de aire. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue investigar el efecto del almacenamiento en diferentes recipientes de plástico sobre las

propiedades fisicoquímicas, antioxidantes, compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos, minerales y compuestos volátiles en la miel durante el almacenamiento.

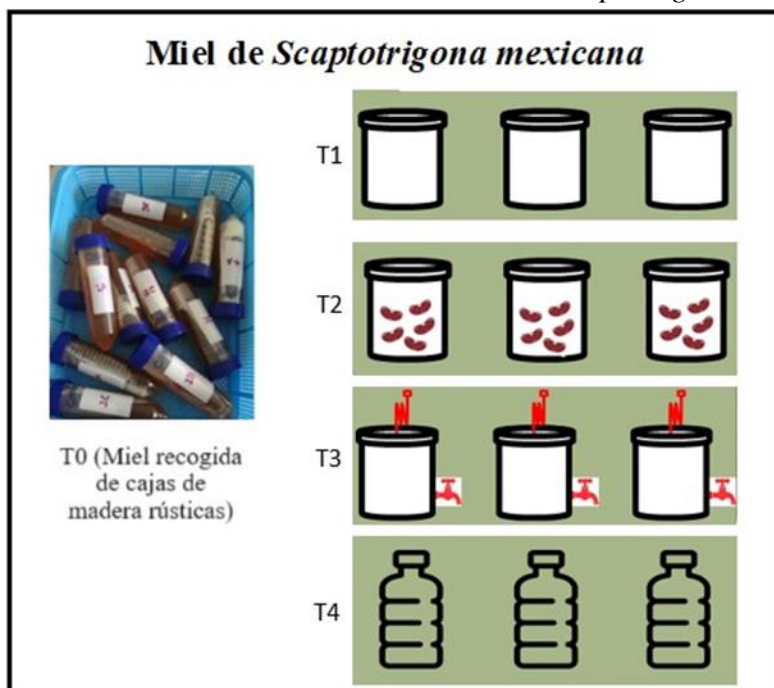
## **Material y métodos**

### **Productos químicos**

2,2'-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Trolox (ácido 6-hidroxi-gálico), quercetina, reactivo de Folin-Ciocalteu y 2,4,6-Tris(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) se compraron a Sigma (St. Louis, MO, EE. UU.).

### **Recolección de muestras**

Veinticuatro (24) litros de miel fueron provistos por la empresa Chasseurs De Saveurs S.A. C.V. Se recolectaron en la región de Zozocolco, Veracruz, México. Las muestras se recolectaron de colmenas en cajas rústicas de madera que los meliponicultores guardan en sus casas. La extracción se realizó durante el mes de mayo de 2018 utilizando una jeringa de 20 ml. El lote de 24 L de miel recolectada se dividió en cuatro lotes (6 L por lote). La miel de cada lote se dividió en tres recipientes de 2 L (Figura 1). T0 (control) se utilizó inmediatamente para el análisis de los parámetros evaluados y se recolectó de cajas rústicas de madera. Los lotes T1 a T4 se colocaron en recipientes de plástico comúnmente utilizados para la comercialización de miel. La descripción de los tratamientos se presenta a continuación: T1: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco (polietileno de alta densidad), T2: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco adicionada con cinco semillas de frijol, T3: miel almacenada en una bandeja de plástico opaco con válvula de retención de escape (ZAZOLYNE, China) utilizada en la fermentación de vinos, T4: miel almacenada en un recipiente de plástico transparente (tereftalato de polietileno, 1). Las muestras de miel se colocaron en una habitación con una temperatura de 25 °C y se analizaron al inicio y después de 2 años de almacenamiento. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

**Figura 1:** Tratamientos de envasado de miel de *Scaptotrigona mexicana*

T0= control; T1= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco; T2= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco adicionada con cinco semillas de frijol; T3= miel almacenada en una bandeja de plástico opaco con válvula de retención de escape; T4= miel almacenada en un recipiente de plástico transparente.

### Propiedades fisicoquímicas

Se determinó la humedad, la conductividad eléctrica, el pH y la acidez titulable de las muestras de miel, utilizando los procedimientos analíticos estándar apropiados<sup>(7)</sup>. La conductividad eléctrica se determinó con un medidor de conductividad (Mettler Toledo, modelo ME 226, Pittsburgh, EE. UU.) y la actividad del agua se midió con un medidor de actividad de agua (AquaLab, Modelo 4TE, Meter group, Inc, EE. UU.). El color se midió con un colorímetro (ColorFlex V1-72 SNHCX 1115, Hunter Lab, EE. UU.) utilizando los parámetros CIE L\*a\*, b\* y se calculó el cambio total de color, el índice de pardeamiento y el croma.

### Contenido total de compuestos fenólicos, vitamina C y actividad antioxidante

El contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante: los ensayos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), FRAP (capacidad de reducción férrica del plasma) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) se determinaron utilizando extracto metanólico de miel con dilución 1:100<sup>(8)</sup>.

Los compuestos fenólicos totales se determinaron mediante el método de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones<sup>(9)</sup>. Se mezclaron 30 µl de cada muestra y 30 µl de Folin-Ciocalteu y se incubaron durante 2 min (40 °C). Después de añadir 240 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5 %), se incubaron durante 20 min (40 °C). Después de ese tiempo, se leyó la absorbancia ( $\lambda$ = 765 nm). El contenido de vitamina C se determinó mediante una curva estándar elaborada con ácido L-ascórbico (99 % de pureza; Sigma Rec. 84272, St. Louis, Missouri, EE. UU.) a una concentración de 0-50 mg y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico (EAA) por gramo.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH se determinó mezclando 30 µl de cada muestra con 270 µl de reactivo DPPH, luego se incubó durante 30 min, posteriormente se leyó la absorbancia ( $\lambda$ = 517 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Se determinó el ABTS, se mezclaron 30 µl de extracto y 270 µl de reactivo ABTS y luego se incubaron durante 30 min (25 °C). A continuación, se midió la absorbancia ( $\lambda$ = 734 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Finalmente, se determinó la FRAP, se mezclaron 30 µl de extracto y 270 µl de reactivo FRAP, luego se incubó durante 30 min (37 °C) y se midió la absorbancia ( $\lambda$ = 593 nm, Multiskan FC, modelo IVD, Finlandia). Para las dos técnicas se realizó una curva de calibración de Trolox de 0.1-1 mg/ml<sup>(9)</sup>. Los resultados se expresan en miligramos de equivalentes de Trolox por gramo de peso seco de cada muestra.

### **Análisis UPLC-MS**

Para los extractos de miel, se pesó un gramo de miel, se añadieron 10 mL de metanol y se sometió a ultrasonicación (microprocesador ultrasónico VCX 750 Sonics Materials, Connecticut, EE. UU.) durante 10 min, este proceso se repitió hasta el agotamiento. Posteriormente, el disolvente se evaporó hasta la sequedad en un evaporador rotativo (Rotavapor R-100, Büchi, Flawil, Suiza). A continuación, el extracto de miel (10 mg) se volvió a disolver en 1.0 ml de MeOH con 0.1 % de ácido fórmico (ambos de grado MS, Sigma-Aldrich), se filtró y se colocó en un vial de cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLC, por sus siglas en inglés) de 1.5 ml. La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos individuales se realizó con un UPLC acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Agilent Technologies 1290-6460, Santa Clara, California, EE. UU.). Las condiciones cromatográficas fueron: flujo 0.3 ml/min, volumen de inyección 2 µL y temperatura de columna 40 °C. El gradiente comenzó en 1 % B, luego cambió a 50 % B en 30 min, luego 99 % B en 4 min seguido de un paso isocrático a 99 % B durante 4 min. Posteriormente, un gradiente a 1 % B en 1 min seguido de un paso isocrático durante 5 min. Las condiciones de espectrometría de masas fueron ionización por electrospray en modo positivo y negativo, temperatura (T) del gas 300 °C y T del gas de la vaina 250 °C con flujos de 5 y 11 L/min, respectivamente. La presión del nebulizador fue de 45 Psi y los voltajes del capilar y boquilla fueron de 3,500 y 500 V, respectivamente. Se buscaron cuarenta y ocho

(48) compuestos: ácido shikímico, ácido gálico, L-fenilalanina, ácido protocatecuico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido gentísico, ácido 4-hidroxifenilacético, (-)-epigallocatequina, (+)-catequina, ácido vainílico, escopolina, ácido clorogénico, ácido cafeico, malvina, kuromanina, procianidina B2, vainillina, queracianina, (-)-epicatequina, ácido 4-cumárico, mangiferina, umbeliferona, (-)-galato de galocatequina, escopoletina, ácido ferúlico, quercetina 3,4-di-O-glucósido, ácido 3-cumárico, ácido salicílico, ácido sinápico, galato de epicatequina, ácido elágico, miricitrina, pelargonidina, quercetina 3-D-galactósido, rutina, ácido p-anísico, quercetina 3-glucósido, luteolina 7-O-glucósido, malvidina, ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzoico, penta-O-galoil-B-D-glucosa, kaempferol 3-O-glucósido, quercitrina, naringina, ácido rosmarínico, ácido trans-cinámico, luteolina y kaempferide. Cada compuesto se identificó mediante un método dinámico de monitoreo de reacciones múltiples y se cuantificó mediante curvas de calibración de 0.25 a 19  $\mu\text{M}$ , con un coeficiente de determinación superior a 0.99<sup>(9)</sup>.

### Compuestos de GC-MS

Los compuestos volátiles (ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos característicos de este tipo de muestra) se determinaron en 3.0 g de miel almacenada. La miel se colocó en un vial sellado con una tapa de PTFE/Teflón y se calentó a 100 °C, luego se inyectó la muestra utilizando un espacio de cabeza modelo 7694E de Agilent Technologies y un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies™, modelo 6890 N, Network GC system, Santa Clara, California, EE. UU.) equipado con una columna capilar DB-5 (60 m  $\times$  0.25 mm DI  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de película). Las condiciones de GC fueron temperatura inicial: 45 °C durante 5 min, rampa de calentamiento: 15 °C/min hasta 280 °C, durante 1 min. Helio a un flujo de 1 ml/min, temperatura del inyector de 250 °C. La identificación de compuestos volátiles se realizó por espectrometría de masas utilizando el espectrómetro de masas XL inerte modelo 5975 de Agilent Technologies™, los espectros de masas se obtuvieron por ionización por impacto electrónico a 70 eV. Para su identificación, los espectros de masas obtenidos para cada compuesto se compararon con una base de datos (programa de búsqueda de espectros de masas HP Chemstation-NIST 05, versión 2.0d).

### Perfil de ácidos grasos

El material aceitoso se extrajo de la miel utilizando un extractor Soxhlet con hexano (60-80 °C) durante 6 h. El extracto aceitoso se filtró y concentró al vacío (Büchi, Flawil, Suiza) para obtener extractos crudos. Los Ésteres Metílicos de Ácidos Grasos (EMAG) se obtuvieron mediante un proceso de esterificación y se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés)<sup>(10)</sup>. Se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies™, modelo 6890 N, Network GC system, Santa Clara, California, EE. UU.) equipado con una columna DB-5 (metilpolisiloxano al 5 %, cat-

1225082, J&W Scientific, EE. UU.). Las condiciones de GC fueron temperatura inicial: 150 °C durante 5 min, rampa de calentamiento: 30 °C/min a una temperatura de 210 °C, 1 °C/min a 213 °C durante 40 min, finalmente 20 °C/min hasta 280 °C durante 40 min. Helio a un flujo de 1 mL/min, temperatura del inyector de 250 °C. La identificación de los ácidos grasos se realizó mediante espectrometría de masas utilizando el espectrómetro de masas XL inerte modelo 5975 de Agilent Technologies™. La identidad de cada ácido graso se asignó mediante un patrón externo (mezcla de EMAG, C8:C22, no. de cat. 18920-1AMP, Sigma-Aldrich) que contenía: ácido octanoico, ácido decanoico, ácido undecanoico, ácido dodecanoico, ácido tridecanoico, ácido tetradecanoico, ácido pentadecanoico, ácido 9-hexadecenoico, ácido hexadecanoico, ácido *cis*-9,12, heptadecanoico, ácido octadecadienoico, ácido *cis*-9-octadecaenoico, ácido heptadecanoico, ácido eicosanoico, ácido 11-eicosenoico.

### **Análisis de minerales**

Para la extracción de minerales, la miel (1 g) se digirió en tubos digestores con una solución de ácido nítrico (5 %) en una proporción de 1:10 (p:v). Los tubos se colocaron en un digestor Kjeldahl (Speed Digester K-439, Büchi, Flawil, Suiza) y se digirieron a 170 °C durante 2 h hasta obtener una solución casi clara. Esta solución se filtró y posteriormente se transfirió a un matraz aforado de 50 ml y se diluyó con HNO<sub>3</sub> al 5 % para finalmente ser inyectada. La determinación se realizó con un MP-AES Agilent 4100 (Santa Clara, California, EE. UU.) compuesto por un nebulizador inerte One Neb, una cámara de nebulización ciclónica de vidrio de doble paso y un detector de carga acoplada (CCD, por sus siglas en inglés) de estado sólido. El flujo del gas de plasma fue de 20 L/min y el flujo de gas de reposición de 1.5 L/min. Se realizó una curva de calibración a partir de una mezcla de 27 elementos (Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Si, Sr, Ti, Tl, V, Zn) con ocho puntos (concentraciones: 100, 75, 50, 25, 10, 7.5, 5.0 y 1 ppm). El coeficiente de determinación fue superior a 0.98 para cada elemento. Las condiciones del equipo para el análisis fueron: tiempo de captura 13 seg, tiempo de estabilización del plasma con aspiración de muestra 15 seg, tiempo de lectura 3 seg (lectura por triplicado) y tiempo de lavado 20 seg.

### **Análisis microbiológico**

El recuento de bacterias aeróbicas mesófilas totales y de mohos y levaduras se realizó pesando 1 g de miel que se mezcló con 9 ml de tampón PBS. Posteriormente, se realizaron diluciones seriales hasta obtener la dilución 10<sup>-9</sup>. Finalmente, se sembró 1 ml de cada dilución en placas de Petri y en agar de recuento en placa (Difco™, BD Detroit, EE. UU.) y agar PDA (agar papa dextrosa, agar de recuento en placa BD™ Difco™) para aeróbicos se vertieron bacterias y mohos y levaduras, respectivamente. Finalmente, se incubaron durante 48 h y 5 días a 35 °C, y se contaron las colonias.

## Análisis estadístico

El tratamiento y el análisis se realizaron por triplicado, y los valores se expresaron como media  $\pm$  DE (desviación estándar). Todos los datos se analizaron utilizando varianza de una sola vía (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey con un nivel de significancia de 5 % ( $P < 0.05$ ) utilizando el software estadístico Minitab 16 (Minitab Inc. State College, PA, EE. UU.)<sup>(6)</sup>.

## Resultados

### Análisis de propiedades fisicoquímicas

En el Cuadro 1 se muestran las propiedades fisicoquímicas de la miel almacenada en diferentes envases. El contenido de humedad de las muestras analizadas varió de 20.60 a 23.40 %, mientras que la actividad de agua varió de 0.663 a 0.675 después de 2 años de almacenamiento en los diferentes tratamientos. La miel almacenada en un recipiente con válvula anaeróbica mostró la mayor disminución en el contenido de humedad (20.60 %) y en la actividad de agua (0.667) en comparación con el tratamiento control, seguida de la miel almacenada en un recipiente de plástico transparente (contenido de humedad: 22.80 %,  $a_w = 0.675$ ). El alto contenido de humedad está relacionado con el ambiente en el que se encuentran las flores de las que las abejas recolectan néctar. Además, se debe considerar que la miel obtenida de abejas sin aguijón contiene una mayor cantidad de agua, por lo que el efecto que el tipo de recipiente y su permeabilidad tiene un mayor efecto en su estabilidad en comparación con la miel comercial obtenida de *Apis mellifera*<sup>(3,5)</sup>.

Los parámetros de color de la miel exhibieron ligeros cambios durante el almacenamiento; estos cambios se reflejaron en los valores de croma y en el cambio total de color. La muestra almacenada en recipientes transparentes (T4) presentó un mayor cambio total de color (8.08).

El pH de las muestras varió ligeramente de 3.23 a 3.66. Los valores de pH obtenidos en las muestras estuvieron en el rango reportado para este tipo de miel<sup>(11)</sup>. La acidez total de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes (T1-T4) varió de 85.66 a 87.33 meq/kg. Las muestras almacenadas en los diferentes tipos de recipientes (T2-T4) no fueron significativamente diferentes entre sí, pero sí de la muestra control (73.66 meq/kg). Los valores de acidez para los tratamientos T1-T4 fueron similares a los reportados para la miel de abejas sin aguijón, de 85 meq/100 g<sup>(12)</sup>. Los valores de hidroximetilfurfural (HMF) de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes (4.00-4.78 mg/kg) no fueron significativamente diferentes de los del tratamiento testigo (4.09 mg/kg).



## Análisis de la actividad antioxidante

El Cuadro 2 muestra que el contenido de compuestos fenólicos totales, vitamina C y compuestos antioxidantes de la miel almacenada en los diferentes recipientes no fueron significativamente diferentes ( $P>0.05$ ) al del tratamiento control, excepto para la vitamina C y la inhibición de radicales DPPH. El contenido de compuestos fenólicos totales varió de 12.55 a 14.31 mg EAG/100 g de miel y el de vitamina C de 86.86 a 114.17 mg AA/g. De acuerdo con estos valores, la actividad antioxidante determinada por la actividad de eliminación de radicales DPPH presentó altos valores de inhibición (75.57-94.70 %). Del mismo modo, el rango de valores determinado por las pruebas de FRAP (2.23-3.70 mg ET/g) y ABTS (0.61-1.13 mg ET/g) para los diferentes tipos de recipientes muestra que la miel contiene compuestos con una alta capacidad para reducir los iones férricos y que son estables durante el almacenamiento. Estos resultados son consistentes con los reportados para otros tipos de miel<sup>(13)</sup> y opuestos a los reportados para la miel sometida a una temperatura de 22-40 °C después de 90 días de almacenamiento<sup>(14)</sup>.

**Cuadro 2:** Propiedades antioxidantes de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Propiedad	T0	T1	T2	T3	T4
Vitamina C, mg EAA/g	91.40 ± 5.24 <sup>a,b</sup>	87.50± 8.26 <sup>a</sup>	86.86±1.02 <sup>a</sup>	114.17±2.16 <sup>d</sup>	106.64±1.35 <sup>c</sup>
Compuestos fenólicos totales, mg EAG/g	12.55 ± 3.24 <sup>a</sup>	13.46± 3.19 <sup>a</sup>	14.06±3.70 <sup>a</sup>	11.82±3.50 <sup>a</sup>	14.31± 2.63 <sup>a</sup>
Inhibición de DPPH, %	87.25 ± 2.65 <sup>b</sup>	94.05±2.69 <sup>c</sup>	75.57±5.65 <sup>a</sup>	94.70±1.88 <sup>c</sup>	84.71±4.65 <sup>b</sup>
FRAP, mg ET/g	2.97 ± 0.95 <sup>a</sup>	3.70±1.87 <sup>a</sup>	2.94±1.05 <sup>a</sup>	2.23±0.98 <sup>a</sup>	2.94±1.60 <sup>a</sup>
ABTS, mg ET/g	0.68 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.61±0.22 <sup>a</sup>	0.72±0.31 <sup>a</sup>	0.69±0.24 <sup>a</sup>	1.13±0.76 <sup>a</sup>

Los valores se muestran como la media ± DE (n=3). EAA= equivalentes de ácido ascórbico. EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox.

<sup>abc</sup> Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ( $P<0.05$ ).

## Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos mediante UPLC-MS

En el Cuadro 3 se muestra el análisis de los compuestos fenólicos presentes en la miel recién cosechada y en la miel almacenada en diferentes recipientes. Se identificaron un total de 17 compuestos fenólicos más dos precursores (ácido shikímico y *L*-fenilalanina) en la miel almacenada en los diferentes recipientes. El ácido shikímico (35511-38504.90 µg/g de extracto seco), el ácido 4-hidroxibenzoico (2781.36-2996.87 µg/g de extracto seco), el ácido

4-hidroxifenilacético (1685.49-2294.62 µg/g de extracto seco) y la *L*-fenilalanina (2917.68-3004.45 µg/g de extracto seco) fueron los principales compuestos de las muestras. No se encontraron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) en la mayoría de los compuestos fenólicos y precursores de las muestras almacenadas en los diferentes recipientes después de 2 años de almacenamiento. Los compuestos fenólicos ácido gentísico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido *p*-anísico y el precursor ácido shikímico presentaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en las muestras almacenadas en los diferentes recipientes, principalmente en T4 (miel almacenada en un recipiente de plástico transparente). El perfil de compuestos fenólicos encontrados fue similar al reportado para la miel sin agujón por otros autores<sup>(8)</sup>, sin embargo, se encontraron variaciones con relación a la concentración, estas diferencias en la concentración han sido atribuidas a la variación floral y geográfica y a la época de recolección<sup>(8)</sup>.

### Compuestos volátiles

El Cuadro 4 muestra que se encontraron 18 compuestos volátiles en la miel en los diferentes tratamientos, siendo el acetato de etilo (20.20-30.24 %), el óxido de *cis*-linalool (30.05-34.73 %), el óxido de *trans*-linalool (12.97-15.75 %) y el 1,5,7-octatrien-3-ol, 3,7-dimetil, (12.55-14.67 %) los principales compuestos, los cuales representan aproximadamente el 50 % de los compuestos volátiles presentes en las muestras. Los derivados del alcohol fueron los predominantes en la miel durante el almacenamiento.

**Cuadro 4:** Compuestos volátiles (%) determinados en la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

N	Nombre del compuesto	TR (min)	T0	T1	T2	T3	T4
1	Acetato de etilo	5.46	-	20.20 <sup>b</sup>	22.25 <sup>b</sup>	30.24 <sup>c</sup>	28.67 <sup>c</sup>
2	3-metilbutanal	5.66	-	-	-	-	-
3	Hexano, 3 metil	7.46	-	1.79 <sup>a</sup>	1.77 <sup>a</sup>	2.18 <sup>b</sup>	1.91 <sup>b</sup>
4	2-Hexeno, 3 metil	8.64	-	0.240 <sup>b</sup>	0.236 <sup>b</sup>	0.272 <sup>c</sup>	0.16 <sup>a</sup>
5	Ácido propanoico, 2-hidroxi-, éster etílico	8.83	8.85 <sup>c</sup>	1.49 <sup>a</sup>	1.54 <sup>a</sup>	1.78 <sup>b</sup>	1.66 <sup>b</sup>
6	Furfural	9.60	-	1.71 <sup>b</sup>	1.87 <sup>b</sup>	0.96 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>
7	D-Limoneno	10.90	0.37	-	-	-	-
8	Acetato de 2-heptanal	10.93	1.38	-	-	-	-
9	Alcohol lilac B	11.05	-	0.14 <sup>b</sup>	0.15 <sup>b</sup>	0.110 <sup>a</sup>	0.112 <sup>a</sup>
10	Alcohol lilac C	11.19	0.09 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>
11	Benzaldehído	11.68	0.87 <sup>a</sup>	1.76 <sup>b</sup>	1.98 <sup>b</sup>	1.99 <sup>b</sup>	2.47 <sup>c</sup>
12	<i>trans</i> - $\gamma$ -cariofileno	11.89	18.72	-	-	-	-
13	Benceno acetaldehído	12.53	-	6.93 <sup>b</sup>	6.19 <sup>b</sup>	3.24 <sup>a</sup>	3.70 <sup>a</sup>
14	Oxido de <i>cis</i> -linalool	12.71	48.07 <sup>c</sup>	34.09 <sup>b</sup>	34.73 <sup>b</sup>	30.05 <sup>b</sup>	31.51 <sup>b</sup>

15	Oxido de <i>trans</i> -linalool	12.90	21.648 <sup>b</sup>	15.75 <sup>a</sup>	14.81 <sup>a</sup>	12.97 <sup>a</sup>	13.44 <sup>a</sup>
16	1,5,7-octatrien-3-ol, 3,7-dimetil	13.11	-	13.67 <sup>a</sup>	12.55 <sup>a</sup>	14.67 <sup>a</sup>	13.44 <sup>a</sup>
17	Oxido de nerol	13.67	-	1.52 <sup>c</sup>	1.25 <sup>b</sup>	0.85 <sup>a</sup>	1.51 <sup>c</sup>
18	Oxido de linalool	14.00	-	0.61 <sup>a</sup>	0.62 <sup>a</sup>	0.69 <sup>a</sup>	0.69 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  DE (n=3).

TR= tiempo de retención.

<sup>ab</sup> Las letras diferentes en la misma fila son diferentes ( $P < 0.05$ ). --No presente.

## Ácidos grasos presentes en la miel

El análisis del extracto de hexano de las muestras de miel reveló la presencia de ocho ácidos grasos (Cuadro 5). El ácido hexadecanoico (31.12-49.65 %), el ácido octadecanoico (21.48-26.86 %) y el ácido *cis*-9-octadecadienoico (14.31-40.04 %) fueron los principales compuestos encontrados en las diferentes muestras almacenadas.

**Cuadro 5:** Área relativa (%) de ácidos grasos en el extracto de hexano en la miel recién cosechada (T0-control) y almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Nombre del compuesto	TR (min)	T0	T1	T2	T3	T4
Ácido decanoico	6.42	-	0.47 <sup>d</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.19 <sup>a</sup>
Ácido dodecanoico	8.34	29.72 <sup>c</sup>	1.96 <sup>a</sup>	7.02 <sup>b</sup>	2.27 <sup>a</sup>	1.90 <sup>a</sup>
Ácido tetradecanoico	10.49	1.91 <sup>c</sup>	2.07 <sup>b</sup>	1.15 <sup>a</sup>	2.48 <sup>b</sup>	1.19 <sup>a</sup>
Ácido 9-hexadecenoico	12.21	-	0.65 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>
Ácido hexadecanoico	12.41	22.27 <sup>a</sup>	43.08 <sup>c</sup>	34.33 <sup>b</sup>	49.65 <sup>c</sup>	31.12 <sup>b</sup>
Ácido <i>cis</i> -9,12, Octadecadienoico	13.79	1.41 <sup>a</sup>	2.96 <sup>b</sup>	3.24 <sup>b</sup>	3.71 <sup>b</sup>	3.41 <sup>b</sup>
Ácido <i>cis</i> -9-octadecadienoico	13.83	15.90 <sup>a</sup>	22.36 <sup>b</sup>	32.23 <sup>c</sup>	14.31 <sup>a</sup>	40.04 <sup>d</sup>
Ácido octadecanoico	13.98	28.80 <sup>b</sup>	26.47 <sup>b</sup>	21.44 <sup>a</sup>	26.86 <sup>b</sup>	21.48 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  DE (n=3).

TR= tiempo de retención.

<sup>abcd</sup> Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). -No presente.

## Análisis del contenido de minerales

El contenido de minerales se mantuvo constante durante el almacenamiento, y descendió en el siguiente orden: K > Mg > Ca > Na > Si, para la miel almacenada en los diferentes recipientes (Cuadro 6). La concentración de As, Be, Cd, Mo, Ni, Pb, Sb, Ti, Tl y V fue similar a la reportada por Villacrés-Granda *et al*<sup>(2)</sup>. El K (109.36-125.68 mg/100 g PS) y el Mg (31.60-100.49 mg/100 g PS) se encontraron en concentraciones más altas en comparación con los otros minerales presentes. El potasio fue el mineral mayoritario, representando un tercio del contenido total y superando al de otros minerales en aproximadamente 10 veces. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los minerales investigados en la mayoría de las muestras evaluadas durante el almacenamiento.

**Cuadro 6:** Minerales y elementos traza (mg/100 g PS) en la miel recién cosechada (T0-testigo) y almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Mineral	T0	T1	T2	T3	T4
Al	1.378±0.01 <sup>a</sup>	1.352±0.04 <sup>a</sup>	1.451±0.10 <sup>a</sup>	1.221±0.07 <sup>a</sup>	1.235±0.00 <sup>a</sup>
As	-	-	-	-	-
B	1.670±0.02 <sup>b</sup>	1.208±0.03 <sup>a</sup>	1.456±0.10 <sup>a,b</sup>	1.765±0.09 <sup>b</sup>	2.089±0.00 <sup>c</sup>
Ba	-	-	-	-	-
Be	-	-	-	-	-
Ca	76.090±0.10 <sup>b</sup>	43.172±0.5 <sup>a</sup>	95.441±0.90 <sup>c</sup>	96.662±0.95 <sup>c</sup>	61.210±1.00 <sup>b</sup>
Cd	-	-	-	-	-
Co	-	-	-	-	-
Cr	-	-	-	-	-
Cu	0.578±0.07 <sup>b</sup>	0.476±0.03 <sup>b</sup>	0.554±0.03 <sup>b</sup>	0.753±0.02 <sup>c</sup>	0.159±0.01 <sup>a</sup>
Fe	0.970±0.08 <sup>b</sup>	0.740±0.02 <sup>b</sup>	1.179±0.09 <sup>c</sup>	0.815±0.03 <sup>b</sup>	0.613±0.06 <sup>a</sup>
K	115.90±3.00 <sup>a</sup>	125.686±2.76 <sup>b</sup>	109.97±2.00 <sup>a</sup>	109.361±3.09 <sup>a</sup>	122.840±2.67 <sup>b</sup>
Mg	84.32±1.00 <sup>b</sup>	100.490±1.98 <sup>b</sup>	31.608±1.65 <sup>a</sup>	96.608±1.49 <sup>b</sup>	87.096±1.34 <sup>b</sup>
Mn	0.11±0.00 <sup>a</sup>	0.123±0.00 <sup>a</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>	0.113±0.00 <sup>a</sup>	0.189±0.00 <sup>b</sup>
Mo	-	-	-	-	-
Na	28.65±1.02 <sup>b</sup>	35.794±1.17 <sup>c</sup>	20.562±1.07 <sup>a</sup>	26.655±0.45 <sup>b</sup>	21.470±0.98 <sup>a</sup>
Ni	-	-	-	-	-
Pb	-	-	-	-	-
Sb	-	-	-	-	-
Se	4.870±0.98 <sup>a</sup>	4.589±0.76 <sup>a</sup>	4.892±0.49 <sup>a</sup>	4.891±0.29 <sup>a</sup>	5.494±0.57 <sup>a</sup>
Si	45.88±1.00 <sup>a</sup>	46.798±1.06 <sup>a</sup>	40.195±0.30 <sup>a</sup>	53.352±0.69 <sup>a</sup>	51.485±0.70 <sup>a</sup>
Sr	-	-	-	-	-
Ti	-	-	-	-	-
Tl	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-
Zn	0.678±0.05 <sup>a</sup>	0.814±0.06 <sup>b</sup>	0.972±0.05 <sup>b</sup>	0.349±0.06 <sup>a</sup>	0.995±0.04 <sup>b</sup>

Estos valores son el promedio de tres determinaciones.

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). -: no detectable.

### Análisis microbiológico

Los resultados mostraron un mayor número de microorganismos en las muestras iniciales para bacterias mesófilas aeróbicas ( $1.50 \times 10^2$  UFC/g) y mohos, y levaduras totales ( $2.30 \times 10^2$  UFC/g), en comparación con las muestras en los diferentes recipientes almacenados durante dos años (Cuadro 7). Los resultados obtenidos para el análisis de microorganismos para las muestras al inicio del almacenamiento variaron de  $0.78 \times 10^2$  -  $0.98 \times 10^2$  UFC/g de

muestra para aerobios mesófilos y  $0.03 \times 10^2$ -  $0.32 \times 10^2$  UFC/g de muestra para mohos y levaduras.

**Cuadro 7:** Bacterias mesófilas aeróbicas, mohos y levaduras totales presentes en las muestras al inicio y después de dos años de almacenamiento en diferentes recipientes

Código del tratamiento	Recuento de aerobios mesófilos totales (UFC/g)	Recuento de mohos y levaduras totales (UFC/g)
T0	$1.50 \times 10^{2a}$	$2.30 \times 10^{2a}$
T1	$0.89 \times 10^{2b}$	$0.32 \times 10^{2b}$
T2	$0.98 \times 10^{2b}$	$0.15 \times 10^{2b}$
T3	$0.95 \times 10^{2b}$	$0.08 \times 10^{2b}$
T4	$0.78 \times 10^{2b}$	$0.03 \times 10^{2b}$

Estos valores son el promedio de cinco determinaciones (n=5).

T0= almacenamiento inicial.

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

## Discusión

La determinación de las propiedades fisicoquímicas, como la humedad, el pH, la acidez y los grados Brix, permite evaluar la calidad de la miel. La humedad de la miel favorece el crecimiento de bacterias y hongos presentes en la miel. El rango de valores de humedad obtenidos para los diferentes tratamientos fue consistente con los reportados para la miel de abejas sin aguijón ecuatorianas<sup>(2)</sup>. Se encontró que la muestra almacenada en el recipiente con válvula de retención de escape mostró una reducción significativa en el contenido de humedad en comparación con el tratamiento inicial, lo que posiblemente se deba a que los gases producidos por la fermentación arrastran la humedad presente al espacio de cabeza del recipiente, impidiendo que la humedad regrese. Al mismo tiempo, los cambios de color en la miel están relacionados con su origen botánico, el contenido de minerales, el contenido de compuestos fenólicos, las propiedades antioxidantes, la temperatura ambiente y el tiempo de almacenamiento. El cambio en la miel almacenada en el recipiente transparente posiblemente se deba a que la luz podría afectar los componentes de la miel, como carotenoides y flavonoides<sup>(15)</sup>.

Los valores de pH y la acidez total juegan un papel importante en la calidad de la miel<sup>(11)</sup>. Los valores de acidez muestran que esta miel almacenada durante 2 años tiene una acidez mayor. El aumento del valor de acidez durante el almacenamiento puede estar relacionado con la fermentación de la miel y con sus propiedades antimicrobianas, pero también puede dar lugar a un sabor a vinagre indeseable debido a la producción de ácido acético. La acidez de la miel está relacionada con el contenido de glucosa. La glucosa se convierte por la acción de la enzima *D*-glucosa oxidasa en ácido glucónico. Este proceso produce peróxido de

hidrógeno, que es un componente de la acción antimicrobiana de la miel<sup>(16)</sup>. La producción de ácidos se produce no solo por acción enzimática sino también por fermentación de los microorganismos presentes en la matriz. El aumento de la acidez también puede estar asociado con la transformación de azúcares de la miel en alcoholes y luego en ácidos orgánicos por levaduras osmófilas. También es necesario considerar que cuando el contenido de humedad es alto, las bacterias crecen y fermentan los azúcares, produciendo compuestos como el ácido acético que pueden afectar el sabor de la miel<sup>(17)</sup>.

Un factor de calidad muy importante en la miel es la concentración de HMF, ya que es un indicador de la calidad, frescura y añejamiento de la miel. En condiciones como el procesamiento o añejamiento, influenciadas principalmente por la fluctuación de la temperatura, el pH, las condiciones de almacenamiento y el origen floral, pueden ayudar a que se produzca su presencia<sup>(18)</sup>.

La actividad antioxidante de la miel depende de su origen floral y de las condiciones de procesamiento y está estrechamente relacionada con los compuestos químicos que posee. Los componentes de la miel – compuestos fenólicos, flavonoides y ácidos fenólicos, así como clorofila, carotenoides y vitamina C – contribuyen a su actividad antioxidante<sup>(15)</sup>, junto con el hecho de que las propiedades antioxidantes están relacionadas con su color y el contenido de humedad.

La actividad antioxidante de la miel se debe, entre otros factores, a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales se producen en las plantas como sistema de protección y son arrastrados en el néctar extraído por las abejas. El análisis UPLC reveló la presencia de ácido shikímico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxifenilacético y L-fenilalanina, entre otros. Estos compuestos confieren actividad antioxidante a la miel, ya que poseen electrones deslocalizados, los cuales causan actividad de eliminación de radicales libres<sup>(19)</sup>. La actividad de eliminación de radicales de los compuestos fenólicos depende principalmente del número y la posición de los grupos hidroxilo en las moléculas. La presencia de estos compuestos se explica por el hecho de que el ácido shikímico es un precursor de intermediarios metabólicos aromáticos, dentro de los cuales se encuentran flavonoides como la luteolina<sup>(20)</sup>. La presencia de estos compuestos fenólicos puede sugerir una posible actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, entre otras propiedades. De acuerdo con el análisis de compuestos fenólicos totales, la concentración de la mayoría de los compuestos fenólicos cuantificados disminuyó en la muestra sometida a tratamiento térmico, en comparación con el control. Esto ayuda a explicar la disminución de la actividad antioxidante.

La identificación de compuestos volátiles desempeña un papel crucial en la evaluación de la calidad de la miel. Estos compuestos, vinculados al néctar de las flores, al origen geográfico y a la estabilidad general, ofrecen información sobre las características únicas de la miel<sup>(21)</sup>. Cuando la miel se almacena en varios recipientes, hay un aumento de compuestos volátiles

durante el día inicial de almacenamiento. En particular, los ésteres, aldehídos, cetonas y alcoholes se vuelven predominantes después de 2 años, lo que contribuye significativamente al olor y sabor de la miel. La aparición y el aumento de compuestos volátiles específicos puede estar relacionado con el proceso de fermentación, con el tipo de envasado influyendo en la disponibilidad de oxígeno y en la mejora de la respiración anaeróbica. El contenido de humedad afecta aún más la fermentación, favoreciendo la producción de alcohol, dióxido de carbono y ácido acético, todo influyendo en la concentración de compuestos volátiles en la miel<sup>(17)</sup>.

Los ácidos grasos libres, similares a los compuestos volátiles, sirven como marcadores lipídicos que reflejan el origen floral de la miel y pueden ser indicadores cruciales de autenticidad<sup>(22)</sup>. Es probable que los cambios en la concentración de ciertos compuestos volátiles en la miel almacenada en recipientes se deban a la permeabilidad del material del recipiente. Los plásticos, en particular, pueden retener algunos compuestos volátiles, lo que facilita su transferencia entre la miel y el material del recipiente. Esto implica la adsorción o retención de compuestos volátiles en la miel, lo que provoca cambios en su concentración. Además, algunos compuestos volátiles pueden perderse o absorberse, lo que afecta el perfil aromático de la miel y, en consecuencia, altera su sabor y aroma. Los ácidos grasos como el ácido hexadecanoico aumentaron en proporción, mientras que la proporción de ácido dodecanoico disminuyó, y otros como el ácido decanoico y el ácido 9-hexadecenoico emergieron durante el almacenamiento. Estos cambios pueden estar relacionados con variaciones en la actividad del agua y la permeabilidad de los diferentes recipientes utilizados para el almacenamiento. Otro factor es que la cristalización de la miel puede afectar la movilidad y disponibilidad de los ácidos grasos, influyendo en su proporción.

El contenido de minerales es otro factor de calidad de la miel. El análisis muestra que el tipo de minerales y su concentración no varía durante el almacenamiento en los recipientes evaluados, y fue similar a los reportados por otros autores respecto a otros tipos de miel; en consistencia con otros reportes, el potasio fue el mineral más abundante, este es considerado el mineral cuantitativamente más importante en la miel, representando alrededor del 50 % del contenido mineral total. La presencia de Al, Ba, Si y Co se debe principalmente a que estos minerales están presentes de forma natural en el medio ambiente, lo que demuestra que la miel es un muy buen indicador ambiental por lo que refleja el contenido de elementos tóxicos en el agua, el suelo y el aire circundantes<sup>(23)</sup>. La miel puede contribuir a la dieta con elementos como Mg, Ca y K. Mg y K son micronutrientes importantes para el cuerpo humano, ya que están involucrados en muchos procesos fisiológicos y son esenciales para el mantenimiento de la función normal de las células y órganos, mediante los cuales hacen una importante contribución a la salud<sup>(24)</sup>. Estos resultados también son consistentes con los reportados en un estudio en miel de abejas sin aguijón de Brasil, donde se encontró que estos minerales son los más importantes cuantitativamente<sup>(8)</sup>.

La miel puede contener microorganismos de diferentes fuentes, como el polen, los tractos digestivos, el polvo, el aire, el suelo y el néctar, o debido a su manipulación y procesamiento. La presencia de estos microorganismos puede afectar la calidad de la miel durante el almacenamiento, por lo que se realizó un análisis del recuento total de microorganismos aeróbicos y mohos, y levaduras al inicio y al final del almacenamiento en los diferentes recipientes. Estos valores estuvieron por debajo del límite reportado por otros autores y del establecido para la miel de *Apis mellifera*, lo que puede deberse a un manejo adecuado en la cosecha y a la presencia de compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y otros compuestos bioactivos presentes en la miel que tiene un efecto inhibitor sobre este tipo de microorganismos. La concentración de microorganismos aeróbicos y mohos y levaduras totales disminuyó en la miel durante el almacenamiento, lo que es consistente con la reducción de la actividad del agua y la humedad. Esto podría atribuirse a diversos factores, como la cristalización del azúcar o la evaporación del agua debido a la permeabilidad del plástico. La disminución de la concentración de microorganismos es un factor positivo que asegura la calidad de la miel durante su almacenamiento.

## **Conclusiones e implicaciones**

En este estudio se realizó una comparación entre recipientes de plástico utilizados comercialmente, ya que el uso de otro tipo de recipientes, como vidrio o metal, son más costosos para el productor. El estudio demostró que el almacenamiento de la miel en recipientes de plástico tradicionales (polietileno de alta densidad y tereftalato de polietileno) y el uso de ciertas metodologías tradicionales proporcionan diferencias significativas en el contenido de humedad de la miel durante el almacenamiento, siendo el contenido de humedad menor en la miel almacenada en el recipiente con válvula de retención de escape (T3). También se encontró que, en general, el almacenamiento durante 2 años no produce cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas y en el contenido de compuestos fenólicos, los cuales se asocian con una disminución de las propiedades antioxidantes y compuestos volátiles que en conjunto pueden afectar la calidad de la miel. Además, el almacenamiento tuvo un efecto positivo en el análisis microbiológico de la miel. Finalmente, la evaluación de estos parámetros sugiere que el tratamiento T3 sería el más adecuado para el almacenamiento de la miel ya que presentó un cambio total de color menor a 3, un parámetro de calidad importante para los consumidores.

## **Agradecimientos**

Los Autores desean agradecer a la empresa Chasseurs De Saveurs S.A. C.V. de Coatepec, Veracruz, por proporcionar la miel. Asimismo, agradecemos a la Asociación Mexicana de Bosques Comestibles.



### Conflicto de interés

Los autores no informaron de ningún posible conflicto de interés

### Literatura citada:

1. Arzaluz GA, Obregon HF, Jones RW. Optimum brood size for artificial propagation of the stingless bee, *Scaptotrigona mexicana*. J Api Res 2002;41(1-2):62-63. doi:10.1080/00218839.2002.11101070.
2. Villacrés-Granda I, Coello D, Proaño A, Ballesteros I, Roubik DW, Jijón G, *et al.* Honey quality parameters, chemical composition and antimicrobial activity in twelve Ecuadorian stingless bees (Apidae: *Apinae: Meliponini*) tested against multiresistant human pathogens. LWT - Food Sci Technol 2021;140:110737. doi:10.1016/j.lwt.2020.110737.
3. Martinez RA, Schvezov N, Brumovsky LA, Pucciarelli-Román AB. Influence of temperature and packaging type on quality parameters and antimicrobial properties during Yateí honey storage. Food Sci Technol 2017;38:196-202. doi:10.1590/1678-457X.17717.
4. Carvalho CAL, Fonseca AAO, Souza BA, Clarton L. Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (*Apidae: Meliponinae*) submitted to a dehumidification process. Ann Acad Bras Cienc 2009;81:143-149. doi:10.1590/s0001-37652009000100015.
5. Singh I, Singh S. Honey moisture reduction and its quality. Food Sci Technol 2018;55:3861-3871. doi:10.1007/s13197-018-3341-5.
6. Mohamad-Ghazali NS, Yusof YA, Mohid-Ghazali H, Chin NL, Othaman SH, Manaf, YN, *et al.* Effect of surface area manipulation of clay pot vessel on physicochemical and microbiological properties of stingless bee (*Geniotrigona thoracica*) honey. Food Biosc 2021;40:100839. doi:10.1016/j.fbio.2020.100839.
7. AOAC. Official Methods of Analysis. 17th Edition. Gaithersburg, MD, USA: The Association of Official Analytical Chemists, 2000.
8. Biluca FC, Santos de Gois J, Schulz M, Braghini F, Gonzaga LV, Maltez HF, *et al.* Phenolic compounds, antioxidant capacity and bioaccessibility of minerals of stingless bee honey (*Meliponinae*). J Food Compos Anal 2017;63:89-97. doi:10.1016/j.jfca.2017.07.039.

9. Juárez-Trujillo N, Monribot-Villanueva JL, Alvarado-Olivarez M, Luna-Solano G, Guerrero-Analco JA, Jiménez-Fernández M. Phenolic profile and antioxidative properties of pulp and seed of *Randia monantha* Benth. *Ind Crops Prod* 2018;124(15):53-58. doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.052.
10. López-López A, Castellote-Bargalló A, López-Sabater M. Comparison of two direct methods for the determination of fatty acids in human milk. *Chromatographia* 2001;54(11):743-747. doi:10.1007/BF02492493.
11. Jiménez M, Beristain CI, Azuara E, Mendoza MR, Pascual LA. Physicochemical and antioxidant properties of honey from *Scaptotrigona mexicana* bee. *J Apic Res* 2016;55(2):151-160. doi:10.1080/00218839.2016.1205294.
12. Vit P, Medina M, Enríquez ME. Quality standards for medicinal uses of Meliponinae honey in Guatemala, Mexico and Venezuela. *Bee World* 2004;85:2-5. doi:10.1080/0005772X.2004.11099603
13. Kowalski S. Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chem* 2013;141:1378-1382. doi:10.1016/j.foodchem.2013.04.025.
14. Braghini F, Biluca FC, Ottequir F, Gonzaga LV, da Silva M, Vitali L, *et al.* Effect of different storage conditions on physicochemical and bioactive characteristics of thermally processed stingless bee honey. *LWT- Food Sci Technol* 2020;131:109724. doi:10.1016/j.lwt.2020.109724.
15. Vit P. Valorization of stingless bee (Meliponini) honey. *Rev Fac Farm* 2008;50(2):20-28.
16. Demera J, Angert E. Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica, *Apidologie* 2004;35(4). doi:10.1051/apido:2004033.
17. Amin FAZ, Sabri S, Ismail M, Chan KW, Ismail N, Esa NM, *et al.* Probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from stingless bee (*Heterotrigona itama*) honey collected across Malaysia. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17(278):1-15. doi:10.3390/ijerph17010278.
18. Machado De-Melo AA, Almeida-Muradian LBD, Sancho MT, Pascual-Maté A. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *J Apic Res* 2018;57(1):5-37. doi:10.1080/00218839.2017.1338444.

19. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:933-956. doi:10.1016/0891-5849(95)02227-9.
20. Vered T, Gad G. New Insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant* 2010;3(6):956–972. doi:10.1199/tab.0132.
21. Viera da Costa AC, Batista-Sousa JM, Pereida da Silva MAA, dos Santos D, Madruga MS. Sensory and volatile profiles of monofloral honeys produced by native stingless bees of the Brazilian semiarid region. *Food Res Int* 2018;105:10–120. doi:10.1016/j.foodres.2017.10.043.
22. Schievano E, Dettori A, Piana L, Tessari M. Floral origin modulates the content of a lipid marker in *Apis mellifera* honey. *Food Chem* 2021;130050. doi:10.1016/j.foodchem.2021.130050.
23. Czipa N, Andrási D, Kovács B. Determination of essential and toxic elements in Hungarian honeys. *Food Chem* 2015;175:536–542. doi:10.1016/j.foodchem.2014.12.018.
24. Velimirović D, Tošić S, Mitić S, Pavlović A, Rašić-Mišić I, Stojanović G. Mineral, phenolic content and antioxidant activity of selected honey samples consumed in Serbia. *J Apic Res* 2021;62(1):1-13. doi:10.1080/00218839.2021.1898783.

**Cuadro 1:** Propiedades fisicoquímicas de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)

Propiedades	T0	T1	T2	T3	T4
Humedad, gH <sub>2</sub> O/ 100 g m.s.	25.70 ± 0.47 <sup>b</sup>	23.23 ± 0.28 <sup>ab</sup>	23.40 ± 0.09 <sup>b</sup>	20.60 ± 1.33 <sup>a</sup>	22.80 ± 0.39 <sup>a</sup>
Actividad del agua (25 °C)	0.733 ±0.006 <sup>b</sup>	0.663±0.001 <sup>a</sup>	0.671 ±0.007 <sup>a</sup>	0.667 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.6759 ± 0.003 <sup>a</sup>
<i>L</i> *	18.33 ± 0.37 <sup>a</sup>	20.80 ± 1.85 <sup>a</sup>	21.67 ± 3.59 <sup>a</sup>	18.27± 0.43 <sup>a</sup>	25.64 ± 2.55 <sup>b</sup>
<i>a</i> *	2.84 ± 0.75 <sup>a</sup>	6.66 ± 0.64 <sup>b,c</sup>	6.27 ± 0.87 <sup>b,c</sup>	5.40 ± 0.64 <sup>b</sup>	8.91 ± 1.82 <sup>c</sup>
<i>b</i> *	5.39 ± 0.23 <sup>a</sup>	7.69 ± 2.34 <sup>b</sup>	8.41 ± 4.58 <sup>b</sup>	4.63 ± 0.08 <sup>a</sup>	7.26 ± 3.45 <sup>b</sup>
Croma	6.11 ± 1.53 <sup>a</sup>	10.17 ± 2.21 <sup>a</sup>	10.49 ± 4.22 <sup>a</sup>	7.11 ± 0.51 <sup>a</sup>	10.02 ± 3.54 <sup>a</sup>
Cambio total de color	-	4.81 ± 0.54 <sup>b</sup>	5.32 ± 0.38 <sup>b</sup>	2.69 ± 0.45 <sup>a</sup>	8.08 ± 0.37 <sup>c</sup>
Índice de pardeamiento	-	0.38 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.39 ± 0.02 <sup>a</sup>
pH	3.66 ± .05 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.05 <sup>a</sup>	3.40 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.43 ± 0.05 <sup>a</sup>
Brix (°)	71.66 ± 0.57 <sup>a</sup>	71.90 ± 0.55 <sup>a</sup>	72.03 ± 0.55 <sup>a</sup>	72.10 ± 0.26 <sup>a</sup>	72.76 ± 0.37 <sup>a</sup>
Conductividad eléctrica, mS/cm	293.33 ±11.54 <sup>b</sup>	320.25 ± 20.00 <sup>a</sup>	293.33 ±15.27 <sup>b</sup>	303.33 ± 5.77 <sup>b</sup>	296.00 ±15.16 <sup>b</sup>
Densidad, g/ml	1.40 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.36 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.00 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.01 <sup>a</sup>
Hidroximetilfurfural, mg /kg	4.09 ± 0.53 <sup>a</sup>	4.33 ± 0.20 <sup>a</sup>	4.00 ± 0.39 <sup>a</sup>	4.23 ± 0.22 <sup>a</sup>	4.78 ± 0.52 <sup>a</sup>
Acidez titulable, meq/kg m.s.	73.66 ± 0.57 <sup>a</sup>	87.33 ± 6.65 <sup>b</sup>	87.33 ± 0.57 <sup>b</sup>	87.33 ± 2.08 <sup>b</sup>	85.66 ± 1.15 <sup>b</sup>

Los datos representan el promedio de tres réplicas o mediciones ± desviación estándar.

<sup>abcd</sup> Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).


-- No presente.

**Cuadro 3:** Compuestos fenólicos ( $\mu\text{g/g}$  de extracto seco) de la miel recién cosechada (T0-testigo), almacenada después de dos años en diferentes recipientes (T1-T4)


Compuesto fenólico	T0	T1	T2	T3	T4
Ácido gálico	126.78 $\pm$ 10.00 <sup>a</sup>	136.17 $\pm$ 16.20 <sup>a</sup>	137.88 $\pm$ 4.91 <sup>a</sup>	143.32 $\pm$ 5.97 <sup>a</sup>	135.25 $\pm$ 8.16 <sup>a</sup>
Ácido 4-hidroxibenzoico	2996.87 $\pm$ 135.76 <sup>a</sup>	2847.66 $\pm$ 207.18 <sup>a</sup>	2906.04 $\pm$ 118.78 <sup>a</sup>	2934.22 $\pm$ 105.08 <sup>a</sup>	2781.36 $\pm$ 146.05 <sup>a</sup>
Ácido protocatecuico	637.87 $\pm$ 21.79 <sup>a</sup>	660.19 $\pm$ 22.55 <sup>a</sup>	666.90 $\pm$ 13.40 <sup>a</sup>	648.85 $\pm$ 24.07 <sup>a</sup>	634.87 $\pm$ 34.48 <sup>a</sup>
Ácido vainílico	654.89 $\pm$ 38.33 <sup>a</sup>	612.57 $\pm$ 59.27 <sup>a</sup>	645.12 $\pm$ 39.07 <sup>a</sup>	677.20 $\pm$ 29.77 <sup>a</sup>	633.24 $\pm$ 27.82 <sup>a</sup>
Ácido gentísico	312.90 $\pm$ 89.87 <sup>a</sup>	312.82 $\pm$ 36.07 <sup>a</sup>	280.94 $\pm$ 29.34 <sup>a</sup>	294.31 $\pm$ 10.82 <sup>a</sup>	541.69 $\pm$ 48.62 <sup>b</sup>
Ácido 4-hidroxifenilacético	2198 $\pm$ 129.88 <sup>a</sup>	2294.62 $\pm$ 115.55 <sup>b</sup>	1702.48 $\pm$ 195.65 <sup>a</sup>	2036.27 $\pm$ 133.77 <sup>b</sup>	1685.49 $\pm$ 103.27 <sup>a</sup>
Ácido sinápico	1677.33 $\pm$ 87.99 <sup>a</sup>	1677.70 $\pm$ 81.08 <sup>a</sup>	1636.52 $\pm$ 23.01 <sup>a</sup>	1663.18 $\pm$ 57.32 <sup>a</sup>	1565.35 $\pm$ 80.53 <sup>a</sup>
Ácido salicílico	1244.11 $\pm$ 199.55 <sup>a</sup>	1240.45 $\pm$ 409.54 <sup>a</sup>	1053.87 $\pm$ 54.18 <sup>a</sup>	1074.40 $\pm$ 30.10 <sup>a</sup>	1098.68 $\pm$ 32.97 <sup>a</sup>
Ácido <i>p</i> -anísico	399.97 $\pm$ 29.73 <sup>b</sup>	317.57 $\pm$ 26.29 <sup>a</sup>	455.27 $\pm$ 39.95 <sup>c</sup>	384.97 $\pm$ 38.77 <sup>b</sup>	456.20 $\pm$ 52.69 <sup>c</sup>
Ácido rosmarínico	297.45 $\pm$ 12.95 <sup>a</sup>	275.61 $\pm$ 20.76 <sup>a</sup>	220.68 $\pm$ 58.40 <sup>a</sup>	248.44 $\pm$ 16.14 <sup>a</sup>	276.69 $\pm$ 67.38 <sup>a</sup>
Ácido 4-cumárico	301.86 $\pm$ 38.26 <sup>a</sup>	291.65 $\pm$ 37.60 <sup>a</sup>	320.81 $\pm$ 13.12 <sup>a</sup>	323.82 $\pm$ 7.57 <sup>a</sup>	271.41 $\pm$ 53.92 <sup>a</sup>
Ácido trans-cinámico	139.87 $\pm$ 9.41 <sup>a</sup>	124.02 $\pm$ 7.43 <sup>a</sup>	123.18 $\pm$ 4.77 <sup>a</sup>	122.89 $\pm$ 3.74 <sup>a</sup>	127.99 $\pm$ 3.83 <sup>a</sup>
Luteolina	289.56 $\pm$ 29.44 <sup>a</sup>	273.83 $\pm$ 38.24 <sup>a</sup>	325.69 $\pm$ 104.80 <sup>a</sup>	315.66 $\pm$ 45.43 <sup>a</sup>	320.41 $\pm$ 62.01 <sup>a</sup>
Escopoletina	689.85 $\pm$ 58.33 <sup>a</sup>	673.76 $\pm$ 72.47 <sup>a</sup>	720.55 $\pm$ 26.69 <sup>a</sup>	740.75 $\pm$ 17.46 <sup>a</sup>	619.54 $\pm$ 120.49 <sup>a</sup>
Ácido ferúlico	132.63 $\pm$ 27.82 <sup>a</sup>	127.52 $\pm$ 21.48 <sup>a</sup>	136.69 $\pm$ 20.29 <sup>a</sup>	150.77 $\pm$ 40.86 <sup>a</sup>	111.18 $\pm$ 27.34 <sup>a</sup>
Ácido cafeico	478.86 $\pm$ 96.43 <sup>a</sup>	410.22 $\pm$ 122.14 <sup>a</sup>	570.36 $\pm$ 24.02 <sup>a</sup>	590.65 $\pm$ 27.56 <sup>a</sup>	452.59 $\pm$ 120.71 <sup>a</sup>
Ácido shikímico	36986.87 $\pm$ 3999.20 <sup>a</sup>	38200.95 $\pm$ 3974.40 <sup>a</sup>	37735.48 $\pm$ 2688.39 <sup>a</sup>	38504.90 $\pm$ 2817.73 <sup>a</sup>	35511.01 $\pm$ 5741.62 <sup>a</sup>
Vainillina	97.45 $\pm$ 6.98 <sup>a</sup>	96.17 $\pm$ 5.16 <sup>a</sup>	97.36 $\pm$ 16.74 <sup>a</sup>	85.01 $\pm$ 12.63 <sup>a</sup>	98.26 $\pm$ 12.83 <sup>a</sup>
L-fenilalanina	2930.99 $\pm$ 120.89 <sup>a</sup>	2934.82 $\pm$ 100.09 <sup>a</sup>	2886.78 $\pm$ 115.55 <sup>a</sup>	3004.45 $\pm$ 130.22 <sup>a</sup>	2917.68 $\pm$ 118.89 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como la media  $\pm$  DE (n=3).

<sup>ab</sup> Letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).



**Un efecto novedoso del extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum* sobre garrapatas de perros domésticos (*Canis lupus familiaris*)**



William Fernando Vázquez-Tec <sup>a,c</sup>

Sara Luz Nahuat-Dzib <sup>b</sup>

Julia Cano-Sosa <sup>c</sup>

Lorena Reyes-Vaquero <sup>d</sup>

Edgar E. Lara-Ramirez <sup>e</sup>

Benjamín Abraham Ayil-Gutiérrez <sup>f</sup>

Angel Virgilio Domínguez-May <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> TecNM. Instituto Tecnológico Superior del Sur del Estado de Yucatán (ITSSY). Carretera Muna-Felipe Carrillo Puerto, tramo Oxkutzcab-Akil Km 41+400, Oxkutzcab, 97880, Yucatán, México.

<sup>b</sup> TecNM, Campus Mérida. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Yucatán, México.

<sup>c</sup> Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Subsede Sureste. Yucatán, México.

<sup>d</sup> CONAHCYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Subsede Sureste. Yucatán, México.

<sup>e</sup> Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica, Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica. Tamaulipas, México.

<sup>f</sup> CONAHCYT, Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica, Biotecnología Vegetal. Tamaulipas, México.

\*Autor de correspondencia: [adominguez@suryucatan.tecnm.mx](mailto:adominguez@suryucatan.tecnm.mx)

**Resumen:**

Los pesticidas sintéticos utilizados para combatir las garrapatas pierden su eficacia contra determinadas especies y pueden afectar la salud humana. En el presente estudio se evaluó *in vitro* e *in vivo* el efecto del extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum* (*P. anisum*) contra *Rhipicephalus sanguineus* e *Ixodes affinis*, garrapatas del perro doméstico. En las evaluaciones *in vitro* se aplicaron directamente a las garrapatas concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 y 100 % del extracto acuoso de *P. anisum*. Las concentraciones que provocaron mayor efectividad en la inmovilización fueron 50%, 75% y 100%, pero esta última provocó una inmovilización por mayor tiempo ( $55.89 \pm 0.16$  min). En la evaluación *in vivo*, el extracto acuoso concentrado se aplicó sobre garrapatas adheridas a la piel de perros domésticos. Se utilizó Amitraz, un garrapaticida comercial, como testigo positivo. Tanto el extracto acuoso concentrado como el Amitraz provocaron el 100 % del desprendimiento de garrapatas. Sin embargo, el extracto acuoso concentrado de semillas de *P. anisum* fue más efectivo para reducir el tiempo promedio de desprendimiento de las garrapatas ( $60.81 \pm 3.17$  min) en comparación con el garrapaticida comercial Amitraz ( $145.12 \pm 15.97$  min). Esta investigación sugiere que el p-anisaldehído identificado en el extracto acuoso podría estar relacionado con la inmovilización y desprendimiento de *R. sanguineus* e *I. affinis* de los perros domésticos, lo que sugiere que este extracto podría usarse como biopesticida para controlar las garrapatas en perros domésticos.

**Palabras clave:** Biopesticida, garrapatas, inmovilización, perros domésticos, *in vitro*, *in vivo*

Recibido: 31/10/2022

Aceptado: 26/12/2023

## Introducción

Las garrapatas de la familia Ixodidae son artrópodos hematófagos de distribución mundial, que parasitan diversas especies de mamíferos, aves y reptiles. Cuando estos ectoparásitos se alimentan de su hospedero (diversos animales domésticos y silvestres, incluido el humano), pueden transmitir microorganismos patógenos como bacterias, virus, protozoarios y helmintos<sup>(1,2)</sup>.

Las garrapatas son plagas que se consideran económicamente perjudiciales en el ganado y en otras especies de animales, ya que pueden ocasionar cuadros de anemia grave y pérdida de peso<sup>(3)</sup>. Los perros que habitan en zonas rurales y urbanas son hospederos de la especie *R. sanguineus*. Estas garrapatas pueden encontrarse en regiones tropicales y subtropicales,

adaptándose a condiciones intradomiciliarias<sup>(4)</sup>. *Ixodes affinis* es una especie que también es común en perros y gatos en todo el mundo<sup>(5)</sup>.

El uso de pesticidas sintéticos ocasiona daño al medio ambiente y es un peligro para la salud<sup>(6,7)</sup>; sin embargo, en los últimos años se han estado buscando alternativas para controlar las plagas sin contaminar el medio ambiente; una de ellas es el uso de plantas con capacidades para el control de insectos o ácaros.

El uso de plantas medicinales es una práctica que se ha utilizado desde la antigüedad y ha contribuido al origen de la medicina moderna<sup>(8)</sup>. Numerosas plantas medicinales contienen metabolitos secundarios y pigmentos, entre otros componentes que son tóxicos contra varios microorganismos. Se ha reportado que los fitoquímicos aislados de plantas medicinales son clave para la generación de biopesticidas; además de ser considerados menos tóxicos y de fácil degradación<sup>(9,10)</sup>. En los últimos años la aplicación de extractos y aceites esenciales de especies vegetales se han convertido en nuevas alternativas como pesticidas amigables con el medio ambiente, con el propósito de limitar el uso de pesticidas sintéticos en el sector agrícola<sup>(7,11)</sup>.

Entre las especies de plantas que se usan para el combate de plagas se encuentra *Pimpinella anisum*<sup>(12)</sup>, comúnmente conocida como anís, anís verde o badiana<sup>(13)</sup>, pertenece a la familia Umbelliferae actualmente denominada Apiaceae y ha sido utilizada en la medicina tradicional como carminativo, aromático, desinfectante y galactogogo. Las semillas de *P. anisum*, presentan actividad antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antioxidante, anticonvulsiva, relajante muscular, analgésico, efecto hipoglucémico<sup>(14)</sup>, también se ha reportado que tiene actividad insecticida<sup>(15)</sup>. El aceite esencial de las semillas de esta especie vegetal, ha demostrado tener un efecto letal contra *Tribulium castaneum*<sup>(12)</sup>, actividad repelente contra adultos de *Culex pipiens*<sup>(16)</sup> y es tóxico contra *Daphnia magna*<sup>(17)</sup>. Estudios recientes demostraron que el aceite de las semillas de *P. anisum* presenta actividad acaricida contra *Tetranychus urticae*<sup>(18)</sup>; en cuanto el extracto acuoso y metanólico presentan actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*<sup>(19)</sup> y *Escherichia coli*<sup>(20)</sup>, respectivamente. En las semillas de *P. anisum* se han identificado compuestos como el *trans*-anetole, metil chavicol, anisaldehído, estragol, y  $\gamma$ -hymachalen<sup>(14)</sup>, y en el aceite esencial se ha identificado *p*-anisaldehído<sup>(14)</sup>, este es un compuesto que ocasiona efectos de inmovilización, repelencia y mortalidad en insectos como *Haematobia irritans irritans* (L.) y *Musca domestica* L. y la respuesta de su aplicación depende del estado de desarrollo en estos insectos<sup>(21,22,23)</sup>. De acuerdo con los antecedentes y efectos causados por la especie *P. anisum* en contra de otros insectos, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* contra garrapatas que atacan comúnmente a los perros domésticos, con el fin de disminuir el uso de insecticidas sintéticos no amigables con el medio ambiente.



## Material y métodos

### Material biológico

Las semillas de *P. anisum* se obtuvieron de la casa comercial Granos y semillas Yael, ubicada en la calle 52 No. 540 y 67, Centro, Mérida, Yucatán, las cuales se encontraban deshidratadas.

### Preparación del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*

El extracto acuoso de semillas de *P. anisum* concentrado, se obtuvo a partir de 50 g de semillas, las cuales se trituraron en un molino manual (marca Del Rey) para obtener partículas de 1.5 mm de diámetro en promedio. Se realizó la decocción de las semillas utilizando 12.5 g en 1 L de H<sub>2</sub>O purificada (marca Bonafont®) a 90 °C. El tiempo de cocción fue de 20 min. Finalmente, el extracto acuoso obtenido se mantuvo en frascos de color ámbar y se conservó bajo condiciones de refrigeración a 4 °C hasta su uso. Posteriormente el extracto acuoso concentrado se diluyó con H<sub>2</sub>O purificada (Bonafont®) preparándose concentraciones de 1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 % y el extracto acuoso concentrado 100 %. Se utilizó como testigo negativo el H<sub>2</sub>O purificada y para el testigo positivo se empleó el compuesto comercial Combatick® (12.5% de Amitraz), solución insecticida y acaricida, el cual se preparó y aplicó de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta del producto (2 ml de la solución por 1 L de H<sub>2</sub>O).

### Bioensayo de toxicidad

Para determinar la toxicidad del extracto acuoso de semillas *P. anisum*, se realizó el ensayo de toxicidad en *Artemia salina* (White Mountain, Great Salt Lake, Utah, USA), los quistes se incubaron en agua de mar filtrada por 24 h, a una temperatura de  $29 \pm 4$  °C, con aireación constante<sup>(24)</sup>.

Los bioensayos se realizaron en placas de 24 pozos. Por dilución serial se prepararon cuatro concentraciones (0.0005, 0.05, 5, 500 µg/ml) del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*. En cada pozo se colocaron 10 nauplios de *A. salina*. Como control negativo se usó H<sub>2</sub>O de mar filtrada sin extracto. Todos los tratamientos se analizaron por quintuplicado. Las placas se incubaron a  $29 \pm 4$  °C por 24 h; después de este tiempo se observaron bajo microscopio estereoscópico (SMZ800, Nikon) y se contó el número de nauplios vivos. Se consideró la mortalidad cuando después de 10 seg no se observó ningún movimiento. Se calculó el porcentaje de mortalidad y la dosis letal media (LC<sub>50</sub>). Para considerar si el extracto vegetal es tóxico se siguieron los criterios de toxicidad propuesto por Clarkson *et al*<sup>(25)</sup>: no tóxico cuando LC<sub>50</sub> >1,000 µg/ml, toxicidad baja 500 < LC<sub>50</sub> <1,000 µg/ml, toxicidad moderada 100 < LC<sub>50</sub> <500 µg/ml, y altamente tóxico 0 < LC<sub>50</sub> <100 µg/ml.

## Recolección de garrapatas en perros domésticos

Fueron recolectadas 270 garrapatas adultas en 10 perros domésticos de distintas razas, edades y sexo, infestados naturalmente y provenientes de los municipios de Ticul (20°23'43"N, 89°32'02"O) y Oxkutzcab (20°18'10"N 89°25'06"O), Yucatán, México; estos animales no recibieron tratamiento previo. Las garrapatas se colocaron en frascos de vidrio con tapa perforada y conservadas en el laboratorio a  $29 \pm 4$  °C por 24 h.

### Evaluación *in vitro* en garrapatas

Para la evaluación de toxicidad *in vitro* se utilizó el extracto acuoso concentrado de semillas de *P. anisum* y siete diluciones de este mismo extracto (1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75%) y H<sub>2</sub>O purificada como testigo negativo. Para cada uno de los tratamientos se utilizaron 30 garrapatas y una cantidad de 0.5 ml de la solución aplicándola por atomización sobre las garrapatas. Después de 30 min, el porcentaje de garrapatas inmovilizadas (% I) se calculó usando la fórmula:

$$\% I = (N_i/N_T) \times 100$$

Donde: % I= porcentaje de garrapatas inmovilizadas; N<sub>i</sub>= número de garrapatas inmovilizadas; N<sub>T</sub>= total de garrapatas tratadas.

### Evaluación *in vivo* en perros domésticos

Para la evaluación del efecto del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* sobre garrapatas en perros domésticos, se utilizó el extracto concentrado. Para este ensayo, el testigo positivo fue el Amitraz, el cual es un acaricida e insecticida comercial y como testigo negativo se empleó agua purificada de la marca Bonafont®. Para la evaluación se incluyeron 12 perros domésticos de diferentes razas, sexo y edades que presentaban problemas de presencia de garrapatas en su cuerpo y se dividieron en tres grupos de cuatro ejemplares caninos cada uno, para la aplicación del producto a evaluar, y el conteo del número de garrapatas presente en cada individuo (Cuadros 1, 2 y 3). Para cada perro se utilizó un volumen de 0.5 ml de extracto concentrado de *P. anisum* y fue aplicado en la oreja izquierda, cola, axilas y en el lomo del animal donde estaban las garrapatas. El Amitraz se aplicó de acuerdo con las indicaciones del productor comercial. Para determinar el tiempo que tardó cada tratamiento en desprender las garrapatas, se esperó hasta que la última garrapata se desprendió por zona de aplicación.

**Cuadro 1:** Razas de perros infestados de garrapatas en diferentes zonas, tratados con el testigo negativo (H<sub>2</sub>O purificada)

Raza	Número de garrapatas por zona				Total de garrapatas
	Oreja izquierda	Cola	Axilas	Lomo	
Chihuahua	6	12	5	12	35
Bichón maltés	5	15	11	11	42
Pastor alemán	5	15	11	11	42
Mestizo (raza mixta)	13	7	12	3	35

**Cuadro 2:** Razas de perros infestados de garrapatas en diferentes zonas, tratados con extracto acuoso concentrado de *P. anisum*

Raza	Número de garrapatas por zona				Total de garrapatas
	Oreja izquierda	Cola	Axilas	Lomo	
Chihuahua	7	6	11	7	31
Bichón maltés	15	15	12	7	49
Pastor alemán	7	7	8	9	31
Mestizo (raza mixta)	5	16	15	5	41

**Cuadro 3:** Razas de perros infestados de garrapatas en diferentes zonas, tratados con el testigo positivo (Amitraz)

Raza	Número de garrapatas por zona				Total de garrapatas
	Oreja izquierda	Cola	Axilas	Lomo	
Chihuahua	10	6	7	8	31
Bichón maltés	13	5	14	11	43
Pastor alemán	7	7	8	9	31
Mestizo (raza mixta)	5	16	15	5	41

## Identificación de la especie de garrapatas en perros domésticos

La identificación de las 100 garrapatas seleccionadas al azar, tratadas en el laboratorio, así como las que se desprendieron de los perros domésticos después de la aplicación del extracto acuoso y del Amitraz, fue mediante características morfológicas, la forma del hipostoma, capítulo y pedipalpo de cada uno de los ectoparásitos. Las garrapatas se colocaron en una solución de etanol al 70 % durante 8 min, tiempo en el cual las garrapatas permanecieron sin movimiento. Posteriormente se observaron con un microscopio estereoscópico (Stemi 305, Zeiss). La identificación de la especie se realizó tomando como referencia las imágenes de garrapatas publicadas por Lord CC<sup>(26)</sup> y Solís Hernández<sup>(27)</sup>.

## Identificación de p-anisaldehído en el extracto acuoso de *P. anisum*

Para determinar la presencia de p-anisaldehído, se utilizaron 5 ml del extracto concentrado, el cual se filtró a través de membranas de nylon de 0.22  $\mu$ M (Thermo Scientific Cat. No. 726-2520). Posteriormente la solución se congeló en un ultracongelador por 3 h (Thermo Fisher Scientific Inc., Model-TSX400D, No 144DT0B01A) y liofilizada (LABCONCO-No cat 77540-00) por 24 h. El producto liofilizado fue resuspendido en 5 ml MeOH (TEDIA-MS1922-001), agitado (Vortex-genie -Serial No G-560) y centrifugado nuevamente por 5 min (Galaxy mini centrifuge – Serial No 1204), obteniendo el sobrenadante. Para el análisis de la muestra se inyectaron 2  $\mu$ l del sobrenadante en un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (Agilent 7890A, Wilmington, Delaware USA), equipado con un detector de ionización de llama de hidrógeno para la identificación de compuestos. La separación de compuestos se realizó con una columna HP5MS (Agilent Technologies, 30 m  $\times$  0.250 mm, 0.25  $\mu$ m, Cat. No. 190915-435, USA). La temperatura del inyector se ajustó a 250 °C y la temperatura inicial del horno fue de 70 °C durante 3 min, aumentando a 5 °C/min a 250 °C.

## Análisis estadístico

Los datos obtenidos en los tratamientos *in vitro* e *in vivo* se analizaron con ANOVA de una vía con la prueba de Holm-Sidak mediante el programa de Sigma Plot versión 12.

## Resultados

### Bioensayo de toxicidad

Los resultados de toxicidad del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* mostraron que a una concentración de 500 mg/ml se obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad (14.3 %), mientras que con las otras concentraciones no se observó mortalidad (Cuadro 4). La dosis

letal media (LC<sub>50</sub>) fue de 4645 µg/ml. Con los resultados de toxicidad y LC<sub>50</sub> obtenidos y de acuerdo con los criterios de toxicidad propuesto por Clarkson *et al*<sup>(25)</sup>, se considera que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* es no tóxico para su uso en caninos.

**Cuadro 4:** Porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* en presencia del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*

Concentración (mg/ml)	Mortalidad (%)
Testigo	0.0
0.0005	2.0
0.05	0.0
5	0.0
500	14.3

### Efecto inmovilizador del extracto acuoso de semillas de *P. anisum in vitro*

En el tratamiento *in vitro* se realizó la aplicación por aspersión del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* sobre las garrapatas observándose después de 30 min que la concentración de 1.25 % del extracto acuoso no ocasionó efecto sobre la movilidad de las garrapatas. En la concentración de 2.5 % se observó un porcentaje de inmovilización de  $16.7 \pm 5.8$ . En las concentraciones mayores el porcentaje de inmovilización aumentó significativamente, con el 25 % se inmovilizaron más del 96 % del total de garrapatas evaluadas y con las concentraciones de 50, 75 y 100 % de extracto se logró inmovilizar el 100 % de las garrapatas tratadas, sin observarse diferencia significativa en los últimos cuatro tratamientos (Cuadro 5).

El tiempo promedio de inmovilización de las garrapatas fue diferente de acuerdo a cada concentración del extracto acuoso de las semillas de *P. anisum*. Observándose que el extracto acuoso al 2.5 % ocasionó que las garrapatas permanecieran sin moverse  $3.00 \pm 0.04$  min, con 10 % del extracto acuoso el tiempo fue de  $14.9 \pm 0.21$  min; con 50 % el tiempo de inmovilización fue de  $45.14 \pm 0.07$  min. El extracto concentrado 100 %, ocasionó que las garrapatas permanecieran sin moverse por más de 50 min ( $55.89 \pm 0.16$  min). El tiempo de inmovilización fue estadísticamente diferente entre cada tratamiento (Cuadro 5).

**Cuadro 5:** Porcentaje de garrapatas inmovilizadas y tiempo de inmovilización ocasionado por efecto del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* bajo condiciones *in vitro*

Concentración del extracto acuoso (%)	Garrapatas inmovilizadas (%)	Tiempo de inmovilización (min)
0	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
1.25	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
2.5	16.7±5.8 <sup>b</sup>	3±0.04 <sup>b</sup>
5	43.3±5.8 <sup>c</sup>	10.07±0.13 <sup>c</sup>
10	60±00 <sup>d</sup>	14.9±0.21 <sup>d</sup>
25	96.7±5.8 <sup>e</sup>	28.07±0.07 <sup>e</sup>
50	100±00 <sup>e</sup>	45.14±0.07 <sup>f</sup>
75	100±00 <sup>e</sup>	50.14±0.07 <sup>g</sup>
100	100±00 <sup>e</sup>	55.89±0.16 <sup>h</sup>

<sup>abcd</sup> Letras diferentes, colocadas como superíndice, indican diferencias significativas. ANOVA de una vía ( $P<0.005$ ).

### Efecto *in vivo* del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* sobre garrapatas adheridas a perros domésticos

Con la finalidad de demostrar el efecto de las semillas de *P. anisum* sobre garrapatas adheridas a perros domésticos, se evaluó el extracto acuoso concentrado, el cual bajo condiciones *in vitro* ocasionó que las garrapatas quedaran inmovilizadas por más tiempo a diferencia de las diluciones (1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50 y 75 %).

En la comparación de los efectos del control negativo H<sub>2</sub>O purificada (Bonafont<sup>®</sup>), el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* y el Amitraz como control positivo, se demostró que el agua purificada no desprendió las garrapatas de la piel de los perros domésticos; mientras que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* ocasionó que todas las garrapatas se desprendieran en un tiempo promedio de 60.81 ± 3.17 min, mientras que el Amitraz requirió de 145.12 ± 15.97 min, observándose que el tiempo promedio de inmovilización de las garrapatas de estos tratamientos fue estadísticamente diferente (Cuadro 6). Después del desprendimiento de las garrapatas de los perros domésticos; el extracto acuoso concentrado mantuvo el efecto de inmovilización de éstas en el suelo durante 14.625 ± 1.36 min. Mientras que el Amitraz lo hizo por 44.93 ± 2.38 min (Cuadro 7); observándose diferencia significativa en el tiempo de inmovilización de las garrapatas en el suelo.

**Cuadro 6:** Efecto del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* sobre el tiempo de desprendimiento de garrapatas adheridas a perros domésticos

Tratamientos	Garrapatas desprendidas (%)	Tiempo de desprendimiento del total de garrapatas (min)
Agua purificada	0	0
Extracto acuoso (100%)	100+00	60.813 ± 3.17 <sup>a</sup>
Amitraz	100±00	145.125 ± 15.97 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Letras diferentes, colocadas como superíndice, indican diferencias significativas. ANOVA de una vía ( $P < 0.005$ ).

**Cuadro 7:** Tiempo de inmovilización de las garrapatas después del desprendimiento en los perros domésticos, por efecto del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*

Tratamientos	Tiempo promedio de inmovilización del total de garrapatas (min)
Agua purificada	0
Extracto acuoso (100%)	14.625 ± 1.36 <sup>a</sup>
Amitraz	44.938 ± 2.38 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Letras diferentes, colocadas como superíndice, indican diferencias significativas. ANOVA de una vía ( $P < 0.005$ ).

### Morfología de garrapatas evaluadas

Los análisis morfológicos sugieren que las garrapatas que se inmovilizaron *in vitro*, así como las que se desprendieron de los perros domésticos al aplicarles el extracto acuoso de *P. anisum* y el Amitraz, varían en forma y tamaño del hipostoma, pedipalpo, la forma del capítulo y color. En todas las garrapatas que se evaluaron se contabilizaron cuatro pares de patas, observándose el 80 % de *R. sanguineus* y el 20 % *I. affinis*.

### Identificación de compuestos del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*

Se identificaron nueve compuestos en el extracto acuoso de semillas de *P. anisum*, p-anisaldehído (4-metoxi benzaldehído), ácido butanoico, benzil alcohol y falcarinol (compuestos con actividad antimicrobiana), fenol (propiedad antioxidante), 2-miristinoil panteteine (compuesto aromatizante), paromomicin (propiedad antileishmaniasis), ácido 10-heptadecen-8-noico, metil ester, (E)- y *d*-mannosa (actividad antiinflamatoria) (Cuadro 8).

**Cuadro 8:** Compuestos identificados en el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas

N	Nombre del compuesto	Fórmula	Área (%)	Actividad biológica reportada
1	4-metoxi benzaldehido	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	0.55	Efecto inmovilizador y repelente <sup>(21,22,23)</sup> Actividad antifúngica <sup>(28)</sup>
2	Ácido butanoico	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	6.31	Actividad antibacterial <sup>(29)</sup>
3	fenol	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	0.96	Propiedad antioxidante <sup>(30)</sup>
4	Paromomicin	C <sub>23</sub> H <sub>45</sub> N <sub>5</sub> O <sub>14</sub>	0.04	Tratamiento de <i>Leishmania amazonensis</i> <sup>(31)</sup>
5	2-miristinoil panteteine	C <sub>25</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	0.02	Propiedad sensorial <sup>(32)</sup>
6	Benzil alcohol	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	2.62	Inhibe la reproducción de β-hemolítica <i>Streptococcus</i> y <i>Proteus</i> spp <sup>(33)</sup>
7	Falcarinol	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O	0.49	Actividad antimicrobacterial <sup>(34)</sup>
8	Ácido 10-heptadecen-8-noico, metil ester, (E)-	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0.03	Antiinflamatorio <sup>(35)</sup>
9	d-Mannosa	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	0.02	Antiinflamatorio <sup>(36)</sup>

## Discusión

En la evaluación del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* bajo condiciones *in vitro*, se observó como principal efecto la inmovilización de las garrapatas en los perros domésticos. El porcentaje de garrapatas que se inmoviliza y la duración del efecto, dependió del incremento en las concentraciones del extracto acuoso de semillas de *P. anisum*. El efecto de desprendimiento y de inmovilización de las garrapatas al aplicarse el extracto concentrado de *P. anisum* podría deberse al compuesto identificado como p-anisaldehido (4-metoxi benzaldehido).

Así mismo, se demostró que la correlación que existe entre el extracto acuoso y su efecto en este estudio concuerda con resultados publicados, Showler y Harlien<sup>(21)</sup>, donde evaluaron la actividad del p-anisaldehido en polvo al 98 % de pureza marca sigma, observando que al incrementar la concentración de 0.125 a 2.5 % de este producto, aumentaba el número de adultos inmovilizados de *Haematobia irritans irritans* (L). Showler y Harlien<sup>(22,23)</sup> reportaron que el p-anisaldehido presenta efectos letales y repelentes sobre *Musca doméstica*. También se ha demostrado que el incremento de la concentración del p-anisaldehido en polvo, causa mayor mortalidad de larvas de *Amblyomma americanum*; sin embargo, el efecto que generó fue de acuerdo con la técnica de aplicación<sup>(37)</sup>. Considerando estos antecedentes, en el



presente estudio se sugiere que el efecto de inmovilización de las garrapatas pudiera ser por la presencia de p-anisaldehído en el extracto acuoso de semillas de *P. anisum*, el cual mientras menos concentrado esté, disminuye la duración de su efecto de inmovilización.

Cuando el extracto acuoso se aplicó sobre garrapatas adheridas a perros domésticos, ocasionó que éstas se desprendieran, lo cual sugiere que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum*, genera inmovilización; este efecto ocasiona que las garrapatas se desprendan de la piel de los perros domésticos, al igual que el Amitraz (testigo positivo en este estudio). El Amitraz es un producto ampliamente utilizado para el tratamiento de garrapatas en animales domésticos, desafortunadamente el uso extensivo de este producto ha ocasionado que ciertas especies de garrapatas como la *Rhipicephalus microplus* se vuelva resistente<sup>(38)</sup>, además es un producto que puede causar envenenamiento por inhalación y por contacto dérmico<sup>(39)</sup>.

En esta investigación se encontró bajo las condiciones aplicadas, que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* desprende las garrapatas adultas de la piel de los perros domésticos al 100 %, teniendo efectos similares al producto comercial Amitraz. Esto significa que el efecto que genere este extracto pudiera relacionarse con la concentración que se utilice, o la técnica de aplicación.

Igualmente, se encontró que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* formulado con 50 g de semillas por litro de agua purificada, no es tóxico para el que lo aplica de acuerdo con los estudios realizados con *A. salina* y con el criterio de Clarkson *et al*<sup>(25)</sup>; además, el extracto acuoso de semillas no ocasionó irritación o enrojecimiento de la piel de los perros domésticos.

De acuerdo con los análisis morfológicos, las garrapatas con cuerpo alargado, de color café, con el hipostoma y pedipalpo cortos, así como la forma hexagonal de su capítulo pertenecen a la especie de *R. sanguineus*, las cuales son características que coinciden con datos publicados por Lord CC<sup>(26)</sup>. Mientras que las garrapatas con cuerpo redondo, con hipostoma y pedipalpo largos, así como la forma triangular de su capítulo y escudo dorsal, indican que pertenecen al género *Ixodes* o a la especie de *I. affinis*, datos característicos que coincide con ejemplares de *I. affinis* publicados por Solís-Hernández *et al*<sup>(27)</sup>.

Aun cuando el extracto oleoso se ha utilizado en algunas publicaciones, esto no limita el evaluar el uso del extracto acuoso de semillas de *P. anisum* como una alternativa sustentable y económica. El propósito de esta investigación fue demostrar que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* también puede funcionar para el tratamiento contra garrapatas, además de que se prepara de forma sencilla y a menor costo, que extraer el aceite esencial de las semillas.

En este trabajo se observó que el extracto acuoso de semillas de *P. anisum* tiene potencial como uso comercial para el control de garrapatas, además es asequible para consumidores de

tipo doméstico. Este estudio es de los primeros que se publican en donde se evalúa el extracto acuoso de semillas de *Pimpinella anisum*.

## Conclusiones e implicaciones

El extracto acuoso de semillas de *P. anisum* puede ser una alternativa sustentable para el tratamiento de garrapatas de perros domésticos; este extracto ha demostrado un tiempo de desprendimiento más eficaz que el Amitraz, además de tener un efecto de desprendimiento del 100 % de los ectoparásitos de la piel de los perros domésticos y los mantiene inmovilizados por un determinado tiempo, aunque más corto que el Amitraz. Se demostró que la cantidad de semillas utilizada por litro de agua para la producción del extracto acuoso hace que éste no sea tóxico. Además, este extracto no ocasionó irritación en la zona de aplicación. Se espera que los resultados de esta investigación aporten las bases para realizar futuras investigaciones sobre el extracto acuoso elaborado a partir de las semillas de *Pimpinella anisum* y sea aplicado a otras plagas que aquejan a los seres vivos.

## Agradecimientos

Al Instituto Tecnológico Superior del Sur del Estado de Yucatán por el permitir el uso de materiales e instalaciones para la realización de esta investigación, así como también al apoyo brindado por los padres de familia que permitieron evaluar a sus caninos.

## Literatura citada:

1. Oteo Revuelta JA. Espectro de las enfermedades transmitidas por garrapatas. Rev Pediatr Aten Primaria 2016;18:47-51.
2. Rodríguez-Vivas RI, Apanaskevich DA, Ojeda-Chi MM, Trinidad-Martínez I, Reyes-Novelo E, Esteve-Gassent MD, *et al.* Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. Vet Parasitol 2016;215:06-113.
3. Jongejan F, Uilenberg G. Ticks and control methods. Rev Sci Tech (International Office of Epizootics) 1994;13:1201-1226.
4. Dantas-Torres F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasit Vectors 2010;3:1-11.
5. Ghosh P, Saleh MN, Sundstrom KD, Lentile M, Little SE. *Ixodes* spp. from dogs and cats in the United States: Diversity, seasonality, and prevalence of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum*. Vector Borne Zoonotic Dis 2021;21:11-19.
6. Muñoz-Quezada MT, Lucero BA. Bioética y justicia ambiental: el caso de presencia de plaguicidas en escolares de comunidades rurales. Acta Bioeth 2019;25(2):161-170.


7. Saroj A, Oriyomi OV, Nayak AK, Haider SZ. Phytochemicals of plant-derived essential oils: A novel green approach against pests. In: Egbuna C, Sawicka B, editors. Natural remedies for pest, disease and weed control. USA: Academic Press; 2020:65-79.
8. Salmerón-Manzano E, Garrido-Cardenas JA, Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17:3376.
9. Gupta S, Didwania N. Role of medicinal plants as green pesticides against *Alternaria* blight. *Bulg J Agric Sci* 2021;27:562-568.
10. Kim SI, Park C, Ohh MH, Cho HC, Ahn YJ. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *J Stored Prod Res* 2003;39:11-19.
11. Raja N, Albert S, Ignacimuthu SE, Dorn S. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *J Stored Prod Res* 2001;37(2):127-132.
12. Hashem AS, Awadalla SS, Zayed GM, Maggi F, Benelli G. *Pimpinella anisum* essential oil nanoemulsions against *Tribolium castaneum*—insecticidal activity and mode of action. *Environ Sci Pollut Res* 2018;25:18802-18812.
13. CONAFOR. Comisión Nacional Forestal. Plantas medicinales de la farmacia viviente del CEFOFOR: usos terapéuticos tradicionales y dosificación. México. 2010.
14. Shojaii A, Abdollahi Fard M. Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *Int Sch Res Notices* 2012;1-8.
15. Sun W, Shahrajabian MH, Cheng Q. Anise (*Pimpinella anisum* L.), a dominant spice and traditional medicinal herb for both food and medicinal purposes. *Cogent Biol* 2019;5(1)1673688.
16. Erler F, Ulug I, Yalcinkaya B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia* 2006;77:491-494.
17. Pavela R. Insecticidal properties of *Pimpinella anisum* essential oils against the *Culex quinquefasciatus* and the non-target organism *Daphnia magna*. *J Asia Pac Entomol* 2014;17:287-293.
18. El-Sayed SM, Ahmed N, Selim S, Al-Khalaf AA, Nahhas NE, Abdel-Hafez SH, *et al.* Acaricidal and antioxidant activities of anise oil (*Pimpinella anisum*) and the oil's effect on protease and acetylcholinesterase in the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). *Agriculture* 2022;12(224):1-13.

19. Gülçin İ, Oktay M, Kıreççi E, Küfrevioğlu Öİ. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem* 2003;83:371-382.
20. Mohamed HSAA, Abdelgadir WS, Almagboul AZ. *In vitro* antimicrobial activity of anise seed (*Pimpinella anisum* L.). *Int J Adv Res* 2015;3(1):359-367.
21. Showler AT, Harlien JL. Effects of the botanical compound p-Anisaldehyde on horn fly (Diptera: Muscidae) repellency, mortality, and reproduction. *J Med Entomol* 2018; 55(1):183–192.
22. Showler AT, Harlien JL. Lethal and repellent effects of the botanical p-anisaldehyde on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *J Econ Entomol* 2019;112(1):485-493.
23. Showler AT, Harlien JL. Repellency of p-anisaldehyde against *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the Laboratory. *J Med Entomol* 2021;58(6):2314–2320.
24. Lima RL, Andrade FK, Alves RD, de Moraes SM, Vieira SR. Anti-cetylcholinesterase and toxicity against *Artemia salina* of chitosan microparticles loaded with essential oils of *Cymbopogon flexuosus*, *Pelargonium* x spp and *Copaifera officinalis*. *Int J Biol Macromol* 2021;167:1361–1370.
25. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, *et al.* *In vitro* antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *J Ethnopharm* 2004;92:177-191.
26. Lord CC. Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* Latreille (Arachnida: Acari: Ixodidae). University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS 2001. EENY-221.
27. Solís-Hernández A, Rodríguez-Vivas R, Pérez-Barrera MA, Esteve-Gassent MD, Apanaskevich DA. *Ixodes affinis* (Acari: Ixodidae) en perros de comunidades rurales de Yucatán, México: prevalencia, abundancia y factores asociados. *Vet Méx OA* 2015;2:01-09.
28. Che J, Chen X, Ouyang Q, Tao N. p-anisaldehyde exerts Its antifungal activity against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* by disrupting the cell wall integrity and membrane permeability. *J Microbiol Biotechnol* 2020;30(6):878–884.
29. Kennedy GM, Min MY, Fitzgerald JF, Nguyen MT, Schultz SL, Crum MT, *et al.* Inactivation of the bacterial pathogens *Staphylococcus pseudintermedius* and *Acinetobacter baumannii* by butanoic acid. *J Appl Microbiol* 2019;126(3):752-763.
30. Husain N, Gupta S. A critical study on chemistry and distribution of phenolic compounds in plants, and their role in human health. *IOSR Environ Sci Toxicol Food Technol* 2015;1(3):57-60.

31. Coser EM, Ferreira BA, Branco N, Yamashiro-Kanashiro EH, Lindoso JAL, Coelho AC. Activity of paromomycin against *Leishmania amazonensis*: Direct correlation between susceptibility *in vitro* and the treatment outcome *in vivo*. *Int J Parasitol Drug* 2020;14(1):91–98.
32. Zhao Y, Smyth HE, Tao K, Henry RJ, Gilbert RG. Starch molecular structural features and volatile compounds affecting the sensory properties of polished Australian wild rice. *Foods* 2022;11(4):511.
33. Cole LK, Luu DH, Rajala-Schultz PJ, Meadows C, Torres AH. *In vitro* activity of an ear rinse containing tromethamine, EDTA, and benzyl alcohol on bacterial pathogens from dogs with otitis. *AJVR* 2006;67(6):1040-1044.
34. Li H, O'Neill T, Webster D, Johnson JA, Gray CA. Anti-mycobacterial diynes from the Canadian medicinal plant *Aralia nudicaulis*. *J Ethnopharmacol* 2012;140(1):141–144.
35. Ibraheam IA, Hussein HM, Hameed IH. *Cyclamen persicum*: methanolic extract using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. *Int J Pharm Qual Assur* 2017;8(4):200-213.
36. Torretta S, Scagliola A, Ricci L, Mainini F, Di Marco S, Cuccovillo I, *et al.* D-mannose suppresses macrophage IL-1 $\beta$  production. *Nat Commun* 2020;11(1):6343-6354.
37. Showler AT, Harlien JL. Botanical compound p-anisaldehyde repels larval Lone Star Tick (*Acari: Ixodidae*), and halts reproduction by gravid adults. *J Med Medical Entomol* 2018;55(1):200–209.
- 38 De La Canal LH, Dall'Agnol B, Webster A, Reck J, Martins JR, Klafke GM. Mechanisms of amitraz resistance in a *Rhipicephalus microplus* strain from southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis* 2021;12:1-6.
39. Bhartiya M, Hans B, Sundaray S, Sagar A. Amitraz poisoning: The not so (un)common poisoning. *Cureus* 2019;11(8):e5438.



## Conocimiento socio-ecológico de la actividad apícola en la Costa Chica de Guerrero, México



---

José Cámara-Romero <sup>a</sup>

William Cetzal-Ix <sup>b\*</sup>

Luis Alaniz-Gutiérrez <sup>c</sup>

Agustín Rojas-Herrera <sup>d</sup>

José Aparicio-López <sup>a</sup>

Columba Rodríguez-Alviso <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Centro de Ciencias de Desarrollo Regional. Acapulco, Guerrero, México.

<sup>2</sup> Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Chiná, Campeche, México.

<sup>3</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No 2, Cuajinicuilapa, Guerrero, México.

<sup>4</sup> Universidad Autónoma de Guerrero. Facultad de Ecología Marina. Acapulco, Guerrero, México.

\*Autor de correspondencia: [rolito22@hotmail.com](mailto:rolito22@hotmail.com)

### Resumen:

La identificación de flora melífera (FM) en las áreas donde se establecen apiarios es necesaria para los apicultores, debido a que las abejas (*Apis mellifera*) dependen de estos recursos florales para su alimentación y producción de miel. El objetivo del estudio fue analizar los aspectos socio-ecológicos de la apicultura, considerando los conocimientos de la flora melífera de los productores en la Costa Chica de Guerrero (CCG), México. Se realizó un

muestreo no probabilístico por conveniencia. La muestra final fue de 75 apicultores encuestados. Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva y tablas cruzadas; se realizaron recolectas botánicas para identificar las especies citadas. La apicultura es tradicional (5-50 colmenas), la edad promedio fue 48 años, con 10 años de escolaridad y 12 años de experiencia. Los productores mencionaron 33 especies de FM (26 nativas y siete cultivadas), pertenecientes a 16 familias botánicas. Además, por su uso, las clasificaron en nectapoliníferas (14 especies), poliníferas (10) y nectaríferas (9). Se registró que las especies nativas florecen durante el invierno (herbáceas) y primavera (árboles), lo que coincide con la época de cosecha de miel, mientras que las especies cultivadas florecen en épocas de lluvias (verano) y son un recurso importante en épocas de postcosecha. Los apicultores de la CCG registraron bajo conocimiento de la vegetación circundante a sus apiarios, pero tienen un alto conocimiento de las principales especies de FM, encontrándose que, a mayor edad, mayor conocimiento sobre las especies de FM que las abejas utilizan en su alimentación (néctar o polen).

**Palabras clave:** Apicultor, Recursos florales, Conocimiento tradicional, Vegetación.

Recibido: 18/07/2023

Aceptado: 09/12/2023

## Introducción

La apicultura es una actividad que se vincula directamente con el manejo sostenible de los recursos naturales, debido a que los productores dependen de áreas con flora nativa o introducida para instalar sus colmenas y así, las abejas cuentan con fuentes de alimento (néctar o polen) para la producción de miel<sup>(1,2)</sup>. Esta actividad es compatible con la conservación de la biodiversidad y con los cultivos tradicionales circundantes, ya que contribuyen a la polinización y a la soberanía alimentaria<sup>(3)</sup>. La apicultura como actividad, requiere de poca inversión y provee un ingreso importante para la estabilidad económica de los productores en las comunidades rurales donde se practica<sup>(4)</sup>.

En México, la apicultura es una actividad pecuaria que influye en aspectos socioeconómicos y ecológicos debido a que genera importantes divisas<sup>(5)</sup>. El país ocupa el noveno lugar en el ámbito mundial por su volumen de producción, y el décimo primer lugar en número de colmenas; a nivel continental se sitúa en el tercer lugar en ambos rubros<sup>(6)</sup>. A pesar de encontrarse entre los principales productores de miel en el mundo, México presenta una tendencia a la baja en volumen de miel e inventarios de colmenas desde hace dos décadas<sup>(7)</sup>. Este declive en la producción se debe a múltiples factores, como plagas y enfermedades

(varroasis, loques, pequeño escarabajo de la colmena), problemas técnicos-sociales (falta de capacitación y organización, intermediarismo y competencia en el mercado internacional) y ecológicas (variaciones en la fenología y sincronización floral)<sup>(8)</sup>. Estos obstáculos han ocasionado inestabilidad en el sector apícola mexicano, principalmente en las regiones apícolas del país (Norte, Altiplano, Pacífico, Golfo y Península de Yucatán)<sup>(5)</sup>.

En Guerrero, la apicultura se ve favorecida por su ubicación geográfica, diversidad de climas y recursos naturales. La entidad se encuentra ubicada en dos regiones apícolas (Altiplano y Pacífico), lo que deriva en un alto potencial de producción de miel para las siete regiones del estado (Acapulco, Costa Chica, Costa Grande, Centro, La Montaña, Norte y Tierra Caliente)<sup>(9)</sup>. En 2021, Guerrero se ubicó como el décimo primer productor de miel a nivel país, con 2,081 t; se ha registrado un declive en su producción durante los últimos años<sup>(7)</sup>, debido a la deforestación, cambio de uso de suelo e inseguridad, que limita el desarrollo de esta actividad<sup>(10)</sup>. La Costa Chica de Guerrero es la principal región productora de miel a nivel estatal, ya que cuenta con una cobertura más extensa de vegetación en selvas bajas y medianas tropicales, en donde la oferta de recursos florales es constante, que las demás regiones; por lo que sigue siendo necesario ampliar el conocimiento relativo a la flora melífera (FM). Esta información puede ser útil para conocer las especies vegetales de mayor importancia para la apicultura, mantener a las colonias establecidas e incrementar su desarrollo<sup>(11)</sup>.

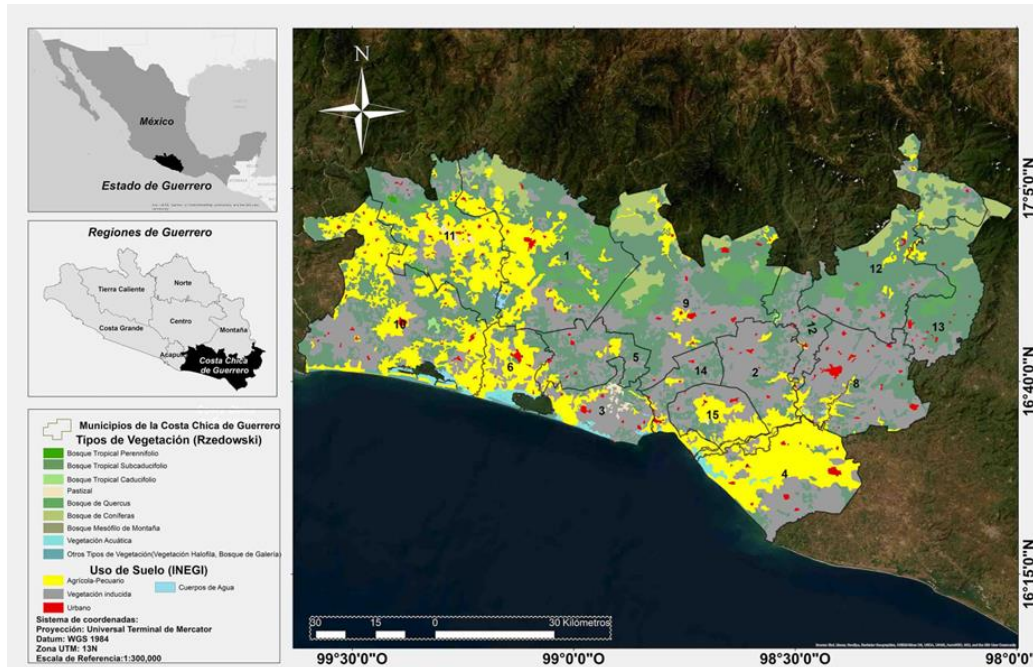
Para evaluar los conocimientos, experiencias y saberes que generan los apicultores de un área específica sobre la vegetación, diversidad de FM con sus periodos floración y con utilidad alimenticia (polen y néctar) para las abejas, es necesario contar con las observaciones de los productores, información que es recabada y validada a través de entrevistas, cuestionarios o estudios de campo, lo que permite conocer la flora de interés para la producción de miel<sup>(12)</sup>. Por tal razón, el objetivo del estudio fue analizar los aspectos socio-ecológicos de la actividad apícola, con base en los saberes de la FM de los productores de la Costa Chica de Guerrero (CCG), México, para contar con información actualizada sobre el panorama de la actividad apícola en esta región.

## Material y métodos

La región de la CCG está conformada por 15 municipios: Ayutla de los Libres, Azoyú, Copala, Cuatepec, Cuajinicuilapa, Florencio Villarreal, Igualapa, Juchitán, Marquelia, Ometepec, San Luis Acatlán, San Marcos, Tecoaapa, Tlacoachistlahuaca y Xochistlahuaca; la CCG limita al norte con las regiones de La Montaña y Región Centro, al sur con el Océano Pacífico, al oriente con el estado de Oaxaca (Costa Chica de Oaxaca) y al poniente con la región de Acapulco<sup>(13)</sup> (Figura 1).



**Figura 1:** Municipios donde se realizaron las entrevistas a los apicultores en la Costa Chica de Guerrero, México



1= Ayutla de los Libres, 2= Azoyú, 3= Copala, 4= Cuajinicuilapa, 5= Cuautepec, 6= Florencio Villarreal, 7= Igualapa, 8= Juchitán, 9= Marquelia, 10= Ometepec, 11= San Luis Acatlán, 12= San Marcos, 13= Tecoanapa, 14= Tlacoachistlahuaca, 15= Xochistlahuaca.

La CCG posee un clima predominantemente cálido-subhúmedo, con temperatura que oscila entre 20 y 29 °C, con precipitaciones de 1,100 a 2,200 mm de junio a octubre; cuenta con cuerpos de agua abundantes, entre ríos y arroyos, la topografía varía entre terrenos cerriles ubicados en los municipios de San Luis Acatlán y Ometepec hasta planos o semiplanos en el municipio de Marquelia; la vegetación se compone de una tercera parte de selvas baja y mediana caducifolia, y de bosques de pino y encino en las zonas cercanas a la región Montaña<sup>(13)</sup>.

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia<sup>(14)</sup>, donde los individuos se seleccionaron por su disposición para proporcionar información detallada del conocimiento y percepción que tienen los apicultores sobre FM en la CCG. Para recopilar la información, se diseñó un cuestionario y se aplicó una encuesta, durante las reuniones de las cooperativas y asociaciones de apicultores. La muestra final fue de 75 apicultores encuestados en el periodo de enero a diciembre de 2021.

El cuestionario estuvo integrado por dos apartados: I) Datos generales del apicultor (edad, escolaridad, tiempo en esta actividad y ocupación principal) y de su unidad apícola (tenencia de la tierra, trashumancia). II) Conocimientos ecológicos de la flora de la región (adquisición del conocimiento de la FM, reforestación, tipos de vegetación del área circundante a los

apiarios, principales especies cercanas a su apiario y la aportación de néctar y polen de la FM de la región), para determinar el conocimiento de la flora, se les preguntó del total (100 %) de las plantas de su región, qué porcentaje considera conocer.

Para identificar la FM citada por los apicultores, se realizaron diez recorridos aleatorios en selvas bajas y medianas tropicales del área de estudio, guiados por un apicultor clave. La identificación de las especies se basó en un análisis conjunto entre investigadores y apicultores e investigación documental disponible para el área<sup>(9,15,16)</sup>. Las especies que no se lograron identificar en campo, se colectaron según la técnica descrita<sup>(17)</sup>, y fueron enviadas al herbario María Agustina Batalla, de la Facultad de Ciencias (FCME), de la Universidad Autónoma Nacional de México, para su identificación.

### **Análisis de datos**

Para el análisis de los datos se empleó estadística descriptiva y la información se procesó mediante el Software estadístico SPSS, versión 19. Se realizó el análisis de frecuencias y tablas cruzadas<sup>(18)</sup> para comparar las medias de los indicadores entre las dos secciones de la encuesta, y determinar si existe o no, una relación entre las variables sociales con las ecológicas. Se utilizó la prueba de Ji cuadrada para detectar asociación entre la variable de edad y conocimiento de la vegetación, experiencia y tenencia de la tierra con reforestación. Se clasificaron a los apicultores en tres categorías, de acuerdo con el número de colmenas que poseen: 1) tradicional de 10 a 50 colmenas, 2) semitecnificados de 51 a 200 colmenas y 3) tecnificados > 200 colmenas.

## **Resultados**

### **Características generales del apicultor**

La edad promedio de los apicultores fue de 48 años, con una experiencia promedio de 12 años en la apicultura (Cuadro 1), y una escolaridad de 10 años. De acuerdo con la clasificación, la apicultura tradicional tuvo un mayor número de apicultores (58.7 %), semitecnificados (45.3 %) y los tecnificados (4 %), además estos últimos poseen más experiencia (17) y edad (59) en años respectivamente.

**Cuadro 1:** Principales características sociodemográficas de los apicultores

Tipo de apicultor	Experiencia (años)	Edad (años)	Escolaridad			Total
			Básica	Media-superior	Superior	
Tradicional	9 ± 1.02	43 ± 1.1	18	13	7	38
Semitecnificado	15 ± 1.44	53 ± 1.31	20	9	5	34
Tecnificado	17 ± 2.01	59 ± 6.1	2	0	1	3
Promedio	12	48	-	-	-	-
Número de apicultores	-	-	40	22	13	75
% Total			53.4	29.3	17.3	100

El 56 % de los apicultores comentaron que sus apiarios se encuentran en terrenos donde la propiedad legal les pertenece y el 44 % restante indicaron que sus apiarios se ubican en terrenos prestados o rentados (Cuadro 2). Los apicultores tecnificados (4 %) al poseer más de 200 colmenas tienen la necesidad de rentar tierras para el establecimiento de sus apiarios, por lo que en su mayoría practican la apicultura trashumante, la cual está poco arraigada a esta región, tan solo el 12 % de los apicultores la practica, por lo general moviéndola a las zonas de la Montaña.

**Cuadro 2:** Actividades económicas de los apicultores y tenencia de los apiarios

Tipo de apicultor	Tenencia del terreno		Actividad principal		
	Rentado	Privado	Apicultor	Agropecuario	Asalariado
Tradicional	19	19	10	11	17
Semitecnificado	13	21	6	20	8
Tecnificado	1	2	0	2	1
Número de apicultores	33	42	16	33	26
% Total	44.0	56.0	21.3	44.0	34.7

Con respecto a la actividad principal de los apicultores, se observó que el 21.3 % se dedica exclusivamente a la apicultura, por lo que resulta que la apicultura es una actividad complementaria con otros rubros de trabajo de campo agropecuario. No obstante, los apicultores tecnificados, se consideraron empresarios, ya que le dan valor agregado a la apicultura y diversifican sus actividades económicas

## Flora melífera

Los apicultores identificaron 31 especies de FM, compuestas por 16 familias botánicas, de las cuales Fabaceae tuvo el mayor número de especies (14), seguida de Boraginaceae y Malpighiaceae, con dos respectivamente, las otras 13 familias solo tuvieron una especie; dos especies no lograron ser identificadas (Cuadro 3).

De acuerdo con el conocimiento de los apicultores, 14 especies son consideradas nectaríferas, 11 producen néctar y polen y 8 polen, de las cuales 26 son silvestres y 6 cultivadas, destacándose entre éstas *Mangifera indica* L., *Citrus × aurantiaca* (L.) Swingle y *Cocos nucifera* L., ya que en la región son ampliamente cultivadas (Figura 2). A pesar de que el ajonjolí (*Sesamum indicum* L), es otro cultivo importante en la región, sólo dos apicultores la mencionaron.

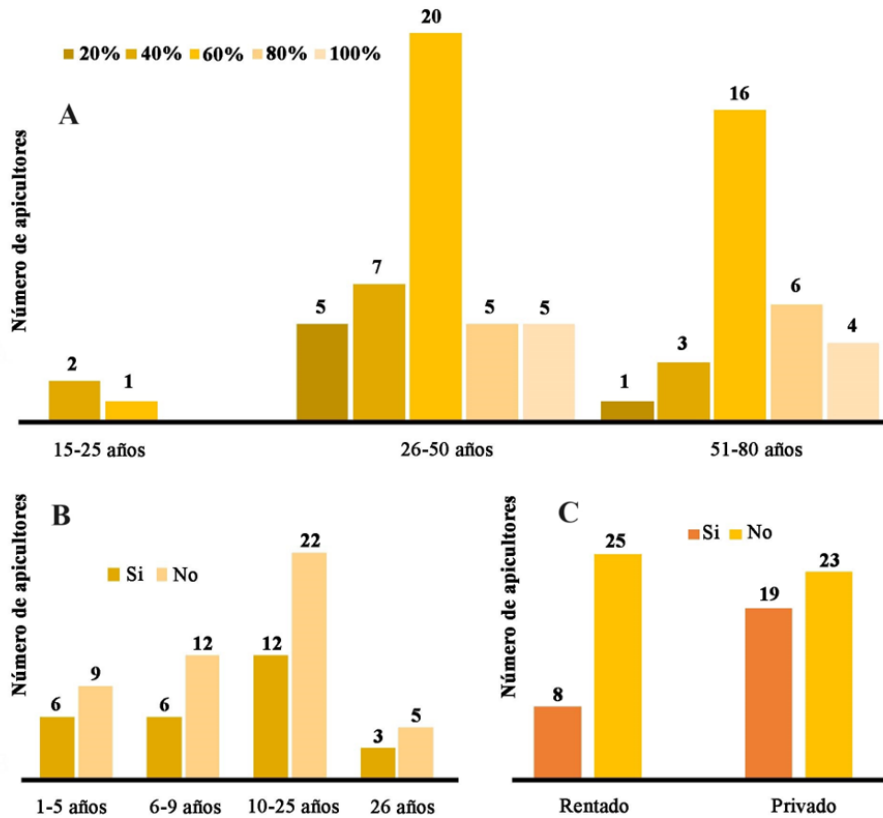
**Figura 2:** Vegetación y flora melífera



A) Vegetación secundaria, Vista Hermosa, Ometepec. B) *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. C) *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. D) *Pithecellobium unguis-cati* (L.) Benth. E) *Bauhinia pauletia* Pers. F) Vista panorámica, Selva mediana subcaducifolia. G) *Senna mollissima* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) H.S. Irwin & Barneby.

Para conocer la percepción que se tiene sobre la FM de la región, se generaron tablas cruzadas con la edad y el conocimiento de la vegetación, encontrándose que el 24 % de los apicultores identifica o conoce el 40 % de la vegetación, el 12 % de los apicultores conoce entre el 80 y 100 % de la vegetación (Figura 3). El conocimiento de la flora se incrementa a mayor edad, los apicultores del grupo de 26-50 años 75 conocen el 60 % de la flora de la región, mientras que el grupo de 15 a 25 años solo conoce el 30 % de la flora.

**Figura 3:** Tabla cruzada. **A.** Entre la edad y el conocimiento de la flora de su región. **B.** Experiencia y reforestación. **C.** Tenencia del terreno y reforestación



\*La prueba de Ji cuadrada evidenció la inexistencia de una correlación ( $P>0.05$ ) entre estas tres tablas cruzadas.

Con respecto a los años de experiencia y la práctica sobre la reforestación, mostró que el 40 % de los apicultores con una experiencia de 1 a 5 años reforestan, mientras que solo el 33 % con una experiencia de 6 a 9 años reforesta. Así mismo, se observó que el 45 % de los apicultores con la propiedad legal del terreno reforestan, y el 76 % que rentan tierras no lo hacen.

## Discusión

De acuerdo con el promedio histórico nacional del número de colmenas por apicultor<sup>(19)</sup>, la apicultura en México puede clasificarse como tradicional (1-50), semitecnificados (51-200) y tecnificado (más de 201).

Los apicultores de la región presentaron un promedio de edad de 48 años con intervalo entre 23 y 75 años, similar a lo registrado en otras entidades como Yucatán<sup>(20)</sup>, la región centro-sur de Jalisco<sup>(21)</sup>, con 49 años y para Campeche<sup>(22)</sup>, con 57 años. En consecuencia, la edad promedio de los apicultores de la región de estudio sugiere que está ocurriendo un relevo generacional en la actividad apícola, y es una ventaja debido a que las personas de mayor edad y con mayor experiencia en la actividad presentan menor disposición al cambio de sus formas tradicionales de producción y al aprendizaje de nuevas técnicas, en comparación con los jóvenes<sup>(23)</sup>.

La experiencia de los apicultores a nivel nacional varía entre los 21 a 23 años, estos datos son similares a lo reportado en el Estado de Campeche<sup>(20)</sup>, en donde se reportó un valor de 21 años en la actividad, para la región Sierra Centro-Norte de Veracruz se encontró una experiencia de 22 años<sup>(24)</sup>, mientras para la región centro-sur de Jalisco encontraron un valor idéntico al de este estudio con 23 años de experiencia en esta actividad<sup>(23)</sup>, la similitud de estos resultados, indican que a nivel nacional los apicultores poseen conocimientos, habilidades y competencias adquiridas para la práctica de esta actividad.

El promedio de escolaridad de los apicultores encuestados fue de 10 años, lo que equivale al primer año del nivel medio superior (bachiller), similar a la escolaridad promedio de los apicultores de Jalisco<sup>(21)</sup>, con 9 años, pero superior a la escolaridad promedio (5 años) registrada en Yucatán<sup>(25)</sup>. El bajo nivel de estudios es uno de los factores principales por los que no se llevan a cabo registros o bitácoras de campo, ya que limita la posibilidad de manejar la información, mantiene las prácticas tradicionales y la aplicación de nuevas tecnologías<sup>(21)</sup>. Las condiciones sobre la propiedad de la tierra, es una diferencia de la región de estudio pues el 44 % de los apicultores renta el terreno donde está establecido el apiario, condiciones muy diferentes por ejemplo a los predios del estado de Yucatán<sup>(22)</sup>, donde el 74 % son propiedad privada y solo 26 % se encuentran en terrenos rentados. Esto refleja los contrastes regionales e intergeneracionales en la propiedad social de la tierra y se relaciona con los cambios producidos en la reforma agraria de 1992, donde se fomentó la fragmentación de las tierras comunitarias propiciando alteraciones entre las culturas indígenas y campesinas profundamente arraigadas<sup>(26)</sup>. Dicho fenómeno de fragmentación de las selvas obliga a los apicultores a mover sus colmenas a lugares con vegetación conservada en busca de especies adecuadas.

En este sentido, la apicultura trashumante la realizó solo el 12 % de los apicultores en la CCG. Estos resultados son similares a lo registrado en la Región Centro y Norte de Veracruz, donde los apicultores con más de 150 colmenas (20 %), son los que practican la trashumancia<sup>(24)</sup>. Por otra parte, la ubicación inadecuada del apiario provoca un menor rendimiento de producción de miel de por colmena; por lo tanto, la trashumancia implica maximizar la eficiencia productiva en función de la densidad de FM, reduciendo el recorrido de la abeja en su pecoreo y contrarrestando la inversión de recursos económicos<sup>(27)</sup>.

La apicultura en la CCG es una actividad complementaria para los apicultores tradicionales y semitecnificados. En el estado de Yucatán, la apicultura es la principal actividad económica para el 19 % de los apicultores, el porcentaje se eleva hasta 25 % si el apiario tiene entre 50 y 100 colmenas<sup>(25)</sup>, observando que, a mayor número de apiarios, los apicultores perciben la apicultura como actividad económica principal.

La participación de las comunidades es una manera de obtener resultados fiables y útiles para mejorar problemáticas, situaciones o conocimientos colectivos de su región<sup>(28)</sup>. Este conocimiento de la flora de la región, y en especial la que tiene un potencial melífero, sirve como herramienta para los mismos apicultores, ya que les permite tener un mejor manejo de sus apiarios, decidir cuándo deben complementar la nutrición de las abejas o cambiar sus apiarios a lugares con FM adecuada para que las abejas busquen polen y néctar, que contribuya a la producción de miel de calidad<sup>(1)</sup>.

La mención entre los apicultores encuestados de algunas especies que no son importantes para la actividad apícola (*Tamarindus indica* L., *Ehretia tinifolia* L. y *Persea americana* Mill.) confirma que la percepción de los apicultores está sesgada a favor de especies de paisajes con influencia cultural, tanto cultivadas como silvestres<sup>(29)</sup>. El 72 % de los apicultores están familiarizados con un 80 % de la vegetación de sus alrededores y debido a esta familiaridad de estos paisajes y dificulta la identificación de otro tipo de especies presentes en la vegetación de las selvas.

Los apicultores del municipio de Hopelchén, Campeche registraron 50 especies, tres subespecies y tres variedades de FM, distribuidas en 26 familias botánicas<sup>(12)</sup>, dato superior a lo encontrado en este estudio, donde se registraron 33 especies de FM.

En regiones con un fuerte cambio de uso de suelo y donde predominan paisajes agropecuarios, en los remanentes de vegetación natural predominan principalmente especies arbóreas, adquiriendo importancia para la apicultura<sup>(30)</sup>. En un bosque seco tropical en Ecuador<sup>(31)</sup>, registraron valores similares con este estudio, 28 especies de FM fueron identificadas por los apicultores. No obstante, estas preguntas se orientaron solamente a las especies que consideran importantes para las abejas, y no a toda la vegetación en general. De

igual manera en otro estudio realizado en Nicaragua<sup>(32)</sup> se identificaron 89 especies, pero sin especificar si todas corresponden a FM.

También se identificó que, de las 33 especies registradas en este estudio, siete son cultivadas, pero la floración aprovechable por las abejas se concentra de noviembre a mayo, mientras que, durante el resto del año, de acuerdo con algunos autores<sup>(33)</sup>, los recursos de néctar y polen se recolectan en parcelas de monocultivos. En la región de estudio las plantaciones como el ajonjolí, cítricos, jamaica, coco, mango, etc., juegan un papel importante como recursos florales para la apicultura, por la superficie establecida, y por los periodos de floración que no son simultáneos con la vegetación silvestre. Un dato para resaltar es que los apicultores no mencionaron ninguna especie de pastizal introducido, a pesar de abundar en las selvas secas tropicales de la región. Este hecho se debe a que los apicultores asocian a los pastizales con la obtención de polen y no lo consideran como un recurso floral importante para las abejas. Sin embargo, en otras partes del Caribe como República Dominicana<sup>(29)</sup>, los apicultores identificaron como plantas de interés apícola a especies invasoras como *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Syzygium jambos* (L.) Alston y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Finalmente, se cuestionó el nivel de conocimiento de la flora de los alrededores de los apiarios, solo el 12 % de los apicultores consideró conocer entre el 80 al 100 % de la FM, valor inferior a lo registrado en Campeche<sup>(12)</sup>, en donde encontraron que el 60 % tienen un conocimiento de la vegetación de sus apiarios, resultado de la transmisión de conocimiento a través de generaciones.

## Conclusiones e implicaciones

A los apicultores de la CCG se les facilita la adopción de nuevas tecnologías y diversificación de los productos de la colmena, debido a su edad promedio, inferior a la media nacional. La apicultura trashumante la realizan los apicultores tecnificados. Los más jóvenes tienen poco conocimiento del entorno y la FM, pero identifican la flora específica que proporciona néctar o polen a las abejas, reconocen que los cultivos agrícolas son importantes para la actividad. Por otra parte, la tenencia del terreno donde se ubican los apiarios influye en la reforestación de estos, y debido a que un alto porcentaje renta los terrenos, no se realiza esta práctica. La percepción de los apicultores sobre los recursos que utilizan las abejas es una fuente importante de conocimientos sobre la flora de interés apícola y estos saberes van en aumento según la edad, es por ello por lo que son una fuente de información invaluable.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, por el financiamiento del proyecto 319942 Plantas “de importancia menor” para la sobrevivencia de las abejas y el desarrollo de la apicultura en la Costa Chica de Guerrero), bajo el marco de la Convocatoria



de “Ciencia Básica o Ciencia de Frontera Modalidad: Paradigmas y Controversias de la Ciencia 2022”.

**Literatura citada:**

1. Román L, Palma JM. Árboles y arbustos tropicales nativos productores de néctar y polen en el estado de Colima, México. *AIA* 2007;11:3–24.
2. Martínez-Virgen M, Ulloa-Castañeda R, Salgado-Moreno S, Carmona-Gasca C, Orozco-Benítez G, Martínez-González S. Estudio geográfico e identificación de plantas con potencial apícola en Nayarit, México. *Abanico Agroforestal* 2020;2:1–9.
3. CLAC. Comercio Justo en América Latina y el Caribe. La apicultura en el contexto de cambio climático. Manual de buenas prácticas en la apicultura en el contexto del cambio climático. 2016.
4. Dolores-Mijangos G, Santiago-Cruz M, Arana-Coronado J, Utrera-Quintana F. Estudio del impacto de la actividad apícola en el Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 2017;14:187–203.
5. Magaña-Magaña M, Sanginés-García J, Lara-Lara P, Salazar-Barrientos L, Leyva-Morales C. Competitividad y participación de la miel mexicana en el mercado mundial. *Rev Mex Cienc Pecu* 2017;8(1):43–52.
6. FAOSTAT. Base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación. 2022.
7. SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Cierre de la producción pecuaria por Estado. 2022.
8. Guzmán-Novoa E. Impacto de la africanización de las abejas en México. *Imagen Veterinaria* 2004;4:20–25.
9. Villegas-Durán G, Bolaños-Medina A, Miranda-Sánchez JA, González-Quintero U. Flora nectarífera y polinífera en el estado de Guerrero. 1ª ed. SAGAR. 2002:129.
10. Delgado DL, Eglée M, Galindo-Cardona A, Giray T, Restrepo C. Forecasting the influence of climate change on agroecosystem services: Potential impacts on honey yields in a small-island developing state. *Psyche J Entomol* 2012;2012:1-10.
11. Méndez MV, Sánchez AC, Flores FF, Lupo LC. Recurso polinífero utilizado por *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) en un área de bosque subtropical del noroeste de Argentina. *Rev Biol Trop* 2018;66:1182–1196.

12. Coh-Martínez ME, Cetzal-Ix W, Martínez-Puc JF, Basu SK, Noguera-Savelli E, Cuevas M. Perceptions of the local beekeepers on the diversity and flowering phenology of the melliferous flora in the community of Xmabén, Hopelchén, Campeche, Mexico. *J Ethnobiol Ethnomed* 2019;15:16.
13. INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Aspectos geográficos. Guerrero. 2012.  
[https://en.www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen\\_12.pdf](https://en.www.inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_12.pdf)
14. Hernández-Sampieri R, Fernández-Collado C, Baptista-Lucio P. Metodología de la investigación. 6<sup>a</sup>. ed. Mc Graw Hill. México; 2014.
15. Carreto-Pérez BE, Almazán-Juárez Á, Sierra-Morales P, Almazán-Núñez R. Estudio florístico de la cuenca baja del Río Papagayo, Guerrero, México. *Polibotánica* 2015;40: 1-27.
16. Morales-Saldaña S, Martínez-Ambriz E, Valencia-Á S. Estudio florístico y de la vegetación del municipio de Buenavista de Cuéllar, Guerrero, México. *Bot Scien* 2015; 93(1):73-95
17. Lot A, Chiang F. Manual de herbario: administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la Flora de México. A.C. México, D.F., México. 1986:142.
18. Moggi F, Tresoldi C, Senesi S, Palau H, Vilella F. Sustainable development in food and agribusiness: application of the theoretical model to the Argentine beekeeping sector. VII International PENSA 2009;1–16.
19. Gutiérrez L. Plan rector del sistema productivo apícola en Tamaulipas. Comité Sistema Producto Apícola de Tamaulipas, México. 2011.
20. Magaña-Magaña M, Aguilar-Arrieta A, Lara-Lara P, Sanginés-García, R. Caracterización socioeconómica de la actividad apícola en el Estado de Yucatán. México. *Rev Agron* 2007;15:17–24.
21. Sánchez-Gómez J, Vázquez-Alfaro M, Alaníz-Gutiérrez L, González-Álvarez VH, Saavedra-Jiménez L. Características y necesidades tecnológicas de los apicultores de la región centro-sur de Jalisco. *Acta Universitaria* 2022;32:e3493.
22. Martínez-Puc J, Cetzal-Ix W, González-Valdivia N, Casanova-Lugo, Basu SK. Caracterización de la actividad apícola en los principales municipios productores de miel en Campeche, México. *J Selva Andina Anim Sci* 2018;5:44–53.

23. Contreras-Escareño F, Pérez Armendáriz B, Echazarreta CM, Cavazos J, Macías-Macías JO, Tapia-González JM. Características y situación actual de la apicultura en las regiones Sur y Sureste de Jalisco, México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2013;4:387–398.
24. Luna-Chontal G, Roque-Peña JG, Fernández-Echeverría E, Martínez-Mendoza E, Díaz-Zorrilla UA, Fernández-Lambert G. Caracterización apícola en la Región Sierra Centro-Norte de Veracruz: contexto y trashumancia. *Rev Mex Cienc Agríc* 2019;10:1339–1351.
25. Contreras-Uc L, Magaña-Magaña M, Sanginés-García J. Productividad de la apicultura en comunidades mayas del Litoral Centro de Yucatán, México. *Rev Agroprod* 2017;10:46–50.
26. Morett-Sánchez J, Cosío-Ruiz C. Panorama de los ejidos y comunidades agrarias en México. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*. 2017;4:125–152.
27. Abou-Shaara HF, Al-Ghamdi AA, Mohamed AA. Suitability map for keeping honeybees under harsh environmental conditions using geographical information systems. *World Applied Sci J* 2013;22:1099–1105.
28. Melero-Aguilar N, Fleitas-Ruiz R. La investigación acción participativa en procesos de desarrollo comunitario: una experiencia de cooperación interuniversitaria en el barrio de Jesús María, La Habana Vieja (Cuba). *Rev Interuniversitaria* 2015;26:203–228.
29. May T, Rodríguez S, Rivas S. Especies de plantas de importancia apícola en la República Dominicana según la percepción de los apicultores. *Moscosa* 2018;16:148–168.
30. Odoux JF, Aupinel P, Gateff S, Requier F, Henry M, Bretagnolle V. ECOBEE: a tool for long-term honeybee colony monitoring at the landscape scale in West European intensive agroecosystems. *J Apic Res* 2014;53:57–66.
31. Jiménez-González A, Cantos C, Cedeño MJ, Vera LM. Caracterización de la producción apícola en un sistema cooperativo asociado al bosque seco tropical. *UNESUM-Ciencias: Rev Cient Multidisciplinaria* 2021;5:47–60.
32. Aguilar-Cabrera CÁ, Aker-Narváez C, Pacheco-Flores SA. Caracterización florística de las especies de aprovechamiento apícola en el complejo volcánico “Pilas el Hoyo”. *Rev Iberoam Bioecon Cambio Climático* 2019;5:1164–1197.
33. May T. Apicultura y conservación de la biodiversidad en el caribe muchos intereses convergentes y algunos divergentes estudios de caso: República Dominicana. *Ambiente y Sostenibilidad* 2015;5:69–77.

**Cuadro 3:** Especies citadas por los apicultores de la región Costa Chica, Guerrero

<b>Familia</b>	<b>Taxa</b>	<b>RF</b>	<b>CRF</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>A</b>	<b>M</b>	<b>J</b>	<b>J</b>	<b>A</b>	<b>S</b>	<b>O</b>	<b>N</b>	<b>D</b>	<b>ERIH</b>	<b>NMA</b>
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i> L.	P	Re	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	---	17
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i> L.	N-P	Re	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	-	---	2
Bignoniaceae	<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC.	N-P	Ab	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 1008 (FCME)	3
Boraginaceae	<i>Cordia dentata</i> Poir.	N-P	Re	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 289 (FCME)	4
Combretaceae	<i>Combretum fruticosum</i> (Loefl.) Stuntz	N-P	Re	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 715 (FCME)	5
Convolvulaceae	<i>Ipomoea trifida</i> (Kunth) G. Don	N	Ab	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	L. Alaniz et al. 611 (FCME)	30
Dilleniaceae	<i>Curatella americana</i> L.	N	Ab	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	L. Alaniz et al. 805 (FCME)	11
Fabaceae	<i>Andira inermis</i> (W. Wright) Kunth ex DC.	N	Ab	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 1000 (FCME)	36
Fabaceae	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb.	N	Ab	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 1002 (FCME)	2
Fabaceae	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Kunth ex Walp.	N	Ab	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	L. Alaniz et al. 1003 (FCME)	29
Fabaceae	<i>Hymenaea courbaril</i> L.	N	Ab	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 1004 (FCME)	46
Fabaceae	<i>Pterocarpus orbiculatus</i> DC.	N-P	Ab	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	L. Alaniz et al. 771 (FCME)	6
Fabaceae	<i>Bauhinia pauletia</i> Pers.	P	Re	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz et al. 730 (FCME)	3

Fabaceae	<i>Senna mollissima</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) H.S. Irwin & Barneby.	P	Re	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz <i>et al.</i> 538 (FCME)	3
Fabaceae	<i>Tamarindus indica</i> L.	P	Re	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	---	2
Fabaceae	<i>Vachellia farnesiana</i> (L.) Wight & Arn.	P	Re	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz <i>et al.</i> 547 (FCME)	2
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.	N	Ab	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	---	2
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	N	Ab	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz <i>et al.</i> 1001 (FCME)	15
Malpighiaceae	<i>Malpighia ovata</i> Rose	N-P	Ab	-	-	-	-	X	X	X	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz <i>et al.</i> 1007 (FCME)	10
ND	Gusanillo (nombre común)	N	Ab	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	---	3
ND	Tanalocote (nombre común)	N	Ab	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	---	7
Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i> L.	N	Ab	-	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-	-	-	---	2
Polygonaceae	<i>Coccoloba barbadensis</i> Jacq.	N	Ab	-	X	X	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	L. Alaniz <i>et al.</i> 520 (FCME)	21
Rutaceae	<i>Citrus × aurantiaca</i> (L.) Swingle	N	Ab	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	-	-	-	---	7

RF= recurso floral: N= néctar, P= polen, N-P= néctar-polen. CRF= cantidad del recurso floral: AB= abundante, ES= escasa, RE= regular. Calendario floral con meses del año (enero-diciembre). ERIH= espécimen representativo ingresado al herbario FCME (basado en Alaniz *et al.*, número de recolecta).

NMA= número de veces mencionada la especie por los apicultores.



## Prevalencia de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. en vacunos de crianza extensiva del distrito Florida (Amazonas), Perú



Medali Cueva-Rodríguez <sup>a,b\*</sup>

Teófilo Torrel <sup>c</sup>

Cristian Hobán <sup>d</sup>

Wuesley Alvarez-García <sup>b</sup>

Flor Mejía <sup>e</sup>

Luis Vargas-Rocha <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos - LABISAN, Calle Higos Urco N° 342-350-356 - Calle Universitaria N° 304. Ciudad de Chachapoyas (Amazonas) Perú.

<sup>b</sup> Instituto Nacional de Innovación Agraria. Dirección de Desarrollo Tecnológico Agrario. Estación Experimental Baños del Inca. Ciudad de Los Baños del Inca (Cajamarca), Perú.

<sup>c</sup> Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Parasitología Veterinaria y Enfermedades Parasitarias. Ciudad de Cajamarca, Perú.

<sup>d</sup> Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Inmunología. Ciudad de Cajamarca, Perú.

<sup>e</sup> Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Instituto de Investigación de Ganadería y Biotecnología – IGBI. Ciudad de Chachapoyas (Amazonas), Perú.

\* Autor de correspondencia: [mcuevar@unc.edu.pe](mailto:mcuevar@unc.edu.pe)

**Resumen:**

El presente estudio determina la prevalencia de los huevos de *Fasciola hepatica*, *Calicophoron* spp. y la infección mixta en vacunos de crianza al pastoreo de seis poblados ganaderos del distrito de Florida, Amazonas (Perú). Mediante la técnica de sedimentación natural se examinaron 358 muestras fecales. La prevalencia de *F. hepatica* fue 69.83 % (IC 95% 65.08 – 74.59), seguido de *Calicophoron* spp. 60.34 % (IC 95% 55.27 – 65.40) y una prevalencia de infección mixta 41.62 % (IC95% 36.51 – 46.73). La presencia de huevos de *F. hepatica* no tuvo diferencias entre los poblados, las razas y el grupo etario ( $P>0.05$ ). La presencia de *Calicophoron* spp. y la infección mixta con *F. hepatica* presentaron diferencias entre poblados y la raza ( $P<0.05$ ), a diferencia del grupo etario que fueron similares estadísticamente ( $P>0.05$ ). Se halló una alta prevalencia de huevos fecales de *F. hepatica* y *Calicophoron* spp., situación que podría estar dado por las condiciones ambientales que permiten el óptimo desarrollo del hospedador intermediario y del sistema de crianza al pastoreo de los vacunos.

**Palabras clave:** Prevalencia, Coprología, Crianza extensiva, Trematodo hepático, Trematodo ruminal.

Recibido: 23/06/2023

Aceptado: 01/09/2023

## Introducción

Las infecciones parasitarias se consideran uno de los problemas sanitarios más frecuentes e importantes en los animales de pastoreo. Los parásitos son un obstáculo para una ganadería rentable, ocasionan reducción de la producción y pérdidas económicas debido a los costes de control, tratamiento y mortalidad<sup>(1,2)</sup>.

La fasciolosis es una enfermedad de importancia veterinaria y en salud pública, se desarrolla a partir de la ingesta de metacercarias de *Fasciola hepatica* junto al alimento o agua de bebida<sup>(3,4)</sup>. El parásito se ubica en los conductos biliares y la vesícula biliar, causa hepatitis traumática grave durante las etapas migratoria y biliar, puede conducir a la pérdida de la función del hígado por el daño al parénquima hepático y a los conductos biliares que desencadena una fibrosis hepática<sup>(5,6)</sup>. En diversas regiones a nivel mundial se considera como una enfermedad reemergente y una amenaza creciente que aumenta principalmente por la rápida evolución de las actividades humanas<sup>(7-9)</sup>.

Por otro lado, la paramfistomosis, enfermedad causada por trematodos ruminales de la familia Paramphistomidae se ha asociado con una significativa morbilidad y severos trastornos patológicos como enteritis y anemia, especialmente por la actividad de trematodos juveniles en el intestino del hospedador definitivo, el rumiante<sup>(10,11)</sup>. En infecciones agudas las formas inmaduras pueden causar la muerte del animal<sup>(12)</sup>. Los parásitos adultos causan rumenitis, diarrea catarral aguda, hemorragia, desprendimiento de las papilas ruminales y fibrosis, además, de zonas con acantosis en retículo, edema, úlcera, etc.<sup>(13-15)</sup>. Al igual que en *F. hepatica*, los rumiantes se infectan al ingerir metacercarias enquistadas en los forrajes o el agua<sup>(16)</sup>.

Ambas parasitosis se encuentran distribuidas alrededor de todo el mundo, de manera principal en regiones tropicales y subtropicales<sup>(17,18)</sup>. Debido a que comparten el mismo hospedador intermediario (caracoles de la familia *Lymnaeidae*), las coinfecciones son posibles tanto en el hospedador intermediario como en el hospedador definitivo<sup>(19)</sup>. La presencia de estos parásitos se agudiza en condiciones favorables como suelos húmedos, precipitación pluvial alta, crianza en sistema extensivo, cuerpos de agua dulce que aloja al caracol<sup>(20,21)</sup>. Por otra parte, causan gran impacto económico negativo en la industria ganadera, afectan la tasa de crecimiento, eficiencia de la conversión alimenticia, rendimiento reproductivo, canales en malas condiciones, los animales experimentan reducciones en la producción y calidad de la leche<sup>(22-25)</sup>.

La falta de conocimiento sobre el adecuado control de los problemas de sanidad animal y el bajo nivel de educación de los ganaderos, en particular en los pequeños sistemas de producción, podrían explicar en parte la alta prevalencia de la fasciolosis bovina en ciertos escenarios<sup>(26)</sup>. Debido a los frecuentes reportes de hallazgos de parásitos en rumen e hígados en vacunos faenados para consumo humano, la importancia en la salud pública y los gastos económicos implicados en los tratamientos farmacológicos, el presente estudio determina la prevalencia de *F. hepatica* y *Calicophoron* spp. en bovinos de crianza en pastoreo de seis poblados del distrito Florida, región Amazonas (Perú). De esta manera se busca comprender y lograr un panorama más exacto de la presencia de ambos trematodos en bovinos del área de estudio con una consecuente toma de medidas preventivas y profilácticas.

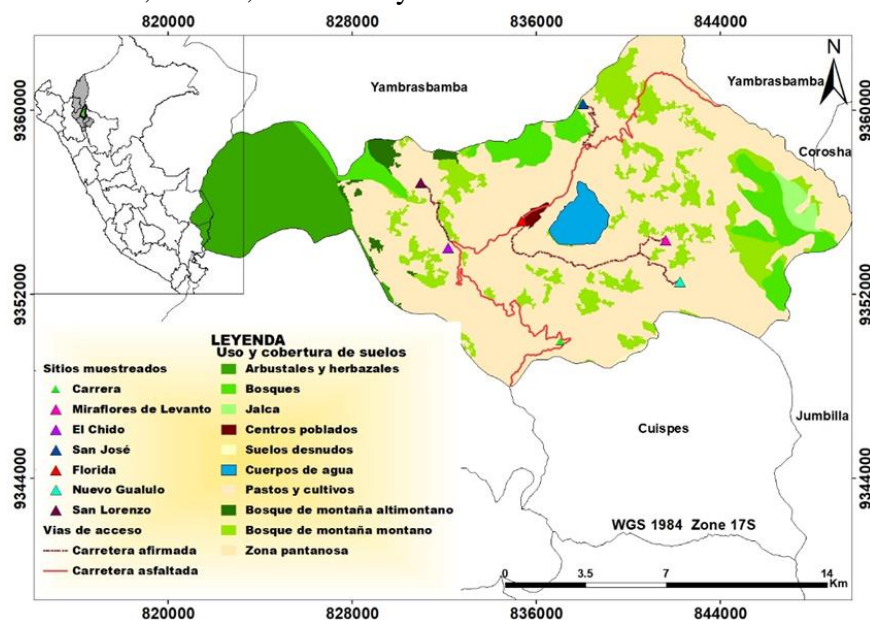
## Material y métodos

### Área de estudio

El estudio abarcó seis poblados del distrito de Florida (Figura 1), ubicados en la provincia de Bongará, región Amazonas, al Nororiente de la Amazonía del Perú. La zona de estudio presenta un clima húmedo tropical con lluvias frecuentes durante todo el año y una temperatura promedio anual de 16 °C.



**Figura 1:** Mapa de localización de los poblados de la zona de estudio. Los poblados se ubican entre 2,280 a 2,750 msnm y una humedad relativa de 70 hasta 95 %



### Selección de animales y toma de muestras de heces

El tamaño muestral ( $n= 358$ ) se estimó de una población de 5,200 vacunos (censo previo), proporción esperada de 0.5, nivel de confianza del 95% y una precisión del 5%. Un muestreo estratificado con asignación proporcional al número de bovinos determinó la cantidad de muestras a considerar por cada sector. Se consideraron hembras bovinas mayores a 2 años de edad y de cualquier raza. La identificación y edad se tomaron de los aretes. Los animales eran criados en sistemas de crianza extensiva, alimentados con rye grass (*Lolium multiflorum*), trébol (*Trifolium repens*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y otros pastos nativos (Figura 2).

**Figura 2:** Vacunos evaluados de la raza Brown Swiss criados en campo abierto alimentados con forraje verde



Las muestras de heces (aproximadamente 100 g) se recolectaron directamente del recto de los animales utilizando guantes obstétricos estériles. Cada animal fue sujetado por el propietario ayudado de una soga tratando de ocasionar el menor dolor posible, con las manos cubiertas con guantes de látex se lavó la región perianal con agua y jabón. Las muestras se transportaron al Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca en una caja de poliestireno expandido con geles refrigerantes (2 a 4 °C). El tiempo de traslado duró entre 8 a 10 h. En el Laboratorio se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su procesamiento después de 24 h. Se utilizaron materiales limpios y rotulados para evitar contaminación cruzada.

### **Análisis de las muestras**

Las muestras se procesaron mediante sedimentación natural<sup>(27)</sup>. Los huevos se observaron en estereoscopio con luz halogenada a 5X (Nikon SMZ 745 – USA) y la identificación se basó en las características morfológicas propias del huevo de cada parásito<sup>(28-31)</sup>.

### **Actitud de los ganaderos frente a los parásitos en los vacunos**

Según las observaciones realizadas durante el proceso de recolección de las muestras fecales, se constató que los ganaderos en las zonas evaluadas carecían de conocimientos acerca de mecanismos de prevención y control de trematodos en sus animales. No se identificaron medidas de control o prevención, tales como el manejo adecuado de las excretas, la gestión de bebederos, la implementación de sistemas de drenaje en los predios, la adopción de

prácticas de riego tecnificado, ni la ejecución de estrategias dirigidas al control del hospedador intermediario, entre otras. Además, no se obtuvo información coherente respecto a la existencia de programas de desparasitación; incluso, los ganaderos demostraron desconocimiento acerca de la presencia de trematodos ruminales en sus animales.

Según los ganaderos, en ocasiones realizan desparasitaciones con productos químicos a base de albendazol para el control de *F. hepatica*, conocido localmente como Fasciola, Alicuya, Linguash, Babosa, Distoma y Hoja de Coca. Este proceso se llevaba a cabo en temporada de lluvias (diciembre a abril) o cuando los animales presentaban diarrea persistente o mostraban signos de decaimiento, sin la supervisión de un profesional pecuario, y en ausencia de un diagnóstico parasitológico en laboratorio mediante observación de huevos fecales o algún otro método.

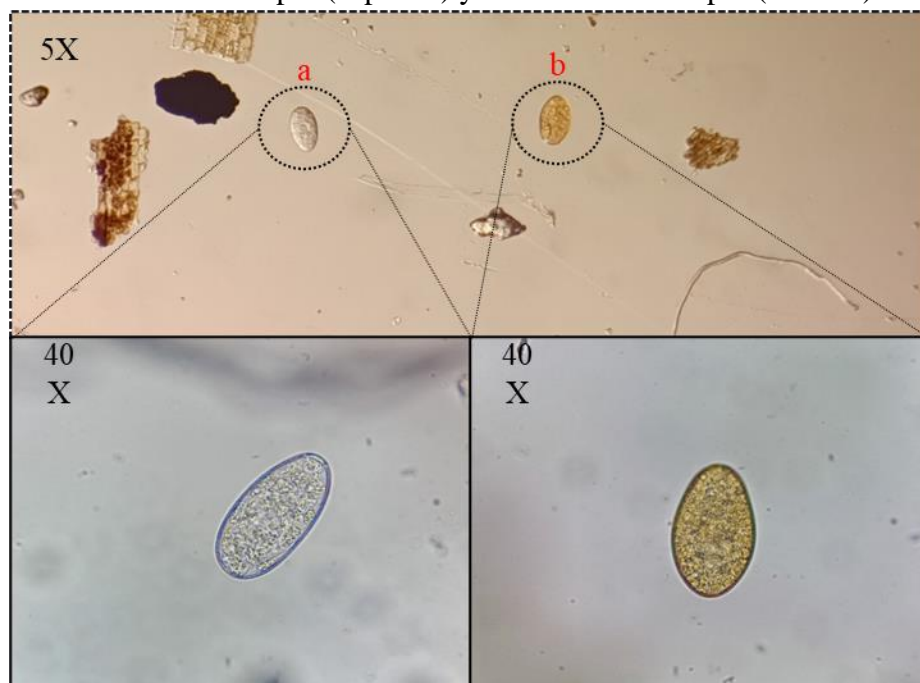
### **Análisis estadístico**

Los datos se procesaron mediante estadística descriptiva. Los casos positivos se expresaron en porcentajes con intervalos de confianza del 95%<sup>(32)</sup>. El grado de asociación entre la prevalencia por poblados, raza y grupo etario se determinó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Con la función de la correlación de Phi se determinó el grado de la relación lineal entre la prevalencia mixta de los trematodos.

### **Resultados**

En los seis poblados del distrito Florida se encontraron vacas de las razas Brown Swiss y Fleckvieh, comprendidas entre 2 a más de 6 años de edad, criados al pastoreo. Se observaron huevos de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. (Figura 3) en todos los poblados. Huevos de *F. hepatica* se observó en el 69.83 % (IC 95%: 65.08–74.59) de los animales, seguido de *Calicophoron* spp. 60.34 % (IC 95%: 55.27–65.40) y una prevalencia de infección mixta de 41.62 % (IC 95%: 36.51–46.73) (Cuadro 1).

**Figura 3:** Huevos de *Calicophoron* spp. (a) y *Fasciola hepatica* (b). Vista en estereomicroscopio (superior) y vista en microscopio (inferior)



## Discusión

El trematodo *Fasciola hepatica* superó por menos de una decena (9.12 %) a *Calicophoron* spp., con una prevalencia de infección mixta global de 41.16 % (IC 95% 36.09 – 46.23). La presencia de huevos de *F. hepatica* no tuvo diferencias entre los poblados, las razas y el grupo etario ( $P > 0.05$ ). La prevalencia de *Calicophoron* spp. y la infección mixta con *F. hepatica* presentaron diferencias entre sectores y la raza ( $P < 0.05$ ), a diferencia del grupo etario que fueron similares estadísticamente ( $P > 0.05$ ). La correlación de Phi mostró resultados variables de la asociación en la presentación de ambos parásitos en los animales.

La alta presencia de los huevos de los parásitos podría deberse al buen desarrollo del hospedador intermediario en condiciones ambientales óptimas, zonas húmedas y variedad de temperatura y pisos altitudinales, por ejemplo. Los lugares evaluados oscilan entre 11 a 20 °C y cuentan con una humedad relativa de 60 a 95 %. Dado que ambos trematodos comparten el mismo hospedador intermediario, moluscos pulmonados de agua dulce de la familia Lymnaeidae<sup>(33,34)</sup>, esta condición facilitaría su coinfección tanto en el hospedador intermediario y definitivo.

Las zonas en las que se realizó el muestreo se ubican entre los 1,300 y 2,750 msnm, rangos idóneos para el desarrollo de las parasitosis. Formas parasitarias de *F. hepatica* se han reportado incluso en hospedadores intermediarios por debajo de los 400 msnm<sup>(35)</sup> y hasta los

4,500 m<sup>(36)</sup>. Por su parte, *Calicophoron microbothrioides* se puede ubicar por debajo de los 200 m y también en zonas montañosas sobre los 3,000 m, donde existe disponibilidad de agua estancada para el ciclo de los hospedadores intermediarios, áreas usadas para la ganadería<sup>(37)</sup>.

El clima influye en la tasa de infección parasitaria del ganado<sup>(38,39)</sup>. Como se muestra en la Figura 1, la zona comprendida en el estudio abarca gran vegetación y cuerpos de agua, condiciones favorables al desarrollo del hospedador intermediario. En general la provincia presenta un clima húmedo tropical con lluvias frecuentes durante todo el año y una temperatura promedio anual de 16 °C. En una zona cercana al área de estudio, investigadores encontraron que las fuentes de agua, principalmente arroyos, acequias y ríos son factores de riesgo a *F. hepatica*<sup>(40)</sup>.

La raza de los bovinos se ha reportado como un factor de riesgo en diversos estudios. Las razas puras son más susceptibles de infección que las razas cruzadas<sup>(9)</sup>. En un estudio realizado en Amazonas (Perú) se determinó que la raza Brown Swiss es más susceptible a la infección por *F. hepatica* y otros parásitos<sup>(40)</sup>. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el tamaño muestral para esta raza fue mayor en comparación a otras razas dentro de su estudio. En la presente investigación se halló mayor prevalencia de trematodos en la raza Fleckvieh. A pesar de una evidente mayor cantidad de vacunos de la raza Brown Swiss (n= 203) frente a Fleckvieh (n= 155), las prevalencias fueron iguales estadísticamente, por lo que los resultados no consolidan a la raza como un factor de riesgo.

De manera similar, en otro estudio se reportó que la raza Simmental fue un factor de riesgo de infección por *F. hepatica* en comparación a vacunos Brown Swiss y otras razas<sup>(41)</sup>. A pesar que el tamaño muestral de la raza Simmental fue mayor (como en el presente estudio), los resultados fueron estadísticamente similares a los de Brown Swiss, solamente difirieron con las razas Jersey, Holstein y cruzado, aunque el tamaño de la muestra de estas razas fue muy bajo. Similares al presente estudio, diversos autores no han reportado resultados concluyentes en los que la raza sea un factor de riesgo, sino que la presencia de parásitos está influenciada por una mayor población de cierta raza en un determinado lugar<sup>(14,42,43)</sup>.

La edad del hospedador definitivo también se relaciona estrechamente con la infección<sup>(15)</sup>. Al igual que en otros reportes, la presencia de parásitos fue mayor en animales de mayor edad. La mayoría de autores muestran que la prevalencia de trematodos es mayor en animales mayores a 2.5 años<sup>(21,43,44)</sup>. Los trematodos del rumen no han mostrado alguna asociación entre la edad y su infección<sup>(14)</sup>. Los animales infectados tienen un límite de edad para infectarse, ya que el ciclo biológico de los Paramphistomidae dura por lo menos de 6 a 8 meses<sup>(9)</sup>, por lo que los animales de 12 a 24 meses de edad pueden tener mayor riesgo de infección. Además, los animales se crían en condiciones de pastoreo desde el nacimiento hasta su salida del hatu ganadero.

Diversas investigaciones han indicado que la crianza extensiva representa un factor de infección por parásitos<sup>(40,43)</sup>. Los bovinos explotados en regímenes extensivos o semiextensivos en los que el acceso al pasto se produce durante casi todo el año a lo largo de la vida del animal tienen mayor predisposición frente a los animales explotados en sistemas intensivos o semiintensivos<sup>(45)</sup>.

La alta prevalencia de *F. hepatica* en bovinos se ha reportado dentro de la misma región del Amazonas, prevalencias de 45.6 %<sup>(40)</sup> y 59.5 %<sup>(41)</sup>. En otras regiones del Perú también se ha descrito la presencia de trematodos en el ganado. En tres distritos de la provincia de Oxapampa (Pasco - Perú), mediante sedimentación rápida, de 408 muestras de ganado lechero, se halló una prevalencia del  $10.0 \pm 2.9$  % de *F. hepatica* y  $28.4 \pm 4.4$  % de un digeneo de la familia Paramphistomidae<sup>(46)</sup>.

Aunque los estudios sobre los trematodos ruminales en bovinos en Perú son pocos, se ha reportado en Amazonas a *C. microbothrioides*<sup>(31)</sup>. En la región Loreto (selva peruana) se identificaron huevos de trematodos de la familia Paramphistomidae<sup>(47)</sup>. En San Martín (región de la selva peruana) se ha reportado *Cotylophoron* sp. en bovinos<sup>(48)</sup>. Ambos parásitos se han identificado en diversos lugares del planeta. En América del Sur, se ha descrito a *Cotylophoron cotylophorum* en Colombia<sup>(49)</sup>, *Cotylophoron marajoensis* n. sp. en Brazil<sup>(49)</sup> y *C. microbothrioides* en Chile<sup>(37)</sup>. Así como en el continente americano, se ha reportado la presencia de ambos trematodos en países europeos<sup>(50,51,52)</sup>, africanos<sup>(34,26,38)</sup>, asiáticos<sup>(53)</sup>, etc. Estas regiones cuentan con condiciones similares a los del presente estudio, crianza extensiva, condiciones climatológicas, la edad, la raza, etc., como factores de riesgo. El cambio climático y la globalización contribuye a la distribución de los parásitos en un territorio donde el hospedador intermediario haya logrado su adaptación<sup>(19)</sup>.

Debido a la elevada prevalencia de huevos de trematodos identificados en las áreas objeto de muestreo, se plantea que esta situación puede atribuirse a las condiciones de crianza de los bovinos, los cuales carecen de programas formales de control y prevención de parasitosis. A pesar de la eventual utilización de albendazol para el manejo de *F. hepatica*, no se han reportado estudios locales de eficacia antiparasitaria de bases químicas.

## Conclusiones e implicaciones

Se halló una alta prevalencia de huevos fecales de *Fasciola hepatica* y *Calicophoron* spp. Las condiciones climatológicas y geográficas, además del sistema de crianza al pastoreo y la ausencia de programas de control y prevención predispondrían la elevada presencia de ambos trematodos. Sin embargo, se requieren mayores estudios en los que se evalúen los sistemas de drenaje, prácticas de manejo de potreros y bebederos en el control y prevención de

trematodos, así como evaluaciones de resistencia antiparasitaria y estudios integrales desde un enfoque de Una Salud.

### Fuentes de financiamiento

El trabajo fue financiado por el programa de becas y cofinanciamiento del CONCYTEC, CIENCIACTIVA del Ministerio de Educación del Perú (Conv-191-2015-Fondecyt). M.C.-R- agradece al CONCYTEC por el financiamiento. Al Dr. Rodrigo Sanabria, investigador de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP – Argentina por la orientación y direccionamiento en la presente investigación.

### Conflicto de interés

Los autores declaran no tener algún tipo de conflicto de interés que haya interferido en los resultados de la presente investigación.

### Literatura citada:

1. Kumar N, Rao TKS, Varghese A, Rathor VS. Internal parasite management in grazing livestock. *J Parasit Dis* 2013;37:151-157. <https://doi.org/10.1007%2Fs12639-012-0215-z>.
2. Rashid M, Rashid MI, Akbar H, Ahmad L, Hassan MA, Asraf K, *et al*. A systematic review on modelling approaches for economic losses studies caused by parasites and their associated diseases in cattle. *Parasitol* 2019;146(2):129-141. <https://doi.org/10.1017/s0031182018001282>.
3. Hussein A-NA, Hassan IM, Khalifa RMA. Description of eggs and larval stages of fasciola, light and scanning electron microscopic studies. *J Parasitol Res* 2010;5(1):1-12. <https://dx.doi.org/10.3923/jp.2010.1.12>.
4. Zaraei M, Arefkhah N, Moshfe A, Ghorbani F, Mikaeili F, Sarkari B. Prevalence of bovine fascioliasis in a new-emerging focus of human fascioliasis in BoyerAhmad district, southwest of Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2019;66:101350. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101350>.
5. Kowalczyk SJ, Czopowicz M, Weber CN, Müller E, Kaba J. Accuracy of a diagnostic model based on serum biochemical parameters in detecting cows at an increased risk of chronic fascioliasis. *Vet Parasitol* 2018;254:15-20. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.038>.

6. Pérez-Caballero R, Siles-Lucas M, González-Miguel J, Martínez-Moreno FJ, Escamilla A. Pathological, immunological and parasitological study of sheep vaccinated with the recombinant protein 14-3-3z and experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet Immunol Immunopathol* 2018;202:115-121. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.07.006>.
7. Orbegozo-Medina RA, Martínez-Sernández V, González-Warleta M, Castro-Hermida JA, Mezo M, Ubeira FM. Vaccination of sheep with Quil-A® adjuvant expands the antibody repertoire to the Fasciola MF6p/FhHDM-1 antigen and administered together impair the growth and antigen release of flukes. *Vaccine* 2018;36(15):1949-1957. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.115>.
8. Sabourin E, Alda P, Vázquez A, Hurtrez-Boussès S, Vittecoq M. Impact of human activities on fasciolosis transmission. *Trends Parasitol* 2018;34(10):891-903. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.08.004>.
9. Pinilla JC, Flores AA, Delgado N. Prevalence and risk factors associated with liver fluke *Fasciola hepatica* in cattle and sheep in three municipalities in the Colombian Northeastern Mountains. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2020;19:100364. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100364>.
10. Zintl A, Garcia-Campos A, Trudgett A, Chryssafidis AL, Talavera-Arce S, Fu Y, *et al*. Bovine paramphistomes in Ireland. *Vet Parasitol* 2014;204(3-4):199-208. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.05.024>.
11. Giraldo J, Díaz A, Pulido M. Prevalencia de *Fasciola hepatica* en bovinos sacrificados en la planta de beneficio del municipio de Une, Cundinamarca, Colombia. *Rev Inv Vet Perú* 2016;27(4):751-757. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v27i4.12572>.
12. Jyoti L, Prasad A, Singh N. Evaluation of antibody response to various developmental stage specific somatic antigens of *Calicophoron epiclitum* in goats. *Biomed Res Int* 2014;2014: 505484. <http://doi.org/10.1155/2014/505484>.
13. Sanabria REF, Romero JR. Review and update of paramphistomosis. *Helminthologia* 2008;45(2):64-68. <https://doi.org/10.2478/s11687-008-0012-5>.
14. Arias M, Lomba C, Dacal V, Vázquez L, Pedreira J, Francisco I, *et al*. Prevalence of mixed trematode infections in an abattoir receiving cattle from northern Portugal and north-west Spain. *Vet Rec* 2011;168(15):408. <http://doi.org/10.1136/vr.d85>.



15. Fuertes M, Pérez V, Benavides J, González-Lanza MC, Mezo M, González-Warleta M, *et al.* Pathological changes in cattle naturally infected by *Calicophoron daubneyi* adult flukes. *Vet Parasitol* 2015;209:188-196. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.034>.
16. Sanchís J, Sanchez-Andrade R, Macchi MI, Pineiro P, Suarez JL, Cazapal-Monteiro C, *et al.* Infection by *Paramphistomidae* trematodes in cattle from two agricultural regions in NW Uruguay and NW Spain. *Vet Parasitol* 2013;191(1-2):165-171. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.07.028>.
17. Eduardo SL. The taxonomy of the family *Paramphistomidae* Fischöeder, 1901 with special reference to the morphology of species occurring in ruminants. III. Revision of the genus *Calicophoron* Näsmark, 1937. *Syst Parasitol* 1983;5(1):25-79. <https://doi.org/10.1007/BF00010983>.
18. Saijuntha W, Tantrawatpan C, Agatsuma T, Wang C, Intapan PM, Maleewong W, *et al.* Revealing genetic hybridization and DNA recombination of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in nuclear introns of the hybrid Fasciola flukes. *Mol Biochem Parasitol* 2018;223:31-36. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2018.06.004>.
19. Jones RA, Williams HW, Dalesman S, Brophy PM. Confirmation of *Galba truncatula* as an intermediate host snail for *Calicophoron daubneyi* in Great Britain, with evidence of alternative snail species hosting *Fasciola hepatica*. *Parasit Vectors* 2015;8:656. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1271-x>.
20. Jiménez-Rocha AE, Argüello-Vargas S, Romero-Zuñiga JJ, Sequeira-Avalos JA, Dolz G, Montenegro-Hidalgo V, *et al.* Environmental factors associated with *Dictyocaulus viviparus* and *Fasciola hepatica* prevalence in dairy herds from Costa Rica. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* 2017;9:115-121. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.06.006>.
21. Isah UM. Studies on the prevalence of fascioliasis among ruminant animals in northern Bauchi state, north-eastern Nigeria. *Parasite Epidemiol Control* 2019;3:e00090. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.parepi.2019.e00090>.
22. Howell A, Baylis M, Smith R, Pinchbeck G, Williams D. Epidemiology and impact of *Fasciola hepatica* exposure in high-yielding dairy herds. *Prev Vet Med* 2015;121(1-2):41-48. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.prevetmed.2015.05.013>.
23. León-Gallardo ZE, Benítez L. Fasciolosis, prevalencia y pérdidas económicas en *Bos taurus*. *SCIÉENDO* 2018;21(4):421-429. <https://doi.org/10.17268/sciendo.2018.047>.

24. da Costa RA, Corbellini LG, Castro-Janer E, Riet-Correa F. Evaluation of losses in carcasses of cattle naturally infected with *Fasciola hepatica*: effects on weight by age range and on carcass quality parameters. *Int J Parasitol* 2019;49(11):867-872. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.06.005>.
25. Kelley JM, Rathinasamy V, Elliott TP, Rawlin G, Beddoe T, Stevenson MA, *et al.* Determination of the prevalence and intensity of *Fasciola hepatica* infection in dairy cattle from six irrigation regions of Victoria, South-eastern Australia, further identifying significant triclabendazole resistance on three properties. *Vet Parasitol* 2020;277:109019. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.109019>.
26. El Damaty HM, Mahmmud YS, Gouda SM, Sobhy NM. Epidemiological and ultrasonographic investigation of bovine fascioliasis in smallholder production system in Eastern Nile Delta of Egypt. *Prev Vet Med* 2018;158:35-42. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.07.009>.
27. Dennis WR, Stone WM, Swanson LE. A new laboratory and field diagnostic test for fluke ova in feces. *J Am Vet Med Assoc* 1954;124(922):47-50.
28. Dube S, Obiamiwe BA, Aisein MSO. Descriptive studies of the genus *Calicophoron* Fiscoeder, 1901 in some Nigerian cattle. *Discov Innov* 2005;17(3-4):186-192.
29. Valero MA, Perez-Crespo I, Periago V, Khoubbane M, Mas-Coma S. Fluke egg characteristics for the diagnosis of human and animal fascioliasis by *Fasciola hepatica* and *F. gigantica*. *Acta Trop* 2009;111(2):150-159. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.04.005>.
30. Graham-Brown J, Williams DJL, Skuce P, Zadoks RN, Dawes S, Swales H, *et al.* Composite *Fasciola hepatica* faecal egg sedimentation test for cattle. *Vet Rec* 2019;184(19):589. <https://doi.org/10.1136/vr.105128>.
31. Cueva-Rodríguez M, Torrel S, Mejía F, Vargas-Rocha L. Morphometry of fresh paramphistomids (Trematoda: Digenea) collected from local abattoir in Chachapoyas, Amazonas, Peru. *Rev Inv Vet Perú* 2022;33(5): e21994. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i5.21994>.
32. Thelwall M. Confidence intervals for normalised citation counts: Can they delimit underlying research capability? *J Informetr* 2017;11(4):1069-1079. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.09.002>.

33. Dinnik JA. *Calicophoron daubneyi* sp. nov. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands. Parasitol 1962;52(1-2):143-151. <https://doi.org/10.1017/S0031182000024070>.
34. Mahulu A, Clewing C, Stelbrink B, Chibwana FD, Tumwebaze I, Stothard JR, *et al.* Cryptic intermediate snail host of the liver fluke *Fasciola hepatica* in Africa. Parasit Vectors 2019;12:573. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3825-9>.
35. Vignoles P, Rondelaud D, Dreyfuss G. Determination of zones at risk for fasciolosis in the department of Haute-Vienne, central France: a retrospective study on natural infections detected in 108,481 *Galba truncatula* for 37 years. Parasite 2017;24:55. <https://doi.org/10.1051/parasite/2017055>.
36. Londoño P, Chávez A, Li O, Suárez F, Pezo D. Presence of Lymnaeidae snails with larvae of *F. hepatica* in altitudes over 4000 m above sea level in the southern highlands of Peru. Rev Inv Vet Perú 2009;20(1):58-65. <https://doi.org/10.15381/rivep.v20i1.533>.
37. Cerda C, Veloso-Frías J, Lobos-Chávez F, Oyarzún-Ruiz P, Henríquez A, Loyola M, *et al.* Morphological and molecular identification with frequency analysis of *Calicophoron microbothrioides* in central Chile. Braz J Vet Parasitol 2019;28(4):582-591. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019076>.
38. Titi, A. Mekroud, A. Sedraoui, S. Vignoles, P. Rondelaud, D. Prevalence and intensity of *Calicophoron daubneyi* infections in cattle from north-eastern Algeria. J Helminthol 2009;84(2):177-181. <https://doi.org/10.1017/S0022149X09990502>.
39. Hernández-Guzmán K, Molina-Mendoza P, Olivares-Pérez J, Alcalá-Canto Y, Olmedo-Juárez A, Córdova-Izquierdo A, *et al.* Prevalence and seasonal variation of *Fasciola hepatica* in slaughtered cattle: the role of climate and environmental factors in Mexico. J Helminthol 2021;95:eE46. <https://doi.org/10.1017/S0022149X21000444>.
40. Frias H, Maraví C, Arista-Ruiz MA, Yari-Briones DI, Paredes-Valderrama JR, Rojas Y, *et al.* Prevalence, coinfection, and risk factors associated with *Fasciola hepatica* and other gastrointestinal parasites in cattle from the Peruvian Amazon. Vet World 2023;16(3):546-553. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.546-553>.
41. Julon D, Puicón V, Chávez A, Bardales W, Gonzales J, Vásquez H, *et al.* Prevalence of *Fasciola hepatica* and gastrointestinal parasites in bovine of the Amazonas Region, Perú. Rev Inv Vet Perú 2020;31(1):e17560. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17560>.
42. Ferreras MC, Gonzalez-Lanza C, Perez V, Fuertes M, Benavides J, Mezo M, *et al.* *Calicophoron daubneyi* (Paramphistomidae) in slaughtered cattle in Castilla y León (Spain). Vet Parasitol 2014;199:268-271. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.10.019>.

43. Forstmaier T, Knubben-Schweizer G, Strube C, Zablotzki Y, Wenzel C. Rumen (*Calicophoron/Calicophoron* spp.) and Liver Flukes (*Fasciola hepatica*) in cattle-prevalence, distribution, and impact of management factors in Germany. *Animals* 2021;11(9):2727. <https://doi.org/10.3390/ani11092727>.
44. Bellet C, Green MJ, Vickers M, Forbes A, Berry E, Kaler J. *Ostertagia* spp., rumen fluke and liver fluke single- and poly-infections in cattle: An abattoir study of prevalence and production impacts in England and Wales. *Prev Vet Med* 2016;132:98-106. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.08.010>.
45. González-Warleta M, Lladosa S, Castro-Hermida JA, Martínez-Ibeas AM, Conesa D, Muñoz F, *et al.* Bovine paramphistomosis in Galicia (Spain): Prevalence, intensity, aetiology and geospatial distribution of the infection. *J Vet Parasitol* 2013;191(3-4):252-263. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.006>.
46. Paucar S, Chávez A, Casas E, Suárez F. Prevalence of fascioliasis and paramphistomiasis in dairy cattle in Oxapampa, Pasco. *Rev Inv Vet Perú* 2010;21(1):87-92. <https://doi.org/10.15381/rivep.v21i1.314>.
47. Pinedo R, Chávez A, Casas E, Suárez F, Sánchez N, Huamán H. Prevalence of trematodes of the Paramphistomatidae Family in cattle of Yurimaguas district, province of Alto Amazonas, Loreto. *Rev Inv Vet Perú* 2010;21(2):161-167. <https://doi.org/10.15381/rivep.v21i2.132>.
48. Rojas K, Serrano-Martínez E, Tantaleán M, Casas C, Quispe M. Presence of *Cotylophoron* sp in bovine of the Province of Moyobamba, Peru. *Rev Inv Vet Perú* 2015;26(3):519-524. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11179>.
49. Alarcón EP, Velásquez LE. 2009. Morphological description of *Cotylophoron cotylophorum* (Digenea: Paramphistomidae) in cattle from Rionegro, Antioquia, Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2009;22(2):168-77. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.324383>.
50. Amaral VS, Sousa DF, Benigno RNM, Pinheiro RHS, Gonçalves EC, Giese EG. 2020. *Cotylophoron marajoensis* n. sp. (Digenea: Paramphistomidae) a parasite of *Bubalus bubalis* on Marajó Island, Pará, Brazilian Amazon. *Braz J Vet Parasitol* 2020;29(4):e018320. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020101>.
51. Sanna G, Varcasia A, Serra S, Salis F, Sanabria R, Pipia P, *et al.* *Calicophoron daubneyi* in sheep and cattle of Sardinia, Italy. *Helminthologia*, 2016;53(1):87-93. <https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0069>.

52. Huson KM, Oliver NAM, Robinson MW. Paramphistomosis of ruminants: An emerging parasitic disease in Europe. *Trends Parasitol* 2017;33(11):836-844. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.07.002>.
53. Hajipour N, Mirshekar F, Hajibemani A, Ghorani M. Prevalence and risk factors associated with amphistome parasites in cattle in Iran. *Vet Med Sci* 2021;7(1):105-111. <https://doi.org/10.1002%2Fvms3.330>.

**Cuadro 1:** Prevalencia (%) de los trematodos hallados en vacunos de crianza al pastoreo del distrito de Florida, Amazonas (Perú)

Variable	Categoría	No	<i>Fasciola hepatica</i>		<i>Calicophoron spp.</i>		Asociación		Coeficiente Phi
			Positivos	% (IC95%)	Positivos	% (IC95%)	Positivos	% (IC95%)	
Poblado	El Chido	41	26	63.41 (48.67 - 78.16) <sup>a</sup>	19	46.34 (31.08 - 61.61) <sup>a</sup>	11	26.83 (13.27 - 40.39) <sup>a</sup>	-0.106
	Florida	145	96	66.21 (58.51 - 73.91) <sup>a</sup>	100	68.97 (61.44 - 76.50) <sup>b</sup>	67	46.21 (38.09 - 54.32) <sup>ab</sup>	0.025
	Miraflores de Levanto	41	30	73.17 (59.61 - 86.73) <sup>a</sup>	27	65.85 (51.34 - 80.37) <sup>ab</sup>	18	43.90 (28.71 - 59.09) <sup>ab</sup>	-0.204
	Nuevo Gualulo	58	45	77.59 (66.85 - 88.32) <sup>a</sup>	42	72.41 (60.91 - 83.92) <sup>b</sup>	32	55.17 (42.37 - 67.97) <sup>b</sup>	-0.054
	San José	15	13	86.67 (69.46 - 100) <sup>a</sup>	5	33.33 (9.48 - 57.19) <sup>a</sup>	5	33.33 (9.48 - 57.19) <sup>ab</sup>	0.277
	San Lorenzo	58	40	68.97 (57.06 - 80.87) <sup>a</sup>	23	39.66 (27.07 - 52.24) <sup>a</sup>	16	27.59 (16.08 - 39.09) <sup>a</sup>	0.011
	<i>Valor p</i>			0.347		<0.001		0.013	
Raza	Brown Swiss	203	141	69.46 (63.12 - 75.79) <sup>a</sup>	142	69.95 (63.64 - 76.26) <sup>b</sup>	99	48.77 (41.89 - 55.64) <sup>b</sup>	0.009
	Fleckvieh	155	109	70.32 (63.13 - 77.51) <sup>a</sup>	74	47.74 (39.88 - 55.61) <sup>a</sup>	50	32.26 (24.90 - 39.62) <sup>a</sup>	-0.058
	<i>Valor p</i>			0.860		<0.001		0.002	
Grupo etario	2 - 4 años	244	167	68.44 (62.61 - 74.27) <sup>a</sup>	148	60.66 (54.53 - 66.79) <sup>a</sup>	101	41.39 (35.21 - 47.57) <sup>a</sup>	0.007
	> 4 - 6 años	72	52	72.22 (61.88 - 82.57) <sup>a</sup>	41	56.94 (45.51 - 68.38) <sup>a</sup>	27	37.50 (26.32 - 48.68) <sup>a</sup>	-0.073
	> 6 años	42	31	73.81 (60.51 - 87.11) <sup>a</sup>	27	64.29 (49.79 - 78.78) <sup>a</sup>	21	50.00 (34.88 - 65.12) <sup>a</sup>	-0.137
	<i>Valor p</i>			0.693		0.192		0.424	
Total		358	250	69.83% (65.08 - 74.59)	216	60.34 (55.27 - 65.40)	149	41.62 (36.51 - 46.73)	

<sup>ab</sup> Para cada variable las letras diferentes entre sus niveles son diferencias significativas, en cada factor (Kruskall-Wallis,  $P < 0.05$ ).

**Influencia del espacio vital del corral de engorda en las variables de producción, rasgos de calidad de la canal y la carne en novillos Holstein**



Ana Mireya Romo-Valdez <sup>a</sup>

Cristina Pérez-Linares <sup>a\*</sup>

Francisco Gerardo Ríos-Rincón <sup>b</sup>

Fernando Figueroa-Saavedra <sup>a</sup>

Alberto Barreras-Serrano <sup>a</sup>

Beatriz Isabel Castro-Pérez <sup>b</sup>

Eduardo Sánchez-López <sup>a</sup>

Georgina Valentina Cervantes Cazarez <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Domicilio Conocido, Km 3.5 Carretera a San Felipe, Fraccionamiento Campestre, 21386, Mexicali, B.C., México.

<sup>b</sup> Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Culiacán, Sinaloa, México.

\*Autor de correspondencia: [cristina.perez@uabc.edu.mx](mailto:cristina.perez@uabc.edu.mx)

**Resumen:**

Se determinó cómo la cantidad de espacio vital asignado en el corral de engorda, influye tanto en los indicadores de producción como en los rasgos de calidad de la canal y la carne obtenidas de novillos Holstein mediante la formación de dos grupos de tratamiento, T14: 65 novillos/corral (14 m<sup>2</sup>/cabeza de espacio permitido) y T16: 57 novillos/corral (16 m<sup>2</sup>/cabeza de espacio permitido), con cinco repeticiones en cada tratamiento. El peso promedio de llegada fue de 238 ± 0.74 kg. Durante el período de engorda el ganado se alimentó dos veces al día con dietas comerciales. Los novillos se sacrificaron después de

un período de 261 días. En el momento del primer reimplante se encontró un mayor peso corporal promedio en T16 vs T14 (384.25 vs 378.38 kg;  $P<0.05$ ) y la diferencia se mantuvo hasta el día 261 (612.35 vs 595.54 kg;  $P<0.05$ ); en cuanto a la GDP, el peso de la canal caliente y el peso de la canal fría, los resultados fueron: 1.50 vs 1.46 kg ( $P<0.05$ ), de GDP kg/día; 367.34 vs 360.35 kg ( $P<0.05$ ) y 366.68 vs 358.78 kg ( $P<0.05$ ). No se encontraron diferencias entre los tratamientos en la grasa dorsal, el marmoleado, el pH y el color de la carne. Los resultados sugieren que un aumento de 14 m<sup>2</sup>/animal a 16 m<sup>2</sup>/animal mejora los resultados productivos, así como el peso de la canal caliente y fría, sin afectar a los rasgos de calidad de la canal y la carne.

**Palabras clave:** Espacio vital, novillos Holstein, Corral de engorda, Canales, Calidad de la carne.

Recibido: 24/06/2023

Aceptado: 07/08/2023

## Introducción

Durante su estadía en el corral, el ganado de carne requiere suficiente espacio para expresar su comportamiento natural<sup>(1)</sup>. De acuerdo con Lagos *et al*<sup>(2)</sup> es necesario proporcionar al menos 18.5 m<sup>2</sup>/cabeza para asegurar las condiciones ideales de espacio para cada animal, sin embargo, en caso de que durante el período de engorda aumente, se recomienda que se proporcione espacio adicional en función del incremento de peso corporal, para ganado con un peso de hasta 300 kg, el espacio recomendado es de 15 m<sup>2</sup>/cabeza, para ganado con peso superior a 400 kg se sugiere un área de 20 m<sup>2</sup>. En México, el manual de buenas prácticas para la producción intensiva de ganado de carne publicado por la Secretaría de Agricultura (SAGARPA)<sup>(3)</sup> estima que un espacio entre 12 y 12.5 m<sup>2</sup>/animal es suficiente para que el ganado muestre su comportamiento natural.

Los terneros Holstein se han convertido en un insumo importante para la producción de carne en corrales de engorda<sup>(4)</sup>, de modo que representa el 20 % de la cantidad total de ganado engordado en los Estados Unidos de América<sup>(5)</sup>, una situación similar se observa ahora en el norte de México. Los novillos Holstein ofrecen ciertas ventajas, ya que muestran rasgos deseables de la canal, como una distribución superior de la grasa intramuscular y un mejor ancho de la grasa dorsal<sup>(6)</sup>. Se ha reportado que el ganado Holstein adulto engordado en corrales de engorda exhibe un comportamiento impredecible y agresivo<sup>(7)</sup>, y por esta razón, esta raza de ganado requiere una mayor cantidad de espacio que las razas productoras de carne. Otro dato para tener en cuenta es que el ganado Holstein es cada vez más frecuente, por lo que la condición del suelo en los corrales no es buena<sup>(8,9)</sup>. Teniendo en cuenta lo anterior, un aumento del espacio vital del corral de engorda por animal tendría un impacto positivo en el bienestar del ganado y, por lo tanto, en mejores resultados de producción de carne<sup>(10)</sup>.



El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto que el espacio del corral tiene sobre las variables de producción, así como sobre los rasgos de calidad de la canal y la carne obtenidas de novillos Holstein.

## **Material y métodos**

Este estudio fue revisado y aprobado por el comité de ética del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, con el proyecto número 201/2399.

### **Ubicación geográfica**

Este estudio se llevó a cabo en Mexicali, México, que se encuentra a 32° 32'00 N, 115° 12'41 O. La región se caracteriza por un clima seco desértico con una temperatura promedio de 34.7 °C (-5 °C en invierno y 50 °C en verano), con una precipitación anual de 37 mm y una humedad relativa superior al 50 %<sup>(11)</sup>.

### **Animales y diseño del estudio**

El estudio se realizó utilizando terneros Holstein castrados entre las edades de 7 y 8 meses, con un peso promedio de 238 ± 0.74 kg. Veinticuatro horas después de la llegada del ganado al corral de engorda, se les vacunó, se les desparasitó y se les implantó un producto que contenía acetato de trembolona, estradiol y tilosina. A su llegada durante la primavera (abril-junio), los animales se asignaron a uno de dos grupos para que se pudieran establecer dos tratamientos. Cada tratamiento incluyó cinco corrales. El primer tratamiento incluyó 65 novillos Holstein, en este caso cada animal tuvo un espacio permitido de 14 m<sup>2</sup>/animal (T14), en el segundo tratamiento se asignaron 16 m<sup>2</sup>/animal (T16) a cada uno de los 57 novillos Holstein. El ganado se alimentó dos veces al día utilizando un programa de alimentación que incluyó tres dietas diferentes administradas durante los períodos de engorda y finalización. En diferentes proporciones los ingredientes de todas las dietas fueron: pasto Sudán, heno de trigo, sebo, granos secos de destilería (GSD) y una premezcla de minerales.

Después de un período de 261 días de engorda los novillos se sacrificaron, el peso promedio del grupo fue de 604 ± 5.67 kg. El día del sacrificio de los novillos fueron transportados 36 km en camión hasta el rastro donde fueron puestos en corrales de espera durante 3.5 h, durante este tiempo solo se les proporcionó agua. Los novillos se sacrificaron en un rastro Tipo Inspección Federal (TIF) siguiendo el procedimiento descrito en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, "Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres".

## Comportamiento de la producción

De los registros de la empresa se obtuvieron los siguientes resultados de producción: peso inicial, peso después del primer reimplante, peso después del segundo reimplante, peso final, ganancia diaria promedio (GDP) y conversión alimenticia. Cada uno de los pesos de sacrificio de los animales se obtuvo en la caja de aturdimiento.

## Evaluación de la canal y la carne

Las canales de ambos tratamientos se enfriaron a 2 °C durante 24 h y se cortaron entre las costillas 12 y 13 para recopilar datos adicionales de la canal. Un total de 178 canales de T14 y 176 canales de T16 estuvieron disponibles por el rastro para ser consideradas para el estudio de todas las variables. Se tomaron las medidas de peso de la canal caliente (PCC) y peso de la canal fría (PCF), grasa dorsal, marmoleado, área del ojo de la costilla, pH y color de cada canal. La grasa dorsal se midió en mm utilizando una regla métrica. El área del ojo de la costilla se evaluó utilizando el método de cuadrícula plástica sugerido por la Universidad Estatal de Iowa y la puntuación de marmoleado (escala de ligero; pequeño; modesto; moderado; ligeramente abundante; moderadamente abundante), ambos se evaluaron siguiendo la metodología descrita por AMSA<sup>(12)</sup>. El pH se determinó utilizando un potenciómetro (HANNAH INSTRUMENTS Inc. pH 101), los valores de color (L\*, a\*, b\*, C\*, H\*) se midieron en la superficie del corte del músculo *Longissimus dorsi* entre el duodécimo y decimotercer espacio intercostal utilizando un espectrofotómetro MINOLTA CM-2002 (Minolta camera, Co., Ltd., Japón) con un componente especular incluido (SCI, por sus siglas en inglés), un iluminador D65 y un observador de 10°, donde L\* es el índice de luminosidad, a\* es la intensidad del color rojo y b\* es la intensidad del color amarillo y C\* mide la saturación del color.

## Análisis estadístico

Los datos productivos se analizaron utilizando el siguiente modelo lineal estadístico  $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$ , donde  $Y_{ij}$  es la variable de respuesta,  $\mu$  es el efecto de la media verdadera,  $\tau_i$  es el efecto fijo del tratamiento,  $\beta_j$  es el efecto fijo del corral y  $\varepsilon_{ij}$  es el error residual aleatorio iid  $N(0, \sigma_e^2)$ . La hipótesis de que los efectos del tratamiento no difieren se evaluó mediante el estadístico de prueba F en el ANOVA. Se declararon diferencias entre tratamientos cuando  $P \leq 0.05$ .

Los datos de calidad de la canal y de la carne se analizaron como un diseño de bloques completos al azar con muestreo, con el corral como unidad experimental y la canal como unidad observacional. El modelo lineal estadístico fue el siguiente:  $Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} + \delta_{ijk}$ , donde  $Y_{ijk}$  es la variable de respuesta,  $\mu$  es el efecto de la media verdadera,  $\tau_i$  es el efecto fijo del tratamiento,  $\beta_j$  es el efecto fijo del corral,  $\varepsilon_{ij}$  es el error residual aleatorio iid  $N(0, \sigma_e^2)$  y  $\delta_{ijk}$  es el error de muestreo aleatorio iid  $N(0, \sigma_a^2)$ . La hipótesis

de que los efectos del tratamiento no difieren se evaluó utilizando un estadístico de prueba F en el ANOVA. Se declararon diferencias entre tratamientos cuando  $P \leq 0.05$ .

La hipótesis de que los efectos del tratamiento no difieren para las proporciones dentro de cada clase de marmoleado se evaluó utilizando un estadístico de prueba de Ji-cuadrada en una tabla de frecuencias. Se declararon diferencias entre tratamientos cuando  $P \leq 0.05$ . El análisis se realizó mediante los procedimientos MIXED y FREQ del paquete estadístico SAS 9.4 (TS1M7).

## Resultados y discusión

### Resultados de producción

Un hallazgo relevante de este estudio fue que los novillos con mayor espacio de corral tuvieron un mayor peso durante todo el período de engorda; estos resultados se presentan en el Cuadro 1 y muestran que después de recibir el primer reimplante (día 94 después de la llegada al corral de engorda), los novillos de T16 mostraron un peso promedio mayor en comparación con los animales de T14 ( $P < 0.05$ ); este mismo resultado se observó después del segundo reimplante y durante todo el período de engorda ( $P < 0.05$ ); la diferencia de peso observada entre los grupos fue del 16 %. Resultados similares en cuanto a las diferencias de peso han sido reportados por otros autores<sup>(13)</sup>, quienes encontraron un mayor peso final en los novillos Hanwoo cuando se les proporcionó un mayor espacio de corral.

**Cuadro 1:** Valores medios de peso de novillos Holstein  $\pm$  EEM por tratamiento

Variable	Tratamiento		EEM	Pr>F
	14 m <sup>2</sup>	16 m <sup>2</sup>		
Peso inicial, kg	238.57	237.62	0.74	0.2000
Peso al 1. <sup>er</sup> reimplante, kg	378.38 <sup>b</sup>	384.25 <sup>a</sup>	1.65	0.0004
Peso al 2. <sup>o</sup> reimplante, kg	506.73 <sup>b</sup>	515.21 <sup>a</sup>	2.52	0.0008
Peso final, kg	595.54 <sup>b</sup>	612.35 <sup>a</sup>	5.67	0.0032

EEM= error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

En el Cuadro 2 se muestran los resultados de producción para ambos grupos de novillos. Se encontró que la ganancia de peso fue mayor para los novillos en T16, sin embargo, no se encontraron diferencias en la conversión alimenticia y el consumo de alimento. De manera similar a este estudio, Kim *et al*<sup>(14)</sup> observaron que los novillos Holstein de 20 meses de edad a los que se les proporcionó 16 m<sup>2</sup>/animal alcanzaron un peso final de 750.39 kg y una ganancia de peso diaria de 1.36 kg. Un estudio en novillos Holstein que no consideró como variable la cantidad de espacio vital por animal reportó un peso final entre 613.3 a 631.4 kg, un 1.41 a 1.46 kg/d de GDP<sup>(15)</sup>, mientras que un estudio realizado en México encontró que los novillos Holstein alcanzaron un peso final de 604.9 kg con

una ganancia diaria de 1.46 kg y un consumo de alimento de 8.41 kg por día<sup>(16)</sup>, otro estudio realizado por Carvalho *et al*<sup>(17)</sup> encontró que los novillos Holstein ganaron diariamente 1.73 kg/día con un peso final de 598 kg. Aunque en México la norma federal<sup>(3)</sup> establece que el espacio del corral para un animal de menos de 400 kg debe ser de 12 m<sup>2</sup> y para uno de más de 400 kg de 20 m<sup>2</sup><sup>(2)</sup>. Es de esperar que la tendencia mundial de reducir el espacio permitido por animal en el corral de engorda de ganado<sup>(18)</sup> esté impactando a México, por lo que es probable que el bienestar y las variables de producción se vean afectadas debido al menor espacio permitido para el ganado en corral de engorda.

## Evaluación de la canal y la carne

**Cuadro 2:** Resultados medios de producción  $\pm$  EEM por tratamiento

Variable	Tratamiento		EEM	Pr>F
	14 m <sup>2</sup>	16 m <sup>2</sup>		
Ganancia diaria de peso, kg	1.46 <sup>b</sup>	1.50 <sup>a</sup>	0.01	0.0327
Conversión alimenticia	7.51	7.17	0.17	0.1260
Consumo de alimento, kg	10.80	10.62	0.15	0.2967

EEM= error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P<0.05$ ).

El grupo de novillos al que se le proporcionó el mayor espacio vital mostró una diferencia de 7 kg tanto en el peso de la canal caliente como fría ( $P<0.05$ ), estos resultados se muestran en el Cuadro 3 y se corresponden con lo reportado por Ha *et al*<sup>(13)</sup>, quienes proporcionaron un mayor espacio vital a los novillos que se encontraban en el periodo de finalización. Un estudio similar<sup>(19)</sup> reportó un mayor peso de la canal caliente para novillos de corral de engorda que fueron provistos con 16 m<sup>2</sup>/animal, en comparación con otros dos grupos de animales que tuvieron un espacio vital de 10.6 y 8 m<sup>2</sup>/animal.

**Cuadro 3:** Resultados medios de producción de la canal  $\pm$  EEM por tratamiento

Variable	Tratamiento		EEM	Pr>F
	14 m <sup>2</sup>	16 m <sup>2</sup>		
Peso de la canal caliente, kg	360.35 <sup>b</sup>	367.34 <sup>a</sup>	2.98	0.0196
Peso de la canal fría, kg	358.78 <sup>b</sup>	366.68 <sup>a</sup>	2.96	0.0079
Grasa dorsal, mm	9.1	9.3	0.83	0.1939
Área ojo de la costilla, cm <sup>2</sup>	96.14	98.66	2.31	0.9277

EEM= error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P<0.05$ ).

En el presente estudio, la grasa dorsal y el espacio del ojo de la costilla no mostraron diferencia estadística entre los grupos ( $P>0.05$ ), este resultado se corresponde con lo reportado en canales de ganado Hanwoo<sup>(19)</sup>. A diferencia de este estudio, los investigadores<sup>(20)</sup> no encontraron diferencias ( $P>0.05$ ) entre las canales Hanwoo obtenidas de animales a los que se les proporcionaron diferentes espacios vitales. Otros

autores han reportado números menores de grasa dorsal, 5.15 mm<sup>(14)</sup>; 5.8 mm<sup>(17,21)</sup>; mientras que Carvalho *et al*<sup>(15)</sup> reportaron una medición de grasa dorsal entre 8.6 y 9.3 mm, Torrentera *et al*<sup>(16)</sup> observaron una profundidad de grasa dorsal de 10.9 mm, resultados que son similares a lo observado en el presente estudio.

Autores han encontrado que el ganado lechero tiende a depositar mayores cantidades de grasa en la cavidad abdominal y a acumular menos grasa subcutánea<sup>(22)</sup>, en este contexto las razas bovinas que son más grandes y tardan más tiempo en madurar tienen una mayor proporción de grasa inter e intramuscular en comparación con razas más pequeñas que maduran antes<sup>(23)</sup>.

En el caso del área del ojo de la costilla, el presente estudio encontró que fueron mayores a las reportadas por Ha *et al*<sup>(13)</sup> para novillos Hanwoo (91.0 y 94.6 cm<sup>2</sup> para 10 y 16.7 m<sup>2</sup> de espacio vital); asimismo, otros estudios en novillos Holstein reportaron áreas del ojo de la costilla de 72.36 cm<sup>2</sup> <sup>(17)</sup>; 73.7 cm<sup>2</sup> <sup>(21)</sup>; 74.9-82.5 cm<sup>2</sup> <sup>(15)</sup>; 77.21 cm<sup>2</sup> <sup>(14)</sup>; 81.22 cm<sup>2</sup> <sup>(16)</sup>.

En cuanto a la cantidad de grasa intramuscular en la carne (Cuadro 4), los resultados indican que no existe diferencia entre los grupos, sin embargo, los hallazgos apoyan los reportes de otros investigadores de que, en el caso de los novillos Holstein, la carne *choice* es el grado que se observa<sup>(16,17,21)</sup>. En este estudio, 130 de las canales de los novillos produjeron carne que se clasificó como pequeña, mientras que un segundo grupo de 159 canales produjo carne modesta.

**Cuadro 4:** Puntuación de marmoleado por tratamiento

Variable	Tratamiento		Pr> $\chi^2$
	14 m <sup>2</sup> n = 178	16 m <sup>2</sup> n = 177	
Ligero	10	14	0.4142
Pequeño	57	73	0.1605
Modesto	87	72	0.2342
Moderado	23	17	0.3428
Ligeramente abundante	1	1	---

En el Cuadro 5 se muestran los resultados fisicoquímicos de ambos grupos; se encontró que, en el caso de pH, L\*, a\* y C\* no se observaron diferencias ( $P>0.05$ ), y aunque los valores para b\* y H\* mostraron diferencias ( $P<0.05$ ), esta disimilitud no resulta en diferencias notables de color entre tratamientos.

**Cuadro 5:** Resultados fisicoquímicos medios de la carne  $\pm$  EEM por tratamiento

Variable	Tratamiento		EEM	Pr>F
	14 m <sup>2</sup>	16 m <sup>2</sup>		
pH	5.67	5.60	0.06	pH
L*	29.97	31.96	0.85	L*
a*	17.08	16.79	1.24	a*
b*	15.45 <sup>a</sup>	15.02 <sup>b</sup>	0.83	b*
C*	23.08	22.59	1.47	C*

EEM= error estándar de la media.

<sup>a,b</sup> Letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P<0.05$ ).

En lo que se refiere al pH, valores entre 5.5 y 5.8 son considerados como normales para la carne de bovino<sup>(24)</sup>, por lo que los resultados obtenidos por el presente estudio pueden ser vistos como típicos. Valores de pH similares han sido reportados por otros autores<sup>(6,25)</sup> en estudios realizados con ganado Holstein. En el caso del color de la carne, con base en lo reportado por otros autores<sup>(24)</sup>, la carne obtenida de ambos grupos es considerada como corte oscuro, otras investigaciones han reportado resultados similares ( $L^*=37.50$ ,  $a^*=14.69$  y  $b^*=12.39$ )<sup>(26)</sup> y ( $L^*=38.02$ ,  $a^*=19.86$ ,  $b^*=8.19$ ,  $C^*=21.49$ )<sup>(14)</sup>; la razón de esto puede explicarse por el estrés previo al sacrificio al que fueron sometidos los animales, lo que agotó el glucógeno en la sangre y afectó el color de la carne<sup>(27)</sup>. Autores han informado que la forma en que se manejan los animales, la novedad del ambiente y la fatiga son factores que contribuyen al estrés<sup>(28)</sup>.

## Conclusiones e implicaciones

Es muy importante que el ganado en corral de engorda sea provisto con suficiente espacio vital durante todo el período de engorda y, teniendo en cuenta que existe una tendencia a reducir el espacio permitido por animal, es muy importante comprender mejor el impacto negativo que tiene la reducción del espacio en los corrales en el bienestar animal y cómo esto afecta la producción de carne de res. Como sugieren los resultados del presente estudio, un aumento relativamente pequeño del espacio vital tiene un impacto positivo en el peso de la canal, lo que al final se traducirá en un aumento de los ingresos.

### Agradecimientos

Agradecimiento a los empleados y la gerencia de Ganadera Mexicali S.A. por toda la asistencia y apoyo brindado a este estudio.

### Conflicto de interés

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

**Literatura citada:**

1. Gasque GR. Enciclopedia bovina. Editorial Universidad Nacional Autónoma de México. 2008. ISBN: 978-970-32-4359-4.
2. Lagos GH, González GFJ, Castillo RF. Paquete tecnológico para la engorda de ganado bovino en corral. México: Edita INIFAP. 2014. ISBN: 978-607-37-0280-5.
3. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Carne de Ganado Bovino en Confinamiento; 2014.
4. Duff GC, McMurphy CP. Feeding Holstein steers from start to finish. *Veterinary Clinics of North America: Food Anim Practice* 2007;23(2):281-297.
5. Mulhollem J. Holstein steers given hormone implants grow as well as beef steers. University Park, Pensilvania; 2020.
6. Pérez-Linares C, Bolado-Sarabia L, Figueroa-Saavedra F, Barreras-Serrano A, Sánchez-López E, Tamayo-Sosa AR, *et al.* Effect of immunocastration with Bopriva on carcass characteristics and meat quality of feedlot Holstein bulls. *Meat Sci* 2017;(123):45-49.
7. Kenneth HB, Maynard LJ, Meyer AL. Understanding the market for Holstein steers. In: *Managing & marketing quality Holstein steers Proc. Iowa State University.* 2005:207-225.
8. Mader TL. Environmental stress in confined beef cattle. *J Anim Sci* 2003; 81(14\_suppl\_2):E110-E119.
9. Brown-Brandl TM. Understanding heat stress in beef cattle. *Rev Brasileira Zootec* 2018;(47):e20160414.
10. Montelli NLLL, Macitelli F, da Silva Braga J, da Costa MJRP. Economic impacts of space allowance per animal on beef cattle feedlot. *Semina: Ciências Agrárias* 2019; 40(Supl 3):3665-3678.
11. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. 2004. ISBN: 970-32-1010-4.
12. AMSA (American Meat Science Association). *Meat evaluation handbook.* U.S.A. American Meat Science Association. 2001.
13. Ha JJ, Yang K, Oh DY, Yi JK, Kim JJ. Rearing characteristics of fattening Hanwoo steers managed in different stocking densities (r). *Asian-Australasian J Anim Sci* 2018;31(11):1714-1720.
14. Kim SI, Park S, Myung JH, Jo YM, Choi CB, Jung KK. Effect of fattening period on growth performance, carcass characteristics, and economic traits of Holstein steers. *J Anim Sci Technol* 2021;63(5):1008-2017.

15. Carvalho PHV, Latack BC, Flores R, Montano MF, Zinn RA. Interaction of early metabolizable protein supplementation and virginiamycin on feedlot growth performance and carcass characteristics of calf-fed Holstein steers. *Translational Anim Sci* 2022;6(1):1-6.
16. Torrentera N, Barreras A, Gonzalez V, Plascencia A, Salinas J, Zinn RA. Delay implant strategy in calf-fed Holstein steers: growth performance and carcass characteristics. *J Appl Anim Res* 2017;45(1):454-459.
17. Carvalho PHV, Perry GA, Felix TL. Effects of steroidal implants on feedlot performance, carcass characteristics, and serum and meat estradiol-17 $\beta$  concentrations of Holstein steers. *Translational Anim Sci* 2020;4(1):206-213.
18. Macitelli F, Braga JS, Gellatly D, Paranhos da Costa MJR. Reduced space in outdoor feedlot impacts beef cattle welfare. *Animal* 2020;14(12):2588-2597.
19. Lee SM, Kim JY, Kim EJ. Effects of stocking density or group size on intake, growth, and meat quality of Hanwoo Steers (*Bos taurus coreanae*). *Asian-Australasian J Anim Sci* 2012;25(11):1553-1558.
20. Li SG, Yang XY, Rhee JY, Jang JW, Ha JJ, Lee KS, Song HY. Growth, behavior, and carcass traits of fattening Hanwoo (Korean native cattle) steers managed in different group sizes. *Asian-Australasian J Anim Sci* 2010;23(7):952-959.
21. Carvalho PHV, Westphalen MF, Campbell JA, Felix TL. Effects of coated and noncoated steroidal implants on growth performance, carcass characteristics, and serum estradiol-17 $\beta$  concentrations of finishing Holstein steers. *Translational Anim Sci* 2020;4(4):1-7.
22. Irshad A, Kandeepan G, Kumar S, Ashish KA, Vishnuraj MR, Shukla V. Factors influencing carcass composition of livestock: A review. *J Anim Prod Advances* 2013;3(5):177-186.
23. Adams TE, Daley CA, Adams BM, Sakurai H. Testis function and feedlot performance of bulls actively immunized against gonadotropin-releasing hormone: Effect of age immunization. *J Anim Sci* 1996;74(5):950-954.
24. Wu S, Luo X, Yang X, Hopkins DI, Mao Y, Zhang Y. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics. *Meat Sci* 2020;163:1-10.
25. Cervantes-Cazares JA, Pérez-Linares C, Figueroa-Saavedra F, Tamayo-Sosa AR, Barreras-Serrano A, Ríos-Rincón FG, Sánchez-López E, *et al.* Comparación de la castración quirúrgica al nacimiento *versus* inmunocastración sobre las características de la canal y carne en machos Holstein. *Rev Mex Cienc Pecu* 2020;11(2):455-467.
26. Bureš D, Bartoň L. Performance, carcass traits and meat quality of Aberdeen Angus, Gascon, Holstein and Fleckvieh finishing bulls. *Livest Sci* 2018;214:231-237.



27. Viljoen HF, De Kock HL, Webb EC. Consume acceptability of dark, firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks. *Meat Sci* 2002;61(2):181–185.
28. Miranda de la Lama GC, Villaroel M, María GA. Livestock transport from the perspective of the pre-slaughter logistic chain: A review. *Meat Sci* 2014;98(1):9–20.



## Lenteja de agua (*Lemna minor*): potencial alimentario y ambiental. Revisión



Olga Jaimes Prada <sup>a</sup>

Olga Lora Díaz <sup>a\*</sup>

Katherine Tache Rocha <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidad del Sinú Elías Bechara Zainúm. Facultad de Ciencias de la Salud. Cartagena, Colombia.

\* Autor de correspondencia: [olora@unisinucartagena.edu.co](mailto:olora@unisinucartagena.edu.co)

### Resumen:

Las lentejas de agua son plantas con flores de la familia Aráceas, comprenden las angiospermas más pequeñas del reino vegetal, una especie de algas acuáticas de distribución universal, se encuentran en la superficie de los cuerpos de agua dulce principalmente en charcos, ciénagas, lagos y ríos calmados. Recientemente, se han llevado a cabo diferentes investigaciones sobre su potencial y utilidad. Por su composición nutricional, aporte de proteína, alto contenido de fibra y bajo contenido de grasas y carbohidratos, resultaría ser un insumo adecuado para generar productos de alto valor nutricional, características que la hacen interesante frente a otras especies. Se emplea como complemento a dietas comerciales en una gran variedad animales como aves, rumiantes, no rumiantes, crustáceos y peces, reduciendo hasta un 50 % los costos por alimentación. Así mismo, usada en procesos de remediación de una amplia gama de contaminantes químicos con alta tasa de eliminación, pueden absorber algunas sustancias disueltas y brindar oxígeno mediante la fotosíntesis. Se ha indicado bajo costo de construcción, mantenimiento, fáciles de operar, poseen amplia tolerancia a condiciones de crecimiento, facilidad general de cosecha y no compiten con las tierras de cultivo. En el ámbito ambiental es importante encontrar materias primas alternativas e innovadoras, incluso sin la necesidad de utilizar medios de crecimiento o fertilizantes, sin embargo, su aceptación como fuente de alimento necesita investigaciones exhaustivas con respecto a su valor nutritivo, rendimiento a gran escala, suministro de mercado económico y análisis de componentes antinutritivos para la alimentación humana.

**Palabras clave:** Lenteja de agua, *Lemna minor*, Perfil nutricional, Remediación ambiental, Alimentación humana y animal.

Recibido: 30/11/2021

Aceptado: 27/07/2023

## Introducción

En las últimas décadas el acelerado crecimiento de la población mundial y la crisis climática se ha convertido en un problema grave que amenaza el suministro de alimentos y piensos, generando patrones alimentarios deficientes en proteínas y vitaminas, desarrollo de malnutrición por consumo excesivo de azúcares simples y estigmatización de nutrientes<sup>(1)</sup>. En este sentido, las lentejas de agua han tomado un protagonismo en las investigaciones recientes en la búsqueda por nuevos alimentos que brinden alternativas saludables, productos farmacéuticos sostenibles y rentables a gran escala de producción.

Estas pequeñas plantas acuáticas comprenden un conjunto que flotan en la superficie de los cuerpos de agua de poco movimiento; con una gran capacidad de reproducción y crecimiento acelerado. Tradicionalmente se les han utilizado como remediadoras de la contaminación de cuerpos de agua dada su habilidad para la absorción de minerales, sales, sustancias nitrogenadas y metales pesados en los cuerpos de agua<sup>(2)</sup>.

Desde el punto de vista ecológico, se aprecia que, dadas sus interacciones con otras especies, puede considerarse como una especie clave en su hábitat, aunque, tiene un tamaño muy reducido, por su rápido crecimiento, alta tolerancia a la contaminación y capacidad de absorción de nitrógeno y fósforo, *Lemna minor* se ha utilizado previamente para el tratamiento de agua residuales<sup>(3,4)</sup>.

En países asiáticos y recientemente en países de occidente, se están incluyendo en mezclas vegetales para la crianza de animales de granja y cultivos de peces, mostrando favorables resultados en el desarrollo y crecimiento de estos animales, reduciendo costos en su alimentación<sup>(2)</sup>.

Se conoce que las lentejas de agua contienen nutrientes esenciales como proteínas, carbohidratos y grasas. Además, de una variedad de metabolitos secundarios que son beneficiosos para los humanos. Por lo tanto, la consideración de los métodos de cultivo de las lentejas de agua es vital para su mejor utilización en diversas aplicaciones industriales. Se han generado varios informes sobre la utilización, los metabolitos y el cultivo de lentejas de agua; estos deben revisarse y resumirse como información fundamental para mejorar la

aplicación de la lenteja de agua<sup>(5,6)</sup>. Es importante anotar que de ser empleadas como remediadoras de contaminación, considerar su uso en alimentación humana y animal debe ser evaluado.

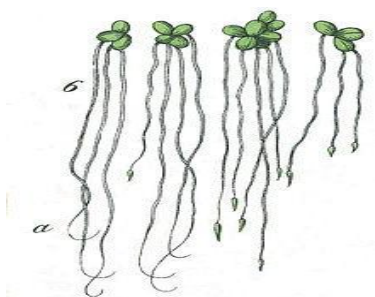
El objetivo del presente documento es dar una visión global de las lentejas de agua, especialmente la especie *Lemna minor*, a través de un recorrido bibliográfico desde la descripción taxonómica hasta su uso como una alternativa de inclusión en la alimentación animal y humana, teniendo en cuenta su composición nutricional y los patrones de estilos de vida actuales. Además, se estudia el impacto ambiental como biomarcadores, remediadores ambientales, enmiendas agrícolas en los cultivos, fuentes de biocombustibles y modelos de patogenicidad.

### Lenteja de agua (*Lemna minor*)

La lenteja de agua (*Lemna minor*) es una planta angiosperma acuática de más rápido crecimiento en el mundo, de libre flotación que crece en aguas poco móviles, generalmente en agua dulce o humedales en la mayoría de las partes del mundo, y se caracteriza por su tamaño pequeño y gran capacidad reproductiva, lo que le permite ocupar grandes espacios acuáticos en muy poco tiempo<sup>(7,8)</sup>. Generalmente se describen como hierbas acuáticas o flotantes de estructura muy simple, carentes de tallo u hojas, ocasionalmente con pequeñas raíces filiformes en su cara inferior. Es una planta acuática que a menudo se pueden ver flotando o justo debajo de la superficie o moviéndose muy lentamente<sup>(9)</sup>.

La *Lemna minor* posee un cuerpo vegetativo en forma taloide, característica de algunas plantas en las que no se logra diferenciar las hojas de los tallos, de tamaño pequeño con estructura plana, coloración verde en sus hojas y una sola raíz delgada de color blanco. Según la descripción de algunos autores, esta característica está asociada a una hoja modificada que cumple las funciones del tallo, la hoja y el eje para sostén de flores como se observa en la Figura 1<sup>(10,11)</sup>.

**Figura 1:** Ilustración de cuerpo vegetativo y raíces de la lenteja de agua (*Lemna minor*)



Fuente: Landolt, E<sup>(11)</sup>.

Las raíces por su parte, generalmente relacionadas al aspecto de absorción de nutrientes de la planta en estas especies parecen tener una función un poco distinta. Algunos investigadores han reportado que el consumo de nutrientes vía raíces es poco o nulo, funcionando como un órgano estabilizador en el cuerpo de agua; sin embargo, la lenteja de agua, *Lemna minor*, ha demostrado que pueden adquirir cantidades significativas de nitrógeno inorgánico a través de la raíz. La planta se desarrolla a diferentes temperaturas variando entre 5 y 30 °C, creciendo óptimamente entre 15 y 18 °C. Se ajusta de forma favorable a cualquier condición de iluminación. Crece de forma acelerada en lugares calmados y ricos en nutrientes, con niveles altos de nitrógeno y fosfatos. Frecuentemente el hierro limita el desarrollo adecuado de esta especie. Además, es tolerante a un amplio rango de pH, comprendido entre 4.5 y 7<sup>(12,13)</sup>.

### **Cultivo de lenteja de agua (*Lemna minor*)**

El cultivo de la lenteja de agua se puede producir con bastante facilidad y bajo costo, incluso sin la necesidad de utilizar medios de crecimiento o fertilizantes, ya que se caracterizan por una alta tasa relativa de crecimiento (TRC). Esto significa que son capaces de producir grandes cantidades de biomasa en poco tiempo y en estanques relativamente pequeños, llenos de unos pocos centímetros de agua natural (30 a 50 cm de profundidad). El control y seguimiento del medio acuático en el que crecen las plantas es especialmente importante. La productividad de las lentejas de agua aumenta más si se respetan las condiciones ecológicas óptimas para el crecimiento, sin embargo, son generalmente amplias. Estos, aunque varían ligeramente de una especie a otra, generalmente consisten en aguas moderadamente cálidas, soleadas y ricas en nutrientes, como se documenta en estudios ecológicos sobre algunas especies de lentejas de agua del género *Lemna*.

En las últimas décadas, se ha vuelto común su cultivo al aire libre, pero puede ser difícil de optimizar y controlar operativamente. Sin embargo, las lentejas de agua también representan un cultivo adecuado para la agricultura de interior, con la mayoría de las especies, debido a su estructura plana particularmente adecuada para el cultivo en sistemas de varios niveles (apilados) que utilizan espacio de piso interior de manera eficiente. El cultivo en interiores también amplía el alcance de la manipulación de cultivos y permite condiciones libres de plagas e incluso condiciones estériles. Sin embargo, los parámetros técnicos y operativos requeridos para el interior eficaz a gran escala, han recibido escasa atención en la literatura<sup>(14)</sup>.

Por otro lado, es importante anotar que crecimiento esporádico de la lenteja de agua inflige graves daños a recursos acuáticos con varias implicaciones económicas. El denso y extenso manto creado por la planta en el bloque de aguas superficiales y canales de agua hace que actividades como el flujo de agua, la navegación, canotaje, natación y pesca se haga

imposible. Afecta también al riego, inunda canales, puede obstruir turbinas de hidroeléctrica y perturba los campos de arroz. Una densa capa de lenteja de agua cierra e inhibe las plantas acuáticas competidoras, incluidas algas que requieren la luz del sol. Por lo anterior se hace importante un control integrado o estrategias que permitan su aprovechamiento.

De acuerdo con diversos objetivos y metas, será necesario un cultivo óptimo de lentejas de agua desde un punto de vista económico e industrial. Se deben emplear varios métodos de cultivo que utilizan diversos tipos de biorreactores y condiciones para su utilización como recursos alimentarios, farmacéuticos, fitorremediadores y biocombustibles. La acuaponía que combina la acuicultura y la hidroponía podría ser un sistema de producción sostenible para las plantas<sup>(15)</sup>. Actualmente, la tecnología permite la producción en masa de buena calidad mediante el control de las condiciones ambientales, como irradiación de riego, presión atmosférica, viento, velocidad, temperatura y humedad.

## **Composición nutricional**

En las últimas décadas, diversos estudios científicos han destacado el valor nutricional de las lentejas de agua, que por su aporte que podrían mejorar la calidad de los alimentos en el futuro. Sin embargo, de acuerdo con estudios, el metabolismo de la planta y, por ende, su composición nutricional depende mucho de los nutrientes que se encuentren en la superficie del cuerpo de agua en el que se encuentre. Estos factores sumamente importantes capaces de influir en la composición nutricional de la planta se ven reflejados en los diferentes resultados obtenidos en cada estudio<sup>(16)</sup>.

### **Proteínas**

El contenido de proteínas de alta calidad alcanza valores del 20 al 35 % en materia seca, cuando se cultiva en condiciones óptimas, superior a la proteína presente en los cereales<sup>(6)</sup>. Lo que hace que la biomasa de lenteja de agua pueda ser considerada como ingrediente para la alimentación animal o humana y puede contribuir a mejorar la seguridad alimentaria a través del desarrollo de métodos sostenibles de producción de alimentos de alto valor nutricional<sup>(17)</sup>. Se ha documentado que la producción de proteína de las lentejas de agua por área cosechada fue mayor que la de la soja, el arroz y el maíz; por lo tanto, podría resolver el problema de la escasez de tierras de cultivo para producir alimentos<sup>(5)</sup>.

El perfil de aminoácidos de las lentejas de agua se destaca por sobre algunas fuentes de proteínas de origen vegetal actualmente conocidas en la alimentación humana; aspecto que algunos autores, han llegado a relacionarla con un perfil de aminoácidos más similar a la proteína de origen animal<sup>(18,19)</sup>. Recientes estudios donde se analizó la composición nutricional de varios cultivos de lentejas de agua demostraron a diferencia de previos análisis,

un contenido de aminoácidos como isoleucina, leucina, cisteína, metionina, treonina y valina similares a las recomendaciones de consumo para la población (Cuadro 1); además se puede resaltar que las cantidades no fueron inferiores a las recomendadas por la OMS, 2007<sup>(20,21)</sup>. Jahreis, *et al*<sup>(20)</sup>, encontraron que la composición de aminoácidos de la lenteja de agua es comparable con la de las harinas de las legumbres como el garbanzo, el altramuz o el guisante. Estudios de nutrición clínica han demostrado que los aminoácidos esenciales y el contenido de vitamina B<sub>12</sub> de las lentejas de agua son comparables a los guisantes y el queso<sup>(5)</sup>.

Adicionalmente, su fuente de proteínas que podrían reemplazar la harina de soya se espera que se utilicen como sustitutos para reducir la contaminación ambiental creada por la expansión del cultivo de soya<sup>(21)</sup>. El consumo de proteína vegetal, en lugar de proteína animal podría reducir el uso de energía y los gases de efecto invernadero y alivia los aspectos negativos de la producción de piensos<sup>(5)</sup>.

**Cuadro 1:** Contenido de aminoácidos de la lenteja de agua (*Lemna minor*)

<b>Aminoácidos</b>		<b>G / 100 g proteína</b>
Cisteína	CYS	0.9
Metionina	MET	1.6
Asparagina	ASP	8.2
Treonina	THR	4.0
Serina	SER	4.1
Glutamina	GLU	9.8
Glicina	GLY	4.6
Alanina	ALA	5.1
Valina	VAL	4.6
Isoleucina	ILEU	3.7
Leucina	LEU	7.3
Tirosina	TYR	3.1
Fenilalanina	PHE	4.4
Lisina	LYS	5.0
Histidina	HIS	1.5
Arginina	ARG	4.8
Prolina	PRO	3.8

Fuente: Appenroth, et al<sup>(7)</sup>.

## Grasas

Las grasas juegan un rol importante en la alimentación del ser humano; pese a ser estigmatizadas como nutrientes perjudiciales para la salud, en la última década algunos

estudios han demostrado el gran impacto que tienen éstas al contribuir como factores protectores frente a enfermedades degenerativas como el alzhéimer, reduciendo el riesgo de accidentes cardiovasculares e incluso, la mortalidad. Autores reportan un contenido de 4 al 6 % de contenido de grasa por peso seco<sup>(6)</sup>.

Se destaca un contenido aproximado de 30 % de ácidos grasos saturados, específicamente, niveles altos de ácido palmítico. Recientemente, se ha demostrado en cuanto al aporte de ácidos grasos por parte de la lenteja de agua, se adapta muy bien a los requerimientos de la población humana, con aporte bajo de grasas y buena relación de ácidos grasos poliinsaturados frente a monoinsaturados, en general cercano o más de la mitad del contenido total de ácidos grasos oscilando entre el 55 al 63 %<sup>(22)</sup>. Así mismo, es importante destacar la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de clase n-3 (alfa-linolénico, eicosapentaenoico y docosahexapentaenoico) importantes en el metabolismo humano actuando como antiinflamatorios<sup>(23)</sup>. Otros autores han descrito que el 48 a 71 % de las grasas son ácidos grasos poliinsaturados y la relación entre ácidos grasos omega 6 y omega 3 es de 0.5 o menos<sup>(6)</sup>.

### **Hidratos de carbono y fibra**

Diversos estudios con lentejas de agua han concluido que los almidones o carbohidratos, tienen una representación bastante baja en el análisis de composición nutricional de estas plantas; en el mejor de los casos los carbohidratos llegan a representar aproximadamente el 10 % del valor nutricional total de las lentejas de agua<sup>(24)</sup>.

Algunos autores, han demostrado que el entorno de crecimiento, genética de la especie, nutrientes del medio, rango temperatura, tiempo e intensidad luz solar incide en diferencias en los componentes bioquímicos (proteína bruta, cenizas, celulosa, agua, grasas y minerales). Se ha documentado que el contenido de proteína de la lenteja de agua depende principalmente del contenido de nutrientes en el cuerpo de agua, mientras que la acumulación de minerales en el tejido de la lenteja de agua depende principalmente de las condiciones del agua en el entorno de cultivo. Durante el cultivo artificial, el contenido de almidón, lípidos y proteínas en la lenteja de agua se pueden controlar cambiando los factores afectando el entorno de crecimiento de la lenteja de agua, como el valor de pH, temperatura, composición del medio, etc.<sup>(25)</sup>.

Por otra parte, el contenido de fibra a diferencia de los carbohidratos es considerablemente alto; en las lentejas de agua se puede encontrar hasta un 25 % del valor nutricional total en fibra<sup>(26)</sup>. Este alto contenido de fibra representa una excelente opción en la inclusión en la alimentación humana que junto que con gran aporte de proteína y, el pequeño aporte de



grasas y carbohidratos, resultarían ser de acuerdo con varios autores, completamente beneficioso en los estilos de vida saludable<sup>(27)</sup>.

### Minerales y elementos traza

La composición nutricional en cuanto a minerales en las lentejas de agua, se caracteriza por ser plantas ricas en potasio y hierro, y pobre en sodio; mientras que, en cuanto a oligoelementos, se destaca el contenido de manganeso, zinc, cobre, entre otros (Cuadro 2). Por otra parte, el contenido total de cenizas es moderadamente alto con rangos de hasta 18 % en algunos estudios, sin embargo, estos valores pueden variar de acuerdo a la composición del medio<sup>(6,26)</sup>.

**Cuadro 2:** Aporte de oligoelementos de lentejas de agua en mg por kg de parte comestible total

Oligoelementos		mg / kg
Magnesio	Mg	2850 ± 710
Hierro	Fe	230 ± 90
Manganeso	Mn	230 ± 98
Yodo	I	0.39 ± 0.19
Cadmio	Cd	0.076 ± 0.145

Fuente: Ziegler P, *et al.*<sup>(26)</sup>.

### Vitaminas

En lo que respecta a vitaminas, son pocos estudios en lentejas de agua que se han enfocado en valorar la composición nutricional y presencia de estos micronutrientes. La vitamina que se encuentra en mayor cantidad en las lentejas de agua son los carotenoides, precursores de la vitamina A; el carotenoide dominante en esta planta es la luteína, seguido por los  $\beta$ -caroteno. Otros carotenoides se encuentran en cantidades mucho más bajas, como el  $\alpha$ -tocoferol y zeaxantina<sup>(28,29)</sup> (Cuadro 3).

**Cuadro 3:** Contenido de carotenoides en las lentejas de agua

Nutrientes carotenoides		Aporte
Luteína	mg/100 g	40 – 80
$\beta$ -caroteno	mg/100 g	10 – 30
$\alpha$ -tocoferol	mg/100 g	0.5 – 13
Zeaxantina	mg/100 g	0.8 - 10

Fuente: Sree, K, *et al.*<sup>(28)</sup>.

## Alimentación humana

En estudio desarrollado por la Comisión Técnica de Nutrición, Nuevos Alimentos y Alérgenos Alimentarios (NDA) sobre la seguridad del material vegetal completo de *Lemna minor* y *Lemna gibba* como nuevo alimento de conformidad con el Reglamento (UE) 2015/2283 en 2022<sup>(17)</sup> para su consumo como verdura, se llevaron a cabo análisis toxicológicos, nutricionales, microbiológicos del polvo de lentejas de agua cultivadas en invernadero bajo condiciones controladas. Según los usos propuestos, la ingesta prevista y los datos de composición, la ingesta de metales pesados, microcistinas y micronutrientes, excepto manganeso, no plantea problemas de seguridad para su consumo como nuevo alimento. Sin embargo, los hallazgos sobre la neurotoxicidad y la posible mayor susceptibilidad de algunos subgrupos de la población general, la exposición oral a manganeso más allá de la normalmente presente en alimentos y bebidas podría representar un riesgo de efectos adversos para la salud sin evidencia de ningún beneficio para la salud. Por otro lado, la probabilidad de que el producto pueda desencadenar reacciones alérgicas en humanos es similar al de otras verduras de hoja y, por lo tanto, el nivel de riesgo se considera bajo.

En esta investigación se aportaron dos ensayos en humanos: uno aleatorio cruzado y otro paralelo controlado con sujetos sanos. El panel de la comisión observó que los estudios en humanos proporcionados fueron diseñados principalmente para investigar los efectos beneficiosos putativos y abordaron solo un número limitado de criterios de valoración relevantes para la seguridad. El Panel considera que no se reportaron eventos adversos relacionados con el consumo, sin embargo, se señala que no se pueden sacar conclusiones de estos estudios sobre la seguridad del producto.

Por otro lado, en algunas partes del sudeste asiático como Laos, Tailandia y Myanmar su consumo es algo normal en preparaciones como ensaladas, sopas, curry o en tortillas, como fuente de proteína vegetal, sin embargo, no ha sido incluida como parte de la dieta en países occidentales<sup>(16)</sup>.

La lenteja de agua ha demostrado tener un perfil de aminoácidos que favorecen en la alimentación de animales acuáticos y terrestres, un aporte de vitaminas y minerales que contribuyen a su palatabilidad, una concentración de grasas (4 al 7 %) y almidones (4 al 10 %) adecuados al compararlos con otros alimentos de origen vegetal como las leguminosas secas; además, conociendo las tasas de pobreza en algunas poblaciones del mundo, y la necesidad elevada de suplementación nutricional en poblaciones con acceso limitado a una alimentación saludable podrían ser de gran relevancia en la alimentación humana<sup>(16,30)</sup>.

En el caso de Tailandia, las lentejas de agua en su variedad de especies, es comercializada en los mercados de verduras y su acogida en la población como Khai Nam, Khai Pum y Khai

Phae (traducido generalmente como “huevos de agua”) es destacada para la preparación de platos tradicionales locales como ensaladas, verduras al curry y tortillas<sup>(31)</sup>.

Estudios israelíes buscando comparar la respuesta glucémica posprandial y nocturna utilizando unos batidos lácteos a partir de lentejas de agua de la especie *Wolffia globosa*, observan en estas plantas una gran oportunidad en la alimentación humana en especial, en grupos poblaciones con dificultades en metabolismo de carbohidratos. Según estas investigaciones esta especie de alga podría servir como una fuente de proteína vegetal alternativa emergente con potenciales efectos glucémicos posprandiales beneficiosos, sin embargo, no se ha encontrado información científica con la especie *Lemna minor*<sup>(29)</sup>.

Teniendo en cuenta el aporte nutricional de las lentejas de agua, especialmente su destacado aporte de proteínas, grasas, betacarotenos, minerales y bajo aporte de carbohidratos además de la ausencia de sustancias antinutricionales, las lentejas de agua (*Lemna minor*) podrían representar una excelente opción en el consumo, como suplemento en el patrón alimentario de comunidades necesitadas a lo largo del mundo<sup>(32)</sup>. Sin embargo, en casos de condiciones de cultivo no controladas, y particularmente cuando los fertilizantes, pesticidas y otros contaminantes orgánicos están presentes en grandes cantidades en los sitios de cultivo o en casos de contaminación del agua por algas o microbios, la alta concentración de contaminantes o toxinas en esas plantas puede plantear un riesgo potencial para la salud humana que se debe considerar<sup>(17)</sup>. Por otra parte, Appenroth, *et al*<sup>(6)</sup>, indica que *Wolffiella hyalina* y *Wolffia microscopica* son adecuadas para la nutrición humana, incluso en comparación con otras especies de lentejas de agua, respecto a la composición de aminoácidos y la distribución de ácidos grasos.

## Alimentación animal

El alto costo de los alimentos para crianza de animales ha motivado la búsqueda constante de alternativas que permitan mejorar su producción. En la actualidad, la harina de soya es uno de los ingredientes alternativos más utilizados para reemplazar la harina de pescado en los alimentos para animales debido a su alto contenido de proteínas y su perfil de aminoácidos relativamente bien equilibrado, que generalmente puede satisfacer los requisitos de muchas especies de peces. Sin embargo, la harina de soya ya tiene una gran demanda en la cadena alimentaria humana, tanto directa como indirectamente en alimentos para animales terrestres de granja. Esta competencia significa que la harina de soya es un ingrediente costoso y esto puede limitar su uso como ingrediente para satisfacer las demandas futuras de alimento para peces. Por lo tanto, existe una necesidad constante de encontrar otros ingredientes (insectos, vegetales, algas, subproductos de organismos acuáticos) para reemplazar tanto la harina de pescado como su principal sustituto, la harina de soya, en los alimentos para peces de cultivo.

Idealmente, dichos ingredientes deberían ser no convencionales para evitar o minimizar la competencia con otros sectores de alimentos para animales<sup>(33)</sup>.

Entre estas alternativas, la lenteja de agua representa una gran oportunidad dado su crecimiento acelerado y gran capacidad para adaptarse al medio en el que crecen; esto, sin dejar de lado la fuente de proteína vegetal cruda que representan, sus aportes de minerales, xantofilas y aminoácidos como lisina, treonina y valina<sup>(18,34)</sup>. De allí la gran oportunidad desde el punto de vista económico que puede representar.

En condiciones experimentales, la tasa de producción puede acercarse a 183 t/ha/año extrapoladas de materia seca, aunque los rendimientos están más cerca de 10-20 t de MS/ha/año en condiciones reales. Su uso mayormente se ha dado en una gran variedad de animales de interés social como aves de criadero, rumiantes, no rumiantes y peces de cultivo<sup>(35)</sup>. En las que, a lo largo de diferentes modelos de inclusión, se ha demostrado que puede ser un buen complemento en la dieta alimentaria de ganado y peces<sup>(36,37)</sup>.

Modelos implementados en pequeñas granjas en el continente asiático enfocadas en la recuperación de flujo de nutrientes de los desechos animales, han utilizado la biomasa de lenteja de agua resultante como un alimento fresco para patos, peces de cultivo y cerdos; todo esto evidenciando contribuir en la correcta nutrición de estos animales y reduciendo costos en la alimentación<sup>(7,38,39)</sup>.

La lenteja de agua posee características similares o superiores a las proteínas de origen vegetal como leguminosas, sin embargo, es rica en algunos aminoácidos esenciales. En países asiáticos y latinoamericanos, existen reportes del uso de lenteja de agua en la dieta de cerdos de crianza con una inclusión de hasta el 10 % del consumo total de alimentos, mostrando excelentes resultados en la respuesta reproductiva de los mismos<sup>(37)</sup>.

En países latinoamericanos como México y Venezuela, se utiliza la lenteja de agua con el fin de alimentar cerdas gestantes y lechones, reemplazando la proteína proveniente de torta de soya en un 80 % o en conjunto de harina de pescado, con muy buenos resultados en producción<sup>(8)</sup>. De acuerdo con algunos autores, la lenteja de agua alcanza niveles de proteína hasta un 38 % de su biomasa. Este aporte de proteína y su facilidad de cultivo, ha permitido ensayos como alimento para patos domésticos, obteniendo resultados en aumento de peso y producción de huevos comparables al suplemento proteínico usual, con la ventaja de presentarse una disminución de un 25 % en los costos de alimentación en países asiáticos<sup>(33)</sup>.

Otros modelos de agricultura han implementado la lenteja de agua como un cultivo de forraje para la crianza de ganado teniendo en cuenta que, la biomasa de la lenteja de agua posee un contenido de proteína de más del 30 % del peso seco; representando un excelente complemento en la alimentación de los animales de crianza, sostenibilidad ambiental y

reducción de costos<sup>(34)</sup>. Cuando es utilizada como única fuente de alimentación, a una tasa que no debe exceder el 6 % del peso corporal (base seca), los resultados son muy inferiores a los obtenidos con las dietas convencionales, momento en el cual dejan de ser potencialmente benéficas; sin embargo, las experiencias en policultivos han demostrado que la suplementación con lenteja de agua incrementa la producción por hectárea<sup>(8)</sup>. De esta forma, durante más de 50 años la ciencia ha investigado las diferentes alternativas que representa la lenteja de agua en la alimentación de diferentes especies de animales de consumo, dando resultados prometedores al ser una fuente rica y sostenible de proteína.

Ahora, algunas investigaciones sobre alimentación con lenteja de agua seca, *Lemna minor*, como fuente proteica en la dieta de alevines de carpa común, han demostrado que no hay diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de los peces que son alimentados con dietas suplementadas hasta con un 20 % de lenteja de agua, frente al forraje de proteína de pescado de uso común. Mostrando que, una dieta que constara de hasta un 20 % de contenido a partir de lentejas de agua, podría usarse como un reemplazo completo del alimento comercial en la formulación de la dieta para alevines de carpa común, lo que permite reducción de costos<sup>(40)</sup>.

De acuerdo a investigaciones realizadas por Goswani *et al*<sup>(41)</sup> al evaluar el impacto de la proteína a partir de lentejas de agua seca (*L. minor*) comparado con el impacto de las dietas estándar y comercial de los alevines de rohu *Labeo rohita* (carpa nativa de los ríos de India y regiones asiáticas), se identificaron ligeras modificaciones en la actividad enzimática digestiva de los peces. La dieta con proteína a partir de las lentejas de agua, estimula las actividades de amilasa, tripsina y quimotripsina las cuales fueron significativamente más altas en comparación con otras dietas, pero sin alterar o modificar la tasa de crecimiento de los peces. En este sentido la inclusión de lenteja de agua cruda en el alimento reemplazando cantidades de hasta el 30 % de harina de pescado en la dieta puede ser bien tolerada por los peces de criadero sin afectar el crecimiento<sup>(42)</sup>.

En el caso de los peces de cultivo para consumo humano se ha investigado en recientes estudios, la transferencia del metal pesado tóxico como el cadmio, de la lenteja de agua (*Lemna minor*) a la tilapia de agua dulce (*Oreochromis mossambicus*). En donde a través de análisis de regresión se encontraron correlaciones significativamente positivas entre la concentración de cadmio en la lenteja de agua y en la carne de tilapia de agua dulce, concentraciones que especialmente se encontraban en mayor cantidad en los tejidos de intestino, músculo comestible y restos. Desde esta perspectiva, los análisis, sugieren la evaluación de riesgos de toxicidad<sup>(40)</sup>. En otros estudios se ha investigado el potencial de la lenteja de agua como alimento animal a través del proceso de fermentación con la incorporación de dos cepas probióticas *Bacillus strains*, y *B. subtilis*, que han demostrado beneficios para la salud de las aves de corral, con lo cual se ha demostrado que la lenteja de agua es un prometedor recurso alternativo y tiene la oportunidad de convertirse en un recurso

valioso en múltiples industrias como la de alimentos, biocombustibles, productos farmacéuticos y para la fitorremediación de aguas residuales. Con potencial para aumentar la sostenibilidad, la seguridad alimentaria y reducir el impacto ambiental<sup>(43)</sup>.

### **Impacto ambiental de las lentejas de agua**

Con la industrialización y el incremento de la producción de necesidades a gran escala por la sociedad, la contaminación de los cuerpos de agua tanto superficiales como subterráneos se han convertido en una gran problemática de impacto ambiental y social<sup>(44)</sup>.

La acumulación de numerosas sustancias tóxicas en aguas ha llevado a la búsqueda de opciones económicas y al alcance, que permitan identificar el nivel de toxicidad que pudieran tener estos espacios naturales. Es así, como recientemente el uso de los cultivos de lentejas de agua (*Lemna minor* y *Lemna gibba*) han permitido ampliamente el análisis de la toxicidad transmitida por el agua a organismos superiores en la cadena biológica (animales y humanos)<sup>(45)</sup>.

Otras investigaciones, en donde se utilizaron parámetros de crecimiento y criterios de valoración como el contenido de pigmento, actividad de peroxidasa, peroxidación de lípidos y ensayo cometa alcalino para detectar los efectos tóxicos y genotóxicos de muestras de agua superficial en plantas de lenteja de agua, lograron indicar la capacidad de biomarcadores seleccionados para predecir los efectos fitotóxicos y genotóxicos de mezclas complejas de agua en los organismos vivos, así como la relevancia de la lenteja de agua como un indicador sensible de la calidad del agua<sup>(46)</sup>.

La inhibición del crecimiento y reducción en el pigmento fotosintético de esta planta al crecer en ambientes de aguas contaminadas ha permitido su uso como biomarcadores eficaces en la detección no específica de componentes tóxicos en los cuerpos de agua. Sin embargo, es de reconocerse que pese a ser un buen indicador de contaminación en el agua, la lenteja de agua no permite determinar por sí misma, la naturaleza de los agentes o sustancias responsables de dicha toxicidad<sup>(47)</sup>.

En recientes estudios pese a la imposibilidad de identificar estos agentes tóxicos a partir de la lenteja de agua, han logrado documentar la capacidad de adaptación que tienen para llegar a metabolizar algunas de estas sustancias como níquel y amoníaco llevando en un tiempo prudente, la calidad de los cuerpos de agua a niveles aceptables, proceso al que se le conoce como, fitorremediación de los cuerpos de agua<sup>(48)</sup>.

Se ha demostrado que las plantas acuáticas tienen una gran eficiencia para la eliminación de sustancias orgánicas e inorgánicas contaminantes<sup>(49)</sup>. *Lemna minor* se ha aplicado ampliamente para la remediación de diversos contaminantes químicos. La planta se usa por

separado o en combinación con otras macrófitas acuáticas como una tecnología de tratamiento de la contaminación de base ecológica<sup>(50)</sup>. Se ha reportado a *L. minor* como un micrófito flotante muy exitoso para la fitorremediación de contaminantes orgánicos; fue la planta más efectiva en el tratamiento de aguas residuales para la remediación de efluentes municipales. Hubo 98.8 % de remoción para nitrógeno total y fósforo con un mayor nivel de disolución de oxígeno debido a una mejora de la carga de nutrientes por la lenteja de agua<sup>(51)</sup>. La lenteja de agua ha mostrado un gran potencial para la fitorremediación de contaminantes orgánicos, metales pesados, agroquímicos, productos farmacéuticos, de cuidado personal, desechos radiactivos, nanomateriales, hidrocarburos de petróleo, tintes, toxinas y contaminantes relacionados<sup>(50)</sup>. Sustancias que representan un grave riesgo para el medio ambiente y todas las formas de vida, porque pueden ser persistentes, se transporta fácilmente a través de los medios y puede provocar el envenenamiento de los tejidos y órganos<sup>(52,53,54)</sup>. Tufaner<sup>(55)</sup> informó más del 90 % de eliminación de metaloides pesados (cromo, zinc, aluminio, arsénico, cadmio, cobalto, cobre, plomo y níquel) mientras que el 83 % para el mercurio en una mezcla de humedal con *L. minor*. Por otra parte, *Lemna minor* muestra un aumento en porcentaje de absorción de cromo de 6,1, 26,5, 20,5, y, 20,2 % a una concentración de exposición diferente de estrés de cromo<sup>(56,57)</sup>. Adicionalmente, investigaciones realizadas con relación de productos químicos agrícolas como fertilizantes, plaguicidas, herbicidas y fungicidas demuestran que las lentejas de agua pueden acumular y degradar estos agroquímicos<sup>(58,59,60)</sup>. La lenteja de agua tiene la capacidad de conservar la naturaleza actuando como un hiperacumulador. Su amplia aplicación de la planta se debe a su naturaleza ubicua, mecanismo invasor, capacidad reproductiva esporádica, potenciales de bioacumulación y resiliencia en ambientes contaminados<sup>(61)</sup>.

### **Toxicidad y sustancias antinutricionales**

Estudios han destacado la presencia de componentes, sustancias o factores antinutricionales en la lenteja de agua<sup>(3)</sup>. Tras diversos ensayos de toxicidad, se descubrió que las lentejas de agua son altamente sensibles a las triazinas, las sulfonureas y las piridinas, compuestos actualmente catalogados como tóxicos con gran impacto contaminante en el medio ambiente y que, dada la forma de nutrición de esta planta, pueden llegar a absorberlos. Sin embargo, muchos autores destacan que las cantidades en esta planta de estos compuestos son pequeñas, y que podrían ser susceptibles a desnaturalizarse al someterse a tratamientos térmicos<sup>(62)</sup>.

Por otra parte, los factores antinutricionales son sustancias o compuestos que tienen la capacidad de interferir en la utilización o aprovechamiento biológico de un alimento o nutriente, afectando la salud de una persona y algunos o varios de los procesos fisiológicos del organismo. Algunos autores, han reportado la presencia de taninos y ácido fítico en las lentejas de agua en concentraciones de 0.02 y 0.09 % respectivamente<sup>(63)</sup>.

Así mismo, otros estudios evidenciaron concentraciones de inhibidores de tripsina en un 1.47 %, oxalatos de calcio en 3.5 % y taninos en concentraciones mucho más altas que estudios previamente citados 0.9 % <sup>(64)</sup>. Sin embargo, recientes investigaciones han destacado concentraciones bajas de cianida a 0.15 %, ácido fítico 0.58 % y taninos 0.48 % al analizar gran variedad de cepas de lentejas de agua; así mismo, se sometieron estas muestras a tratamientos térmicos donde se evidenció la desactivación o inhibición de estas sustancias, eliminando así, la toxicidad que podría implicar el consumo de la planta<sup>(65)</sup>.

De acuerdo con investigaciones desarrolladas por Sree, *et al*<sup>(66)</sup> para determinar los efectos citotóxicos y la actividad anti-proliferativa en líneas celulares humanas de varias especies de lenteja de agua, entre las cuales se encuentra *L. minor*, se comprobó que los extractos de plantas enteras no tienen ningún efecto adverso detectable en líneas celulares humanas, lo que se constituye como un paso para asegurar el uso global de la lenteja de agua como un componente de nutrición humana.

## Conclusiones

En los últimos años la lenteja de agua ha tomado un papel destacado en la biotecnología y aplicaciones agrícolas. Podría ser potencialmente un recurso importante como fuente alternativa de alimentación humana y animal. Se ha utilizado como alimento en materia cruda o procesada para producción de harina, lo que la hace interesante en la industria de alimentos para animales, la acuicultura, los suplementos para la salud, los biofertilizantes, los biocombustibles y productos alimenticios emergentes para humanos.

Por otra parte, se ha demostrado su fuerte potencial para la fitorremediación de contaminantes orgánicos, metales pesados, agroquímicos, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, desechos radiactivos, nanomateriales, hidrocarburos de petróleo, tintes, toxinas y contaminantes relacionados. La amplia aplicación de la planta se debe a su omnipresente naturaleza, mecanismo invasivo, capacidad reproductiva esporádica, potenciales de bioacumulación y resiliencia en ambientes contaminados.

Los nutrientes en el agua en la que se cultiva afectan críticamente su valor nutricional, por lo que es probable que deba descontaminarse antes de alimentar a los animales si hay metales pesados en el agua, dado que la lenteja de agua los concentra. En este sentido, es importante destacar la escasez de estudios acerca del uso de estas plantas en la alimentación humana; por lo que se hace necesario continuar investigando para determinar el rol que podrían tomar e incluirse en la dieta del ser humano y la seguridad asociada a su consumo continuo, rendimiento a gran escala, suministro de mercado económico y sostenibilidad.



A pesar de los desafíos y las lagunas de conocimiento, existen oportunidades realistas para desarrollar y operar un cultivo controlado, autónomo y de alta capacidad de lenteja de agua bajo condiciones de interior, para una amplia gama de propósitos que aseguren las características del producto final. Es de anotar que el crecimiento acelerado, el impacto del cambio climático, la disminución de tierra cultivable, el agotamiento del suelo, nutrientes y suministro de agua dificultan cada vez más la obtención de alimentos de calidad y en las cantidades que se requieren.

#### **Literatura citada:**

1. Rock B, Sriyan J, Vijay B, Thalha N, Elango S, Rajajeyakumar M. Organic food and health: a systematic review. *J Community Med Health Educ* 2017;7(3):1-7.
2. Arroyave M. La lenteja de agua (*Lemna minor* L.): una planta acuática promisoría. *Rev EIA* 2004;1:33-38.
3. Dong X, Lv L, Zhao W, Yu Y, Liu Q. Optimization of integrated multi-trophic aquaculture systems for the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquacult Environ Interact* 2018;10:547-556.
4. Bergmann B, Cheng J, Classen J, Stomp A. *In vitro* selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. *Bioresource Technol* 2000;73(1):13-20.
5. Baek G, Saeed M, Choi HK. Duckweeds: their utilization, metabolites, and cultivation. *Appl Biol Chem* 2021;64:73.
6. Appenroth KJ, Sree KS, Böhm V, Hammann S, Vetter W, Leiterer M, Jahreis G. Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. *Food Chem* 2017;217:266–273.
7. Edelman M, Appenroth KJ, Sree KS. Duckweed: Biological chemistry and applications. *Front Sustain Food Syst* 2022;(4):615135.
8. Tavares F, Rodrigues, Machado D, Esquivel J, Roubach R. Dried duckweed and commercial feed promote adequate growth performance of tilapia fingerlings. *Biotemas* 2008;21(3):91-97.
9. Ponce J, Febrero I, González R, Romero O, Estrada O. Perspectivas de la *Lemna* sp. para la alimentación de peces. *Rev Electrónica Vet* 2005;6(3):1-6.
10. Raven P, Evert R, Eichhorn S. *Biology of plants* New York: Worth. *Ann Botany* 2013;113(7).

11. Landolt E. Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae). In G. Veröf, The family of Lemnaceae – A monographic study. Part 1 of the monograph: Morphology; karyology; ecology; geographic distribution; systematic position; nomenclature; descriptions. Zürich: Inst. Stiftung Rübél. 1986.
12. Andrade IA, Baque MA. Composición química y actividad antioxidante de la lenteja de agua (*Lemna minor* L.) [tesis doctoral]. Guayaquil, Ecuador: Universidad de Guayaquil; 2020.
13. Fang YY, Babourina O, Rengel Z, Yang XE, Pu PM. Ammonium and nitrate uptake by the floating plant *Landoltia punctata*. *Annals Botanical* 2007;99(2):365-370.
14. Fiordelmondo E, Ceschin S, Magi G, Mariotti F, Iaffaldano N, Galosi L, Roncarati A. Effects of partial substitution of conventional protein sources with duckweed (*Lemna minor*) meal in the feeding of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) on growth performances and the quality product. *Plants* 2022;11(9):1220.
15. Ceschin S, Crescenzi M, Iannelli MA. Phytoremediation potential of the duckweeds *Lemna minuta* and *Lemna minor* to remove nutrients from treated waters. *Environ Sci Pollut Res* 2020;27:15806–15814.
16. Appenroth KJ, Sree KS, Bog M, Ecker J, Seeliger C, Böhm V, *et al.* Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Frontiers Chem* 2018;6:1-13.
17. Turck D, Bohn T, Castenmiller J, De-Henauw S, Hirsch-Ernst KI, Maciuk A, *et al.* Safety of *Lemna minor* and *Lemna gibba* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA J.* 2022.
18. Dewanji A. Amino acid composition of leaf proteins extracted from some aquatic weeds. *J Agric Food Chem* 1993;41:1232-1236.
19. Palacios JM, Villalobos SC. Factibilidad económica para la creación de una planta productora de harina de lenteja de agua *Lemna minor* L., como complemento proteico en la alimentación de la especie tilapia roja *Oreochromis* spp. [tesis pregrado]. Villavicencio, Colombia: Universidad Santo Tomás; 2019.
20. Jahreis G, Brese M, Leiterer M, Schaefer U, Böhm V. Legume flours: Nutritionally important sources of protein and dietary fiber. *Ernaehrungs Umschau Int* 2016;63(02);36-42.
21. Edelman M, Colt M. Nutrient value of leaf vs seed. *Frontiers Chem* 2016;4:32.
22. Chew E, Clemons T, SanGiovanni J, Danis R, Ferris F, Elman M. Lutein Zeaxanthin and Omega-3 fatty acids for age-related macular. *Food Chem* 2013;309(19):25-30.

23. Yan Y, Candreva J, Shi H, Ernst E, Martienssen R, Schwender J. Survey of the total fatty acid and triacylglycerol composition and content of 30 duckweed species and cloning of a D6-desaturase responsible for the production of  $\alpha$ -linolenic and stearidonic acids in *Lemna gibba*. BMC Plant Biology 2013;13(1):1-14.
24. Tang J, Li Y, Ma J, Cheng JJ. Survey of duckweed diversity in Lake Chao and total fatty acid, triacylglycerol, profiles of representative strains. Plant Biol 2015;17(5):1066-1072.
25. Cui W, Cheng JJ. Growing duckweed for biofuel production: A review. Plant Biol 2015;17:16-23.
26. Ziegler P, Adelman K, Zimmer S, Schmidt C, Appenroth KJ. Relative *in vitro* growth rates of duckweeds (Lemnaceae) – The most rapidly growing higher plants. Plant Biol 2015;17:33-41.
27. Zhao Z, Shi HJ, Wang ML, Cui L, Zhao H, Zhao Y. Effect of nitrogen and phosphorus deficiency on transcriptional regulation of genes encoding key enzymes of starch metabolism in duckweed (*Landoltia punctata*). Plant Physiol Biochem 2015;86:72-81.
28. Sree KS, Maheshwari SC, Boka K, Khurana JP, Keresztes A, Appenroth KJ. The duckweed *Wolffia microscopica*: A unique aquatic monocot. Flora 2015;210:31-39.
29. Arnold C, Schwarzenbolz U, Böhm V. Carotenoids and chlorophylls in processed xanthophyll-rich food. LWT-Food Sci Technol 2014;57(1):442-445.
30. Zelicha H, Kaplan A, Yaskolka-Meir A, Tsaban G, Rinott E, Shelef I, *et al.* The effect of *Wolffia globosa* mankai, a green aquatic plant, on postprandial glycemic response: a randomized crossover controlled trial. Diabetes Care 2019;42(7):1162-1169.
31. Lonnie M, Laurie I, Myers M, Horgan G, Russell W, Johnstone AM. Exploring health-promoting attributes of plant proteins as a functional ingredient for the food sector: a systematic review of human interventional studies. Nutrients 2020;12(8):2291.
32. Yaskolka-Meir A, Tsaban G, Zelicha H, Rinott E, Kaplan A, Youngster I, *et al.* A green-mediterranean diet, supplemented with mankai duckweed, preserves iron-homeostasis in humans and is efficient in reversal of anemia in rats. J Nutrition 2019;149(6):1004-1011.
33. Goswami RK, Sharma J, Shrivastav AK, Kumar G, Glencross B, Tocher D, Chakrabarti R. Effect of *Lemna minor* supplemented diets on growth, digestive physiology, and expression of fatty acids biosynthesis genes of *Cyprinus carpio*. Sci Rep 2022;12(1):3711.

34. Bui X, Ogle B, Lindberg JE. Use of duckweed as a protein supplement for breeding ducks. *Asian Australasian J Anim Sci* 2002;15(6):866-871.
35. Leng RA, Stambolie JH, Bell R. Duckweed a potential high protein feed resource for domestic animals and fish. *Res Rural Develop* 1995;7(1):36.
36. Mbagqu I, Adeniji H. El contenido alimenticio de la lenteja de agua en el área de Kainji, Nigeria. *IFFR* 1998.
37. Noor J, Hossain MA, Bari MM, Azimuddin KM. Effects of duckweed (*Lemna minor*) as dietary fishmeal substitute for silver barb (*Bar bodes gonionotus* Bleeker) Bangladesh. *J Fish* 2000;4(1):35-42.
38. Gutiérrez G. Potencial de la planta *Lemna gibba* en la alimentación de cerdos [tesis de maestría]. Tecomán, México: Universidad Interinstitucional de Colima; 2000.
39. Sánchez O. Obtención de harina a partir de ensilaje biológico de subproductos de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y Tilapia roja (*Oreochromis* spp) [tesis pregrado]. Valle del Cauca, Colombia: Universidad del Cauca; 2016.
40. Yilmaz E, Akyurt I, Günel G. Use of duckweed, *Lemna minor*, as a protein feedstuff in practical diets for common carp, *Cyprinus carpio*, fry. *Turkish J Fisheries Aquatic Sci* 2004;4(2):105-109.
41. Goswami RK, Shrivastav AK, Sharma JG, Tocher, DR, Chakrabarti R. Growth and digestive enzyme activities of rohu *Labeo rohita* fed diets containing macrophytes and almond oil-cake. *Anim Feed Sci Technol* 2020;263:114456.
42. Xue Y, Peijnenburg WJ, Huang J, Wang D, Jin Y. Trophic transfer of Cd from duckweed (*Lemna minor* L.) to tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Environ Toxicol Chem* 2018;37(5):1367-1377.
43. Mahoney R, Weeks R, Huang Q, Dai W, Cao Y, Liu G, *et al.* Fermented duckweed as a potential feed additive with poultry beneficial bacilli probiotics. *Probiotics Antimicrobial Proteins* 2021;13(5):1425-1432.
44. Gür N, Türker OC, Böcük H. Toxicity assessment of boron (B) by *Lemna minor* L. and *Lemna gibba* L. and their possible use as model plants for ecological risk assessment of aquatic ecosystems with boron pollution. *Chemosphere* 2016;157:1-9.
45. Sobrino AS, Miranda MG, Alvarez C, Quiroz A. Bio-accumulation and toxicity of lead (Pb) in *Lemna gibba* L. (duckweed). *J Environ Sci Health, Part A* 2010;45:107-110.

46. Radić S, Stipaničev D, Cvjetko P, Rajčić, MM, Širac S, Pevalek-Kozlina B, Pavlica M. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicol Environ Safety* 2011;74(2):182-187.
47. Ziegler P, Adelman K, Zimmer S, Schmidt, C, Appenroth KJ. Relative *in vitro* growth rates of duckweeds (Lemnaceae) – The most rapidly growing higher plants. *Plant Biol* 2015;17(s1):33-41.
48. Cedergreen N, Madsen TV. Nitrogen uptake by floating macrophyte *Lemna minor*. *New Phytologist* 2002;155(2):285-292.
49. Ali S, Abbas Z, Rizwan M, Zaheer IE, Yavaş İ, Ünay A, Kalderis D. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. *Sustainability* 2020;12(5):1927.
50. Ekperusi AO, Sikoki FD, Nwachukwu EO. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. *Chemosphere* 2019;223:285-309.
51. Mohedano RA, Costa RHR, Tavares FA, Filho PB. High nutrient removal rate from swine wastes and protein biomass production by full-scale duckweed ponds. *Bioresour Technol* 2012;112:98-104.
52. Adesiyun IM, Bisi-Johnson M, Aladesanmi OT, Okoh AI, Ogunfowokan AO. Concentrations and human health risk of heavy metals in rivers in Southwest Nigeria. *J Health Pollution* 2018;8(19):180907.
53. Chinedu E, Chukwuemeka, CK. Oil spillage and heavy metals toxicity risk in the Niger delta, Nigeria. *J Health Pollution* 2018;8(19):180905.
54. Sodango TH, Li X, Sha J, Bao Z. Review of the spatial distribution, source and extent of heavy metal pollution of soil in China: impacts and mitigation approaches. *J Health Pollution* 2018;8(17):53-70.
55. Tufaner F. Post-treatment of effluents from UASB reactor treating industrial wastewater sediment by constructed wetland. *Environ Technol* 2018;41(7):912-920.
56. Böcük H, Yakar A, Türker OC. Assessment of *Lemna gibba* L. (duckweed) as a potential ecological indicator for contaminated aquatic ecosystem by boron mine effluent. *Ecological Indicators* 2013;29:538–548.
57. Sallah-Ud-Din R, Farid M, Saeed R; Ali S, Rizwan M, Tauqeer HM, Bukhari SAH. Citric acid enhanced the antioxidant defense system and chromium uptake by *Lemna minor* L. grown in hydroponics under Cr stress. *Environmental Sci Pollution Res* 2017;24:17669–17678.

58. Wilson PC, Koch R. Influence of exposure concentration and duration on effects and recovery of *Lemna minor* exposed to the herbicide norflurazon. *Archives Environ Contam Toxicol* 2013;64:228-234.
59. Dalton RL, Nussbaumer C, Pick FR, Boutin C. Comparing the sensitivity of geographically distinct *Lemna minor* populations to atrazine. *Ecotoxicology* 2013;22:718-730.
60. Wang F, Yi X, Ku H, Chen L, Liu D, Wang P, Zhou Z. Enantioselective accumulation, metabolism and phytoremediation of lactofen by aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Ecotoxicol Environ Safety* 2017;143:186-192.
61. Ekperusi AO, Sikoki FD, Nwachukwu EO. Application of common duckweed (*Lemna minor*) in phytoremediation of chemicals in the environment: State and future perspective. *Chemosphere* 2019;223:285-309.
62. Lo BP, Elphick JR, Bailey HC, Baker JA, Kennedy CJ. The effect of sulfate on selenite bioaccumulation in two freshwater primary producers: A duckweed (*Lemna minor*) and a green alga (*Pseudokirchneriella subcapitata*). *Environ Toxicol Chem* 2015;34(12):2842-2845.
63. Kritchevsky D, Chen SC. Phytosterols—Health benefits and potential concerns: A review. *Nutrition Res* 2005;25(5):413-428.
64. Naumann B, Eberius M, Appenroth, KJ. Growth rate based dose- response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. *J Plant Physiol* 2007;164(12):1656-1664.
65. Sree KS, Bog M, Appenroth KJ. Taxonomy of duckweeds (Lemnaceae), potential new crop plants. *Emirate J Food Agricult* 2016;28(5):291-302.
66. Sree KS, Dahse HM, Chandran JN, Schneider B, Jahreis G, Appenroth KJ. Duckweed for human nutrition: no cytotoxic and no anti-proliferative effects on human cell lines. *Plant Foods Human Nutr* 2019;74:223-224.



## Implicación de las Fusariotoxinas en la producción avícola. Revisión



Gabriela Guadalupe Gómez Verduzco <sup>a</sup>

Ernesto Ávila González <sup>a</sup>

Guillermo Téllez Isaías <sup>b</sup>

Juan Carlos Del Río García <sup>c</sup>

Jacqueline Uribe Rivera <sup>c\*</sup>

<sup>a</sup>Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ciudad de México, México.

<sup>b</sup> Universidad de Arkansas. Departamento de Ciencia Avícola. Arkansas, Estados Unidos de América.

<sup>c</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5, San Sebastián Xhala, CP 54714 Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

\* Autor de correspondencia: [juribe\\_mvz@hotmail.com](mailto:juribe_mvz@hotmail.com)

### Resumen:

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos de diversos géneros. Dentro de las micotoxinas más importantes se encuentran aquellas producidas por hongos del género *Fusarium* sp., el cual puede dividirse en varios grupos para su estudio que son el grupo de los tricotecenos (y toxina T-2), de las fumonisinas, principalmente fumonisina B1 (B1, B2, B3, B4, A1 Y A2) y de la zearalenona de efectos estrogénicos. Aunque las fusariotoxinas causan efectos similares debido a que comparten el mismo mecanismo de acción; mediante la alteración de síntesis de proteínas en las aves intoxicadas, es importante mencionar la incidencia, así como las características entre cada una de ellas. Es por esto que en cada apartado se describen las características de cada grupo mencionado.

**Palabras clave:** Micotoxinas, Fusariotoxinas, Aves, Hongos.

Recibido: 03/11/2021

Aceptado: 31/01/2024

## Introducción

Dentro de la producción pecuaria, el alimento ocupa entre el 65 y 70 % del costo total de la producción; sin embargo, a pesar de los constantes esfuerzos encaminados a lograr la inocuidad de los alimentos destinados a la producción animal, aún existen factores que disminuyen su calidad, como son agentes biológicos patógenos (como ejemplos *Salmonella* spp., *E. coli*, *Listeria* spp., *Campylobacter* spp.), sustancias químicas (fungicidas, herbicidas e insecticidas) y presencia de hongos (*Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor* etc.)<sup>(1)</sup>. La contaminación por hongos se puede dar bajo diversas condiciones asociadas tanto a factores medioambientales, como factores asociados al hongo, por ejemplo tamaño y especie<sup>(2)</sup>.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos<sup>(3)</sup>, considerados como sustancias tóxicas que se presentan como compuestos orgánicos de bajo peso molecular, razón por la cual no poseen característica de inmunogenicidad. La producción de micotoxinas depende de una serie de factores ambientales como humedad, temperatura, ventilación, constitución del sustrato en el que se desarrolla el hongo, lesiones a la integridad de los granos, e interacción entre los diversos hongos presentes en los sustratos<sup>(4)</sup>. Se menciona que el 25 % de los cultivos en todo el mundo están contaminados con micotoxinas<sup>(5)</sup>.

## Fusariotoxinas

Dentro de las toxinas reportadas con mayor incidencia dentro de la producción animal se encuentran las producidas por distintas especies de hongos del género *Fusarium* sp, las cuales son capaces de inducir efectos agudos, así como efectos crónicos, dependiendo del tipo de micotoxina, el nivel y duración de la exposición, la especie y edad del animal.

Las especies aviares son consideradas resistentes en cuanto a la presentación de la intoxicación por fusariotoxinas, lo cual ha sido explicado ya sea por la baja sensibilidad a los mecanismos de toxicidad o por diferencias en las propiedades toxicocinéticas<sup>(6)</sup>. Estas especies fúngicas se han clasificado dentro del grupo de hongos de campo, requiriendo los granos un alto porcentaje de humedad (aproximadamente de 20 a 22 %), para la producción



de las micotoxinas. El principal sustrato donde se observa la producción de fusariotoxinas es el maíz; sin embargo, también se ha reportado su crecimiento en otros sustratos como sorgo, trigo, avena, cebada y soya. Las fusariotoxinas a su vez, son clasificadas en tres grupos para su estudio, dentro de los cuales se encuentra el grupo de los tricotecenos (el cual se clasifica a su vez de acuerdo a la presencia o no de un anillo macrocíclico en su estructura química), el grupo de la zearalenona y el grupo de las fumonisinas (Cuadro 1).

**Cuadro 1:** Micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium* sp.

Micotoxinas producidas	Especies de hongos productores
• Tricotecenos	<i>Fusarium tricinctum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. kulmorum</i> , <i>F. poae</i> , <i>Fusarium cephalosporium</i> , <i>F. myrothecium</i> , <i>F. acuminatum</i> , <i>F. nivale</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i>
• Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. kulmorum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. nivale</i>
• Fumonisinias	<i>Fusarium proliferatum</i> , <i>F. verticillioides</i> , <i>F. oxysporum</i>

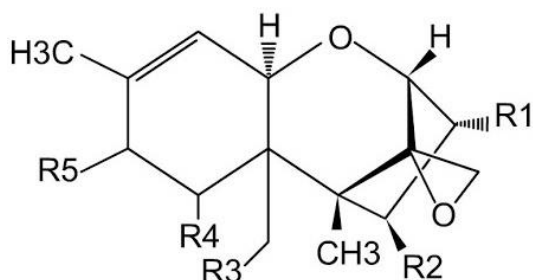
Adaptado de<sup>(11,94,95)</sup>.

Los estudios experimentales han coincidido, en que el principal efecto de las toxinas producidas por *Fusarium* sp., incide directamente sobre la integridad intestinal (aumento de la permeabilidad intestinal), efecto correlacionado a su vez con una disminución en la respuesta inmune del animal (alteración en la producción de células participantes en la respuesta inmune)<sup>(7,8)</sup>. Ambos efectos tienen su origen en la alteración de la síntesis proteica que se realiza en los distintos procesos metabólicos en el animal<sup>(9,10)</sup>. Es importante mencionar que independientemente de la micotoxina o micotoxinas que estén presentes en el alimento, las células del tubo digestivo son las primeras en estar en contacto con las micotoxinas; esto significa que posiblemente el epitelio intestinal en toda su extensión, puede resultar comprometido incluso antes de comenzar la absorción de los alimentos, y a su vez, también verse afectado por micotoxinas que tengan un bajo porcentaje de absorción, como fumonisinas y deoxynivalenol. Aunque las fusariotoxinas puedan tener mecanismos de acción similares entre ellas, es importante mencionar las características individuales de cada una<sup>(11)</sup>.

## Generalidades de tricotecenos

Se han identificado más de 150 tipos diferentes de tricotecenos, y se ha establecido que, con base a su ocurrencia en alimentos, los de mayor prevalencia, son toxina T-2, deoxynivalenol (DON o vomitoxina), y diacetoxyscirpenol (anguidina), los cuales en su estructura química constan de un esqueleto sesquiterpeno tetracíclico, un anillo de oxano, y un grupo epóxido (12,13-epoxitricoteceno) estable que le confiere su toxicidad (Cuadro 2)<sup>(7)</sup>. Los principales sustratos donde se puede encontrar presencia de tricotecenos son principalmente maíz, trigo, cebada, avena, arroz y soya. A grandes rasgos se considera a los tricotecenos como citotóxicos, inmunosupresores e inhibidores de la síntesis proteica<sup>(8)</sup>. Aunque de manera general los tricotecenos puedan causar efectos gastrointestinales, dermatotóxicos, inmunotóxicos y genotóxicos, se ha reportado que bajo una intoxicación aguda se podrán identificar por inflamación evidente en piel, diarrea, edema, necrosis dérmica, hemorragias en mucosa del tracto gastrointestinal y alteraciones negativas sobre parámetros productivos<sup>(12,13,14)</sup>.

**Cuadro 2:** Diferencias estructurales en los tricotecenos presentes en la producción avícola



Tricotecenos	R1	R2	R3	R4	R5
Tipo A					
Toxina HT-2	OH	OH	OAc	H	OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Toxina T-2	OH	OAc	OAc	H	OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Diacetoxyscirpentriol	OH	OAc	OAc	H	H
Tipo B					
Deoxynivalenol	OH	H	OH	OH	O
3-acetil-deoxynivalenol	OAc	H	OH	OH	O

15-acetil-deoxynivalenol	OH	H	OAc	OH	O
Nivalenol	OH	OH	OH	OH	O
Fusarenona X	OH	OAc	OH	OH	O

Adaptado de <sup>(18)</sup>.

## Toxina T-2

### Características principales y estructura química

La toxina T-2 como perteneciente al grupo “A” de los tricotecenos, contiene en su estructura química tetracíclica un sistema sesquiterpenoide y un grupo epóxido-tricoteceno en C-12 y C-13. Principalmente se puede encontrar en maíz, trigo, avena y cebada<sup>(15,16)</sup>.

Se ha determinado que el principal hongo productor de esta micotoxina es *Fusarium tricinctum*, sin embargo, puede ser producida a su vez por *Fusarium acuminatum*, *nivale*, *oxysporum*, *poae*, *solani* y *sporotrichioides*. En relación a esto, las condiciones ambientales requeridas para la producción del hongo son una temperatura ambiental promedio de 18 a 30° C, así como una humedad relativa alrededor de 95 % y un valor de actividad del agua (AW) mayor a 0.88 (el cual deberá ser de 0.91 para que el hongo produzca la micotoxina)<sup>(17)</sup>. La estructura química de esta micotoxina, la convierte en un compuesto no volátil soluble en acetona, cloroformo y alcohol etílico; es de bajo peso molecular (aproximadamente de 466.52 g/mol) y se describe como una micotoxina altamente resistente al calor (200-210 °C) y radiación UV, por lo tanto no se inactiva fácilmente en etapas durante el procesamiento del alimento; sin embargo, se ha reportado que la adición de hipoclorito o hidróxido de sodio por un periodo de 4 h puede funcionar como método de inactivación<sup>(18)</sup>.

Se ha reportado, que los niveles máximos permitidos dentro de la regulación Europea en alimento terminado para toxina T2 va de los 0.2 a los 2 mg/ kg de alimento terminado<sup>(19,20)</sup> y se ha establecido como DL<sub>50</sub><sup>1</sup> una concentración de 4.97 mg/kg de alimento y 10 mg/ kg como DL<sub>PV</sub><sup>2(18)</sup>. Se debe considerar que la toxina T-2 puede generar interacciones en presencia de otras micotoxinas, éstas serán de tipo aditivo en presencia de deoxynivalenol (DON), ocratoxina A (OTA) y fumonisina B1 y de tipo sinérgico en presencia de nivalenol y aflatoxinas<sup>(21-25)</sup>.

## **Metabolismo**

Las principales rutas mediante las cuales la toxina T-2 será metabolizada en las aves son la de-epoxidación y de-acetilación principalmente<sup>(26)</sup>. En el caso de la de-epoxidación, que es la ruta más común, el resultado será la pérdida del grupo “epóxido”, el cual le confiere la toxicidad a la micotoxina mientras que durante la pérdida del grupo “acetil” el resultado será la obtención de metabolitos secundarios de la toxina como son HT-2 y T2-tetraol<sup>(6)</sup>.

## **Mecanismo de acción y principales efectos en aves**

La toxina T-2 y sus derivados basan su toxicidad en la alteración negativa que ocasionará sobre la síntesis proteica, de ADN y ARN, así como sobre el ciclo celular en distintos tipos de células y su capacidad de inducir apoptosis y necrosis, además de peroxidación lipídica, principalmente en células de tipo lábiles o de producción activa. Interacciona con la peptidil transferasa de la subunidad 60s ribosomal inhibiendo la formación de nuevos enlaces peptídicos<sup>(27)</sup>. La apoptosis ocasionada por la toxina T-2 fue evidenciada en líneas celulares como Vero y hepatocarcinogénicas de humano<sup>(28)</sup>. Aunado a eso, se ha reportado que la toxina T2 reduce los parámetros productivos, siendo la exposición a la toxina por vía oral la principal ruta de acceso al organismo<sup>(18)</sup>.

## **Efectos en sistema inmune**

En general la toxina T-2 tiene un efecto inmunodepresor de tipo tiempo/dosis-dependiente, ya sea altas concentraciones durante un corto periodo o bajas concentraciones de manera continua<sup>(29)</sup>. Se ha reportado la presencia de leucopenia que conlleva a un aumento en la susceptibilidad a infecciones secundarias (*Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp). Se ha relacionado también a la toxina T-2 con una disminución en la cantidad de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle e infección de la bolsa de Fabricio<sup>(18)</sup>. Además, se ha descrito que puede actuar como inmunoestimulante, al incrementar los niveles de IgA; esto relacionado con la activación anormal y transitoria de genes involucrados en la respuesta inflamatoria<sup>(26,27)</sup>. Se menciona también que puede alterar la maduración de las células presentadoras de antígeno modificando los niveles de anticuerpos por proliferación de linfocitos conduciendo a un aumento en la susceptibilidad ante agentes infecciosos<sup>(30)</sup>.

## **Efectos sobre sistema digestivo**

Aunque la toxina T-2 tiene una rápida absorción en tracto gastrointestinal y una eliminación aproximadamente de 80 a 90 %<sup>(19)</sup>, su toxicidad se efectúa principalmente durante la circulación enterohepática, y el efecto negativo que tiene sobre hígado es la disminución de la actividad enzimática necesaria para el metabolismo de sustancias tóxicas y la inducción de lipo-peroxidación, que como consecuencia resultará en la formación de radicales

libres<sup>(18,31,32)</sup>. Es importante mencionar que la alteración sobre mucosas será una característica evidente relacionada con el diagnóstico de una micotoxicosis causada por tricotecenos especialmente por toxina T-2, esto relacionado con el efecto cáustico propio de la toxina, y será visible particularmente en cavidad oral, observándose como lesiones dermonecroticas que irán de una coloración blanquecina al inicio de la exposición a una coloración negra en exposiciones crónicas. También podrán observarse lesiones necróticas en molleja, mucosa intestinal, proventrículo e hígado<sup>(33,34)</sup>.

### **Efecto en sistema nervioso y desempeño productivo**

El efecto sobre sistema nervioso se da por la inhibición de síntesis proteica, lo cual conlleva al aumento de la concentración del aminoácido triptófano, precursor de serotonina, aumentando a su vez la concentración de esta última, ocasionando así la activación de neuronas serotoninérgicas<sup>(18,35)</sup>. La presencia sinérgica de DON con toxina T-2 puede incrementar este efecto, y observarse anorexia, problemas locomotores y vómito<sup>(36,37)</sup>, debe considerarse también las lesiones presentes en cavidad oral, que contribuirán a la disminución de consumo, afectando así el peso corporal al final del ciclo, observándose además una deficiente uniformidad en la parvada<sup>(19,38,39)</sup>. En el caso de aves de postura se podrá observar una disminución en la producción de huevo, así como en la calidad del cascarón y la incubabilidad<sup>(38)</sup>.

## **Deoxynivalenol**

El Deoxynivalenol, también conocido como DON o vomitoxina, es una fusariotoxina común en aves de producción, las cuales pueden ser más resistentes que otras especies de consumo<sup>(24,21,40)</sup>. Deoxynivalenol, puede encontrarse en productos terminados como pasta, pan, galletas y cerveza. Aunque se considera como una micotoxina teratogénica, no se ha clasificado como carcinogénica, mutagénica o genotóxica<sup>(41)</sup>.

### **Características y metabolismo**

DON es un compuesto estable polar orgánico con una alta resistencia a medios con pH ácido y altas temperaturas (hasta 180 °C). Contiene en su estructura tres grupos hidroxilo libres asociados a su toxicidad<sup>(42)</sup>. La menor susceptibilidad de las aves se ha relacionado con su bajo porcentaje de absorción intestinal, el cual es aproximadamente del 5 al 20 %, mientras que su excreción es de 78.6 a 98.5 % principalmente por vía biliar, en un periodo de 24 a 72 h<sup>(43,44)</sup>. En el caso de las aves, las principales vías metabólicas de DON son sulfatación, glucoronidación y de-epoxidación<sup>(45)</sup>. Cuando DON es metabolizado a través de procesos de acetilación se obtendrán compuestos como 3-acetil-DON y 15-acetil-DON, los cuales también pueden ser encontrados en los alimentos, y su importancia radica en que pueden

revertir con facilidad a DON recuperando su toxicidad<sup>(46)</sup>. Otros compuestos derivados de deoxinivalenol son DON- 3- glucósido, así como compuestos enmascarados que han cobrado importancia por su capacidad de recirculación en el organismo, recuperando su característica de toxicidad; además se han reconocido con la capacidad de producir efectos tóxicos mixtos, ocasionando efectos adversos en el bienestar animal y productividad<sup>(15,47,48)</sup>.

### **Inhibición de síntesis proteica**

La inhibición en la síntesis proteica se dará cuando DON forma una unión a través de la unión de su grupo epóxido con la fracción 60s ribosomal, ocasionando una alteración en la unión de ésta con la fracción 40s, impidiendo la traducción del RNA mensajero e impidiendo la unión de aminoácidos a la cadena polipeptídica, ya sea en la elongación o durante la terminación de la síntesis proteica, generando además un incremento en la cantidad de polirribosomas (80s), ya que se inhibe el desacoplamiento de RNA mensajero y la liberación de la cadena peptídica<sup>(46)</sup>. También se ha descrito que puede alterar la actividad de la enzima peptidil transferasa ribosomal mediante la formación de enlaces peptídicos entre los aminoácidos<sup>(46,49)</sup>. Cabe mencionar que los cambios en la conformación de los ribosomas pueden inducir una respuesta al estrés conllevando así a una activación de proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs)<sup>(50)</sup>.

### **Efecto sobre sistema inmune**

Se ha observado un incremento en la concentración de IgA sérica, la cual se ha relacionado con la inhibición de la síntesis proteica de componentes proteicos necesarios para el transporte de IgA hacia sistema hepatobiliar<sup>(11)</sup>. Alteraciones en la inmunidad humoral a causa de una intoxicación por DON se han determinado mediante la evaluación de la respuesta hacia la vacunación, principalmente contra virus de la enfermedad de Newcastle y virus de bronquitis infecciosa, observándose una disminución en los títulos de anticuerpos. En el caso de la inmunidad celular se ha observado principalmente la inducción de apoptosis en células leucocitarias como linfocitos T, B y macrófagos, así como la alteración de la activación de linfocitos T CD4 y CD8 a CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, además de una reducción en la concentración sérica de TNF-  $\alpha$ <sup>(51)</sup>. DON tiene la capacidad de alterar la expresión de genes que codifican para la producción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas<sup>(52)</sup>. Esto se ha relacionado además con la activación de genes que codifican también para la activación de la ciclo-oxigenasa-2 (COX-2) y del Factor nuclear Kappa de células B activadas (NF-KB)<sup>(26)</sup>.

### **Efecto sobre salud intestinal**

Se sabe que el deoxinivalenol es un potente compuesto anoréxico y emético; esto debido a la alteración en la regulación de varias vías de señalización. Estas alteraciones pueden afectar

la secreción de hormonas anorexigénicas u orexigénicas, como la serotonina, liberada por las células enterocromafines o de Kulchitsky. Así también, se ha observado que el DON, al causar supresión severa de procesos de señalización de citocinas, genera la activación de citocinas proinflamatorias, afectando la señalización de la hormona de crecimiento por supresión de dos proteínas, las cuales son la subunidad ácido lábil hepática como factor de crecimiento tipo insulina y el factor de crecimiento tipo insulina I<sup>(52)</sup>. Se menciona, además, un aumento de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER) en jejunio, atribuido principalmente a la disminución de espacio entre las uniones estrechas y disminución de la permeabilidad paracelular a iones<sup>(53)</sup>.

### **Efecto de DON sobre productividad**

En el caso de gallinas de postura, se ha descrito que bajo una concentración de 2 a 3 mg DON/kg de alimento, se puede observar una ligera disminución en la producción de huevo; sin embargo, la fertilidad e incubabilidad pueden mantenerse sin alteraciones bajo esta misma concentración<sup>(45,46)</sup>. Es importante mencionar que de acuerdo a la dosis ingerida los efectos pueden variar, siendo así que con el consumo de altas concentraciones (5 a 10 mg/kg de alimento) de deoxinivalenol se puede observar diarrea, impidiendo que el animal asimile correctamente los nutrientes, retrasando su crecimiento y causando desuniformidad en la parvada<sup>(54-56)</sup>. En el caso del consumo de bajas concentraciones, se ha observado anorexia y retraso en el crecimiento<sup>(6,46)</sup>.

## **Fumonisinias**

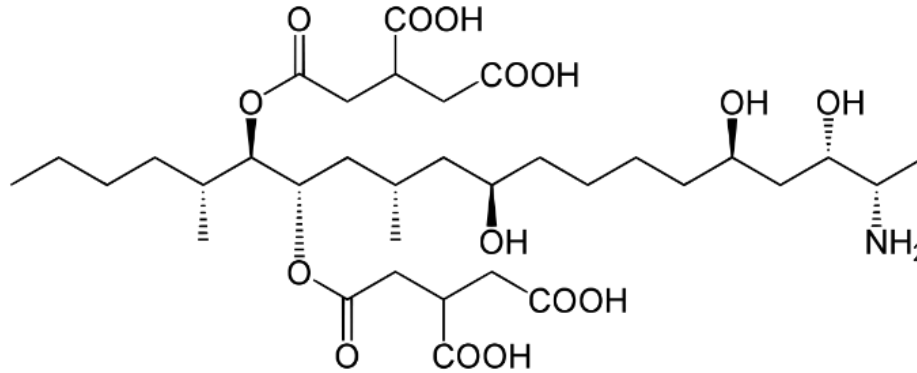
Las fumonisinas son un grupo de toxinas producidas por varias especies de hongos (Cuadro 1) dentro de los cuales los principales productores de fumonisinas son: *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*<sup>(57)</sup>. Estos hongos se van a encontrar como comunes contaminantes de sustratos como maíz, arroz, sorgo, cebada, cacahuate y algodón, donde su crecimiento óptimo será en temperaturas entre 22.2 a 27.5 °C con un AW de 0.97- 0.98 para la producción de la toxina<sup>(58-60)</sup>.

### **Características principales y metabolismo**

Existen seis tipos de fumonisinas, la B1, B2, B3, B4, A1 y A2 (Cuadro 3); sin embargo, las más importantes por su nivel de incidencia y toxicidad son las B1 y B2. La estructura básica de las fumonisinas consiste en una alquilamina de 20 carbonos, con uno o dos grupos hidroxilo y uno o más grupos metilo o ácido tricarbálico esterificado<sup>(61)</sup>. Las fumonisinas son compuestos polares solubles en agua y en compuestos orgánicos como el metanol y el acetonitrilo, pero son insolubles en compuestos no polares, lo cual a su vez facilita su eliminación del organismo<sup>(6)</sup>. En el caso de las aves, actualmente se sabe que, al igual que

los cerdos, también se generan derivados acetilados o hidrolizados (HFB1) como producto de la acetilación posterior a la hidrólisis, esto como parte de los mecanismos de toxicidad asociados a su metabolismo en el organismo<sup>(62-65)</sup>.

**Cuadro 3:** Estructura química básica de las fumonisinas B1, B2, B3 y B4



Fumonisina B1	R1=OH; R2=OH; R3=OH
Fumonisina B2	R1=OH; R2=OH; R3=H
Fumonisina B3	R1=H; R2=OH; R3=OH
Fumonisina B4	R1=H; R2=OH; R3=H

Adaptado de <sup>(66, 96-98)</sup>.

### Mecanismo de acción de las fumonisinas

El mecanismo de acción de las fumonisinas, se basa en la interferencia en el metabolismo de los esfingolípidos por inhibición competitiva con la esfinganina procedente de la síntesis *de novo* y la esfingosina procedente del *turnover* de esfingolípidos, generando un cúmulo de bases esfingoides, bloqueando la síntesis de esfingolípidos complejos, mediante la inhibición de la enzima ceramida sintasa<sup>(15,66,67)</sup>. Además, la esfingosina y esfinganina tienen efectos proapoptóticos, citotóxicos e inhibidores del crecimiento<sup>(68)</sup>. Los esfingolípidos pueden actuar como primeros y segundos mensajeros en una variedad de vías de señalización, además de tener una función vital en la formación de microdominios de membrana denominados *rafts* lipídicos<sup>(69)</sup>. La ceramida está implicada en los procesos de diferenciación, senescencia y muerte celular. La esfingosina 1- fosfato (S1-P) en cambio, promueve la supervivencia y proliferación celular<sup>(66,67)</sup>. La consecuencia inmediata de la inhibición de la ceramida sintasa es la acumulación de la base esfingoidea que funciona de sustrato, la (Sa) esfinganina y en menor grado de (So) esfingosina<sup>(66)</sup>. El hígado y los riñones son los principales órganos blanco, aunque se ha observado variaciones en función de la especie, de la dosis y del sexo<sup>(70-74)</sup>. El tracto gastrointestinal también puede ser un órgano blanco de las fumonisinas; puesto que los glicosfingolípidos se ligan a los sitios para patógenos microbianos y sus toxinas, mediante la inhibición de la ceramida sintasa en el tracto digestivo puede alterar la expresión de los sitios de unión de los glicosfingolípidos o el transporte de



toxinas microbianas, y consecuentemente la sensibilidad de los animales a los agentes infecciosos<sup>(17)</sup>.

Se han reportado los distintos efectos de las fumonisinas en las diferentes especies productivas, y se ha observado que pueden variar desde alteraciones en variables productivas hasta cambios en parámetros bioquímicos y respuesta inmune.

### **Efecto sobre parámetros productivos**

Aunque el efecto negativo sobre la productividad se ha observado generalmente en altas concentraciones, se ha reportado que también en concentraciones alrededor de 5 ppm puede ocasionar baja uniformidad en los parámetros productivos, principalmente sobre peso corporal al final del ciclo en pollo de engorda<sup>(75)</sup>.

### **Alteraciones morfológicas y en bioquímica sanguínea**

Las alteraciones morfológicas que se han observado en el caso de aves de producción son disminución o incremento de peso relativo en órganos (corazón, hígado, bazo, bolsa de Fabricio, proventrículo)<sup>(76-78)</sup>, hidropericardio, hígado graso o hígado friable, hiperplasia de conductos biliares, degeneración y necrosis cardiaca y pérdida de tonicidad en molleja y proventrículo<sup>(77,79)</sup>. Asimismo, se ha observado un incremento en los valores de calcio sérico y colesterol y disminución en los valores de enzimas hepáticas (aspartato amino transferasa, alanino amino transferasa, lactato deshidrogenasa,  $\gamma$  glutamil transferasa), sugiriendo así una lesión en el metabolismo hepático<sup>(80,81)</sup>.

### **Efecto sobre la respuesta inmune**

Dentro de las lesiones que se han observado como parte del daño de las fumonisinas hacia el sistema inmune en aves, se describen hemorragias, infiltraciones leucocitarias, infiltración grasa, lesiones necróticas, fibrosis en hígado, riñones, pulmón, corazón, intestino, molleja, bolsa de Fabricio y páncreas, así como edema y hemorragias en cerebro. También se ha observado atrofia cortical en timo, necrosis hepática multifocal e hiperplasia biliar conllevando así a una depleción linfoide<sup>(82)</sup>. Por otra parte, se puede llegar a presentar una reducción en el tamaño del bazo junto con depleción de pulpa blanca, adelgazamiento de miocitos cardiacos, depleción celular linfoide en los folículos de la bolsa y nefrosis tubular renal en dosificaciones que sobrepasen los 150 mg/kg de alimento<sup>(83-85)</sup>. Los estudios realizados sobre el efecto de las fumonisinas han sido realizados utilizando altas concentraciones de fumonisina; sin embargo, se ha reportado que en promedio se ha encontrado una concentración de entre 3 y 5 mg/kg de fumonisina B1 en los principales componentes de las dietas destinadas a la alimentación animal como lo es el maíz<sup>(86)</sup>.

## Zearalenona

La zearalenona (previamente conocida como toxina F-2) es una fusariotoxina de tipo estrogénica no esterooidal (principalmente en cerdos), hematotóxica y genotóxica (roedores). Los principales hongos productores de zearalenona son *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. roseum*., necesitando para su crecimiento temperaturas de entre 21 a 25 °C y un AW de 0.87 aproximadamente para la producción de la toxina. Particularmente se puede encontrar contaminando maíz, cebada, arroz y soya, además de productos terminados como harinas y cerveza<sup>(87)</sup>. En el caso de aves, se considera que se requiere del consumo de una alta concentración para observar efectos negativos sobre la producción; en todo caso, se ha descrito que en aves las especies más susceptibles son pavos y patos, así como sucede en otras micotoxinas<sup>(88)</sup>.

### Metabolismo y estructura química

Las características con las que consta la zearalenona le permiten ser un compuesto de rápida biotransformación y excreción. Esto favorece el que no sea fácil encontrar presencia de zearalenona en productos avícolas<sup>(89)</sup>. La zearalenona tiene un porcentaje de absorción por tracto digestivo de aproximadamente 10 % en aves, y un alto porcentaje de eliminación tanto de zearalenona como de sus metabolitos de conjugación (aproximadamente de 65 %)<sup>(90,91)</sup>. La estructura de la zearalenona se compone de un anillo de lactona resorcíclica al igual que su principal derivado, el zearalenol ( $\alpha$ -zearalenol), que será un derivado con mayor grado de toxicidad que la zearalenona. En el caso de aves, las principales vías participantes en el metabolismo de la zearalenona son la sulfatación y la glucoronidación<sup>(6)</sup>.

### Mecanismo de acción

El principal mecanismo de acción utilizado por esta micotoxina, es la disrupción en metabolismos endócrinos, esto lo realiza mediante la interacción con los receptores estrogénicos nucleares (ER), con efecto directo sobre la transcripción (que es estrógeno dependiente) en el núcleo (mecanismos de competitividad con los mismos estrógenos); aunque la estructura de la zearalenona no es semejante a la de los estrógenos, puede ubicar un grupo OH perteneciente a su anillo de lactona, en una posición ventajosa para su interacción con los receptores de estrógenos<sup>(92)</sup>.

### Alteraciones producidas por zearalenona en aves

En el caso de los gallos puede observarse una reducción de tamaño de los testículos que de manera microscópica pueden manifestar degeneración grasa y atrofia del epitelio germinal.

Finalmente, los parámetros productivos también pueden observarse disminuidos, relacionados con una disminución en el consumo de alimento<sup>(93)</sup>.

## Conclusiones

Es importante correlacionar los efectos producidos de manera experimental, que generalmente se basan en el uso de concentraciones mucho más elevadas que las encontradas de manera natural en el alimento, y generalmente de forma continua por largos periodos, y no subestimar la presencia de más de una micotoxina que puede potenciar el efecto individual de cada una de ellas. Se debe tomar en cuenta además que en el caso de las aves se pueden observar diferentes vías de absorción, distribución y metabolismo de las toxinas que en otras especies. Como ya se describió, las fusariotoxinas pueden conllevar a grandes pérdidas económicas en la producción, ya sea por la alteración sobre parámetros productivos o su efecto alterno sobre la integridad intestinal y respuesta inmune, por lo tanto, es necesario realizar un correcto diagnóstico si se sospecha de presencia de micotoxinas en el alimento.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Literatura citada:

1. Mallmann CA, Hummes R, Giacomini L. Factores de formación de las micotoxinas y sus formas de control. Engormix; 2007; <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/factores-formacion-micotoxinas-sus-t27383.htm>. Consultado 10 Jul, 2023.
2. Rojas JL, Gutiérrez R, Orantes MA, Manzur A. Contaminación por micotoxinas de la leche y derivados lácteos. Quehacer Científico en Chiapas 2017;12(1):90-103.
3. Placinta C, D'Mello JF, Macdonald A. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. Anim Feed Sci Technol 1999;78(1-):21-37.
4. Antonissen G, Croubels S, Pasmans F, Ducatelle R, Eeckhaut V, Devreese M, *et al.* Fumonisin affect the intestinal microbial homeostasis in broiler chickens, predisposing to necrotic enteritis. Vet Res 2015;46(1):98.
5. Gimeno A, Martins ML. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. Special Nutrients. Florida 2011;50-53.
6. Guerre P. Fusariotoxins in avian species: Toxicokinetics, metabolism and persistence in tissues. Toxins 2015;7(6):2289-2305.

7. Chen SS, Li YH, Lin MF. Chronic exposure to the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol: Impact on performance, immune organ, and intestinal integrity of slow-growing chickens. *Toxins* 2017;9(10):334.
8. Springler A, Vrabel GM, Mayer E, Schatzmayr G, Novak B. Effect of Fusarium-derived metabolites on the barrier integrity of differentiated intestinal porcine epithelial cells (IPEC-J2). *Toxins* 2016;8(11):345.
9. Ekwomadu TI, Akinola SA, Mwanza DM. Fusarium mycotoxins, their metabolites (free, emerging, and masked), food safety concerns, and health impacts. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18(22):11741.
10. Lessard M, Savard C, Deschene K, Lauzon K, Pinilla VA, Lapointe J, Guay F, Chorfi Y. Impact of deoxynivalenol (DON) contaminated feed on intestinal integrity and immune response in swine. *Food Chem Toxicol* 2015;80:7-16.
11. Čonková E, Laciakova A, Kováč G, Seidel H. Fusarial toxins and their role in animal diseases. *Vet J* 2003;165(3):214-220.
12. Cope RB. Trichothecenes, in *Veterinary Toxicology*. 2018, Elsevier; 2018:1043-1053.
13. Brake J, Hamilton P, Kittrell R. Effects of the trichothecene mycotoxin diacetoxyscirpenol on feed consumption, body weight, and oral lesions of broiler breeders. *Poult Sci* 2000;79(6):856-863.
14. Eriksen GS, Pettersson H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Anim Feed Sci Technol* 2004;114(1-4):205-239.
15. Bertero A, Moretti A, Spicer LJ, Caloni F. Fusarium molds and mycotoxins: Potential species-specific effects. *Toxins* 2018;10(6):244.
16. Wu Q, Dohnal V, Huang L, Kuča K, Yuan Z. Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug Metab Rev* 2010;42(2):250-267.
17. Soriano del Castillo JM. *Micotoxinas en alimentos*. 1a ed. España. Ediciones Díaz de Santos; 2007.
18. Sokolović M, Garaj-Vrhovac V, Šimpraga B. T-2 toxin: incidence and toxicity in poultry. *Arh Hig Rada Toksikol* 2008;59(1):43-52.
19. Li SJ, Zhang G, Xue B, Ding Q, Han L, Huang JC, Wu F, Li C, Yang C. Toxicity and detoxification of T-2 toxin in poultry. *Food Chem Toxicol* 2022;113392.

20. Eskola M, Kos G, Elliott CT, Hajšlová J, Mayar S, Krska R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2020;60(16):2773-2789.
21. Kulcsár S, Kövesi B, Balogh K, Zándoki E, Ancsin Z, Erdélyi M, Mézes M. The co-occurrence of t-2 toxin, deoxynivalenol, and fumonisin b1 activated the glutathione redox system in the eu-limiting doses in laying hens. *Toxins* 2023;15(5):305.
22. Bryden WL. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim Feed Sci Technol* 2012;173(1-2):134-158.
23. Mokubedi SM, Phoku JZ, Changwa NR, Gbashi S, Njobeh, PB. Analysis of mycotoxins contamination in poultry feeds manufactured in selected provinces of South Africa using UHPLC-MS/MS. *Toxins* 2019;11(8):452.
24. Harčárová M, Nad' P. Incidence of trichothecenes deoxynivalenol and t-2 toxin in poultry feed mixtures. *Folia Vet* 2023;67(2):18-23.
25. Shar ZH, Shar HH, Jatoi A, Sherazi STH, Mahesar SA, Khan E, Phanwar QK. Natural co-occurrence of Fusarium toxins in poultry feed and its ingredients. *JCF* 2020;15:341-350.
26. Pestka JJ, Zhou HR, Moon Y, Chung YJ. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. *Toxicol Lett* 2004;153(1):61-73.
27. Jaradat ZW. T-2 mycotoxin in the diet and its effects on tissues. In: *Reviews in food and nutrition toxicity*. 1a ed. Florida, USA: CRC Press Taylor & Francis Group; 2005;173-212.
28. Bouaziz C, El Golli E, Abid-Essefi S, Brenner C, Lemaire C, Bacha H. Different apoptotic pathways induced by zearalenone, T-2 toxin and ochratoxin A in human hepatoma cells. *Toxicol* 2008;254(1-2):19-28.
29. Corrier D. Mycotoxicosis: mechanisms of immunosuppression. *Vet Immunol Immunopathol* 1991;30(1):73-87.
30. Nagata T, Suzuki H, Ishigami N, Shinozuka J, Uetsuka K, Nakayama H, Doi K. Development of apoptosis and changes in lymphocyte subsets in thymus, mesenteric lymph nodes and Peyer's patches of mice orally inoculated with T-2 toxin. *Exp Toxicol Pathol* 2001;53(4):309-315.
31. Broekaert N, Devreese M, De Boevre M, De Saeger S, Croubels S. T-2 toxin-3 $\alpha$ -glucoside in broiler chickens: Toxicokinetics, absolute oral bioavailability, and *in vivo* hydrolysis. *J Agric Food Chem* 2017;65(23):4797-4803.

32. Grizzle JM, Kersten DB, Houston AE, Saxton AM. Effect of chronic vs intermittent exposure to t-2 toxin on reproductive. *Int J Poult Sci* 2005;4(2):71-75.
33. Patil RD, Sharma R, Asrani RK. Mycotoxicosis and its control in poultry: A review. *J Poultry Sci Technol* 2014;2(1):1-10.
34. Edrington TS, Kubena LF, Harvey RB, Rottinghaus G. Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. *Poult Sci* 1997;76(9):1205-1211.
35. Wyatt RD, Colwell WM, Hamilton PB, Burmeister HR. Neural disturbances in chickens caused by dietary T-2 toxin. *Appl Microbiol* 1973;26(5):757-761.
36. Osselaere A. Influence of deoxynivalenol and T-2 toxin on the intestinal barrier and liver function in broiler chickens. [doctoral thesis]. Ghent, Belgium: Ghent University 2013.
37. Escrivá L, Font G, Manyes L. *In vivo* toxicity studies of fusarium mycotoxins in the last decade: A review. *Food Chem Toxicol* 2015;78:185-206.
38. Tobias S, Rajic I, Vanyi A. Effect of T-2 toxin on egg production and hatchability in laying hens. *Acta Vet Hung* 1992;40(1-2):47-54.
39. Kubena LF, Huff WE, Harvey RB, Phillips TD, Rottinghaus GE. Individual and combined toxicity of deoxynivalenol and T-2 toxin in broiler chicks. *Poult Sci* 1989;68(5):622-626.
40. DSM. Dutch State Mines. DSM World Mycotoxin Survey. 2023; <https://www.dsm.com/anh/products-and-services/tools/mycotoxin-contamination/biomin-mycotoxin-survey.html>. Accessed 10 Jul, 2023.
41. Zhou H, Guog T, Dai H, Yu Y, Zhang Y, Ma L. Deoxynivalenol: Toxicological profiles and perspective views for future research. *World Mycotoxin J* 2020;13(2):179-188.
42. Smith MC, Timmins-Schiffman E, Coton M, Coton E, Hymery N, Nunn BL. Differential impacts of individual and combined exposures of deoxynivalenol and zearalenone on the HepaRG human hepatic cell proteome. *J Proteomics* 2018;173:89-98.
43. Grenier B, Applegate TJ. Modulation of intestinal functions following mycotoxin ingestion: Meta-analysis of published experiments in animals. *Toxins* 2013;5(2):396-430.
44. Sun Y, Jiang, J, Mu P, Lin R, Wen J, Deng Y. Toxicokinetics and metabolism of deoxynivalenol in animals and humans. *Arch Toxicol* 2022;96(10):2639-2654.

45. Awad W, Ghareeb K, Böhm J, Zentek J. The toxicological impacts of the Fusarium mycotoxin, deoxynivalenol, in poultry flocks with special reference to immunotoxicity. *Toxins* 2013;5(5):912-925.
46. Awad WA, Ghareeb K, Bohm J, Razzazi E, Hellweg P, Zentek J. The impact of the Fusarium toxin deoxynivalenol (DON) on poultry. *Int J Poult Sci* 2008;7(9):827-842.
47. Ji J, Zhang D, Ye J, Zheng Y, Cui J, Sun X. Mycotoxin DB: a data-driven platform for investigating masked forms of mycotoxins. *J Agric Food Chem* 2023;71(24):9501-9507.
48. Singh K, Kumari A. Masked and new mycotoxins. In: *Mycotoxins and mycotoxicoses*. USA: Springer; 2022:137-144.
49. Goyarts T, Grove N, Dänicke S. Effects of the Fusarium toxin deoxynivalenol from naturally contaminated wheat given subchronically or as one single dose on the *in vivo* protein synthesis of peripheral blood lymphocytes and plasma proteins in the pig. *Food Chem Toxicol* 2006;44(12):1953-1965.
50. Awad WA, Aschenbach JR, Setyabudi FMCS, Razzazi-Fazeli E, Böhm J, Zentek J. *In vitro* effects of deoxynivalenol on small intestinal D-glucose uptake and absorption of deoxynivalenol across the isolated jejunal epithelium of laying hens. *Poult Sci* 2007;86(1):15-20.
51. Yunus AW, Blajet-Kosicka A, Kosicky R, Khan MZ, Rehman H, Böhm J. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Intestinal development, absorptive functionality, and metabolism of the mycotoxin. *Poult Sci* 2012;91(4):852-861.
52. Pinton P, Oswald IP. Effect of deoxynivalenol and other Type B trichothecenes on the intestine: A review. *Toxins* 2014;6(5):1615-1643.
53. Pinton P, Nougayréde JP, Del Río JC, Moreno C, Marin DE, Ferrier L, Bracarense AP, Kolf-Clauw M, Oswald IP. The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal barrier permeability and reduces claudin expression. *Toxicol. Appl Pharmacol* 2009;237(1):41-48.
54. Ghareeb K, Awad WA, Böhm J. Ameliorative effect of a microbial feed additive on infectious bronchitis virus antibody titer and stress index in broiler chicks fed deoxynivalenol. *Poult Sci* 2012;91(4):800-807.
55. Dersjant-Li Y, Verstegen MW, Gerrits WJ. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. *Nutr Res Rev* 2003;16(2):223-239.


56. Awad WA, Böhm J, Razzazi- Fazeli E, Zentek J. Effects of feeding deoxynivalenol contaminated wheat on growth performance, organ weights and histological parameters of the intestine of broiler chickens. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2006;90(1-2):32-37.
57. Gimeno A, Martins ML. *Mycotoxins and mycotoxicosis in animals and humans*. 2a ed. Miami, Florida USA: Special Nutrients; 2011.
58. Kamle M, Mahato DK, Devi S, Lee KE, Kang SG, Kumar P. Fumonisin: Impact on agriculture, food, and human health and their management strategies. *Toxins* 2019;11(6):328.
59. Marin S, Magan N, Belli N, Ramos AJ, Canela R, Sanchis V. Two-dimensional profiles of fumonisin B1 production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in relation to environmental factors and potential for modelling toxin formation in maize grain. *Int J Food Microbiol* 1999;51(2-3):159-167.
60. Samapundo S, Devlieghere F, De Meulenaer B, Debevere J. Effect of water activity and temperature on growth and the relationship between fumonisin production and the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on corn. *J Food Prot* 2005; 68(5):1054-1059.
61. Todorova KS, Krill AI, Dimitrov PS, Gardeva EG, Toshkova RA, Tasheva YR, *et al.* Effect of fumonisin B1 on lymphatic organs in broiler chickens-pathomorphology. *Bull Vet Inst Pulawy* 2011;55:801-805.
62. Masching S, Naehrer K, Schawartz-Zimmermann HE, Sárándan M, Schaumberger S, Dohnal I, Nagl V, Schatzmayr. Gastrointestinal degradation of fumonisin B1 by carboxylesterase FumD prevents fumonisin induced alteration of sphingolipid metabolism in turkey and swine. *Toxins* 2016;8(3):84.
63. Gu MJ, Han SE, Hwang K, Mayer E, Reisinger N, Schatzmayr D, Park BC, Han SH, Yun CH. Hydrolyzed fumonisin B1 induces less inflammatory responses than fumonisin B1 in the co-culture model of porcine intestinal epithelial and immune cells. *Toxicol Lett* 2019;305:110-116.
64. Grenier B, Schwartz- Zimmermann, HE, Gruber-Dorninger C, Dohnal I, Aleschko M, Schatzmayr G, Moll WD, Applegate TJ. Enzymatic hydrolysis of fumonisins in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Poult Sci* 2017;96(12):4342-4351.
65. Antonissen G, De Baere S, Novak B, Schatzmayr D, Den Hollander D, Devreese M, Croubels S. Toxicokinetics of hydrolyzed fumonisin B1 after single oral or intravenous bolus to broiler chickens fed a control or a fumonisins-contaminated diet. *Toxins* 2020;12(6):413.




66. Voss K, Smith G, Haschek W. Fumonisin: toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim Feed Sci Technol* 2007;137(3-4):299-325.
67. Desai K, Sullards MC, Allegood J, Wang E, Schmelz EM. Fumonisin and fumonisin analogs as inhibitors of ceramide synthase and inducers of apoptosis. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2002;1585(2-3):188-192.
68. Wang GH, Xue CY, Chen F, Ma YL, Zhang XB, Bi YZ, Cao YC. Effects of combinations of ochratoxin A and T-2 toxin on immune function of yellow-feathered broiler chickens. *Poult Sci* 2009;88(3):504-510.
69. Futerman AH, Hannun YA. The complex life of simple sphingolipids. *EMBO Rep* 2004;5(8):777-782.
70. Wangia-Dixon RN, Nishimwe K. Molecular toxicology and carcinogenesis of fumonisins: A review. *J Environ Sci Health Toxicol* 2020;39(1):44-67.
71. Weibking TS, Ledoux DR, Brown TP, Rottinghaus GE. Fumonisin toxicity in turkey poults. *J Vet Diagn Invest* 1993;5(1):75-83.
72. Riley RT, Voss KA. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. *Toxicol Sci* 2006;92(1):335-345.
73. Enongene EN, Sharma RP, Bhandari N, Voss KA, Riley RT. Disruption of sphingolipid metabolism in small intestines, liver and kidney of mice dosed subcutaneously with fumonisin B1. *Food Chem Toxicol* 2000;38(9):793-799.
74. Guerre P, Gilleron C, Matard-Mann M, Nyvall-Collén P. Targeted sphingolipid analysis in heart, gizzard, and breast muscle in chickens reveals possible new target organs of fumonisins. *Toxins* 2022;14(12):828.
75. Uribe J. Efecto de la fumonisin B1 sobre la respuesta inmune celular y variables productivas en el pollo de engorda. [Tesis Licenciatura]. Estado de México, México. Universidad Nacional Autónoma de México; 2015.
76. Miazzo R, Peralta MF, Magnoli C, Salvano M, Ferrero S, Chiacchiera SM, *et al.* Efficacy of sodium bentonite as a detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. *Poult Sci* 2005;84(1):1-8.
77. Tessari ENC, Oliveira CAFD, Cardoso ALSP, Ledoux DR, Rottinghaus GE. Effects of aflatoxin B1 and fumonisin B1 on body weight, antibody titres and histology of broiler chicks. *Br Poult Sci* 2006;47(3):357-364.

78. Broomhead JN, Ledoux DR, Bermudez AJ, Rottinghaus GE. Chronic effects of fumonisin B1 in broilers and turkeys fed dietary treatments to market age. *Poult Sci* 2002;81(1):56-61.
79. Javed T, Bunte RM, Dombrink-Kutzman MA, Richard JL, Bennett GA, Côté LM, Buck WB. Comparative pathologic changes in broiler chicks on feed amended with *Fusarium proliferatum* culture material or purified fumonisin B1 and moniliformin. *Mycopathology* 2005;159:553-564.
80. Javed T, Dombrink-Kurtzman MA, Richard JL, Bennett GA, Côté LM, Buck WB. Serohematologic alterations in broiler chicks on feed amended with *Fusarium proliferatum* culture material or fumonisin B1 and moniliformin. *J Vet Diagn Invest* 1995;7(4):520-526.
81. Rauber RH, Oliveira MS, Mallmann AO, Dilkin P, Mallmann CA, Giacomini LZ, Nascimento VP. Effects of fumonisin B1 on selected biological responses and performance of broiler chickens. *Pesq Vet Bras* 2013;33:1081-1086.
82. Tardieu D, Travel A, Le Bourhis C, Metayer JP, Mika A, Cleva D, Boissieu C, Guerre P. Fumonisin and zearalenone fed at low levels can persist several days in the liver of turkeys and broiler chickens after exposure to the contaminated diet was stopped. *Food Chem Toxicol* 2021;148:111968.
83. Todorova KS, Kril AI, Dimitrov PS, Gardeva EG, Toshkova RA, Tasheva YR, Petrichev MH, Russev RV. Effect of fumonisin B1 on lymphatic organs in broiler chickens-pathomorphology. *Bull Vet Inst Pulawy* 2011;55:801-805.
84. Ledoux DR, Brown TP, Weibking TS, Rottinghaus GE. Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J Vet Diagn Invest* 1992;4(3):330-333.
85. Weibking TS, et al. Effects of feeding *Fusarium moniliforme* culture material, containing known levels of fumonisin B1, on the young broiler chick. *Poult Sci* 1993;72(3):456-466.
86. Robledo-Marengo ML. Rojas-García AE, Medina-Díaz IM, Barrón-Vivanco BS, Romero-Bañuelos CA, Rodríguez-Cervantes CH, Girón-Pérez MI. Micotoxinas en Nayarit, México: Estudio de casos. *Rev Bio Cienc* 2013;2(1).
87. Zheng W, Feng N, Wang Y, Noll L, Xu S, Liu X, et al. Effects of zearalenone and its derivatives on the synthesis and secretion of mammalian sex steroid hormones: A review. *Food Chem Toxicol* 2019;126:262-276.
88. Liu J, Applegate T. Zearalenone (ZEN) in livestock and poultry: Dose, toxicokinetics, toxicity and estrogenicity. *Toxins* 2020;12(6):377.

89. Wu K, Ren C, Gong Y, Gao X, Rajput SA, Qi D, Wang S. The insensitive mechanism of poultry to zearalenone: A review. *Anim Nutr* 2021;7(3):587-594.
90. Yang S, Zhang H, Sun F, De Ruyck K, Zhang J, Jin Y, *et al.* Metabolic profile of zearalenone in liver microsomes from different species and its *in vivo* metabolism in rats and chickens using ultra high-pressure liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 2017;65(51):11292-11303.
91. Osselaere A, Devreese M, Goossens J, Vandenbroucke V, De Baere S, De Backer P, Croubels S. Toxicokinetic study and absolute oral bioavailability of deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone in broiler chickens. *Food Chem Toxicol* 2013;51:350-355.
92. Devreese M, Antonissen G, Broekaert N, De Baere S, Vanhaecke L, De Backer P, Croubels S. Comparative toxicokinetics, absolute oral bioavailability, and biotransformation of zearalenone in different poultry species. *J Agric Food Chem* 2015;63(20):5092-5098.
93. Guo S, Li C, Liu D, Guo Y. Inflammatory responses to a *Clostridium perfringens* type a strain and  $\alpha$ -toxin in primary intestinal epithelial cells of chicken embryos. *Avian Pathol* 2015;44(2):81-91.
94. D'mello J, Placinta C, Macdonald A. *Fusarium* mycotoxins: A review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim Feed Sci Technol* 1999;80(3-4):183-205.
95. Oswald IP, Marin DE, Bouhet S, Pinton P, Taranu I, Accensi FJFA. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. *Food Addit Contam* 2005;22(4):354-360.
96. Blackwell BA, Edwards OE, Fruchier A, ApSimon JW, Miller JD. NMR structural studies of fumonisin B1 and related compounds from *Fusarium moniliforme*. In: Jackson, LS, *et al*, editors. *Fumonisin in food. Advances in experimental medicine and biology*, Boston, USA: Springer; 1996;392:75-91.
97. Humpf HU, Voss KA. Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. *Mol Nutr Food Res* 2004;48(4):255-269.
98. Qu L, Wang L, Ji H, Fang Y, Lei P, Zhang X, Jin L, Sun D, Dong H. Toxic mechanism and biological detoxification of fumonisins. *Toxins* 2022;14(3):182.



## Contribución de gramíneas forrajeras a la fijación biológica de nitrógeno y su respuesta a la inoculación de diazótrofes. Revisión



Dania Fonseca López <sup>a</sup>

Nelson Vivas Quila <sup>b</sup>

Raúl Cuervo Mulet <sup>c</sup>

Carlos Eduardo Rodríguez Molano <sup>d\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Santo Tomás. Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología para el Desarrollo Sostenible. Tunja, Colombia.

<sup>b</sup> Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agrarias. Grupo de Investigación NUTRIFACA. Popayán, Colombia.

<sup>c</sup> Universidad de San Buenaventura. Facultad de Ingeniería. Cali, Colombia.

<sup>d</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia UPTC. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tunja, Colombia.

\* Autor de correspondencia: [carlos.rodriguez@uptc.edu.co](mailto:carlos.rodriguez@uptc.edu.co)

### Resumen:

El uso de insumos de origen químico ha generado pérdida de la diversidad microbiana que interviene en el ciclo del N como bacterias diazótrofes, que son inhibidas por saturación de los receptores encargados de activar la nitrogenasa. La fijación biológica de nitrógeno (FBN) en gramíneas forrajeras puede ser utilizada como servicio ecosistémico. El objetivo de este artículo de revisión fue analizar la contribución de gramíneas forrajeras a la FBN y su respuesta a la inoculación de diazótrofes no simbióticas para encontrar oportunidades de estudio. El análisis de la información se realizó a partir de la metodología prisma de revisiones sistemáticas y meta-análisis. Se destaca que las principales especies forrajeras que contribuyen con la FBN corresponden a *Brachiaria* sp. y *Pennisetum* sp. La inoculación de

*Azospirillum* sp. ha generado efecto promotor de crecimiento en gramíneas, pero, la respuesta del forraje inoculado depende principalmente de la sinergia entre planta – bacteria presentándose efectos neutros, antagonicos y positivos.

**Palabras clave:** Fertilización, Fijación nitrógeno, Forraje, Nitrogenasa, Pastos.

Recibido: 23/08/2023

Aceptado: 21/12/2023

## Introducción

En los sistemas ganaderos la alimentación de los animales resulta viable económicamente cuando la ración está conformada principalmente por forraje. Pero, es necesario producir pasto en un escenario ecoeficiente para compensar la huella ambiental ocasionada por la ganadería, teniendo en cuenta que en Colombia ocupa el 80 % del suelo con vocación agrícola<sup>(1)</sup>. Las estrategias propuestas incluyen el uso de especies forrajeras mejoradas, la diversificación del sistema<sup>(1)</sup> y el aprovechamiento de fenómenos naturales como la fijación biológica de nitrógeno (FBN)<sup>(2)</sup>. Este, es un proceso en que diazótrofes transforman nitrógeno (N) atmosférico en amonio a partir del complejo enzimático nitrogenasa, y aporta cerca del 62 % lo que equivale a 11.29 millones de toneladas (Mt) de nitrógeno al año que ingresa al ecosistema agrícola Latinoamericano, mientras que la fertilización química contribuye aproximadamente con 6.81 Mt N al año<sup>(3)</sup>. La FBN es un recurso que puede ser utilizado como herramienta tecnológica para reducir la aplicación de fertilizantes nitrogenados de origen sintético que tienen baja eficiencia (aproximadamente 40-50 %), y contribuyen con la emisión de gases efecto invernadero (amonio, amoníaco y el óxido nitroso)<sup>(4)</sup> y salinización del suelo<sup>(5)</sup>. Sin embargo, poco se conoce sobre el aporte de las gramíneas forrajeras a la FBN y las especies bacterianas con mejor efecto productivo. Por esto, el objetivo de este trabajo fue analizar la contribución de gramíneas forrajeras a la FBN, y su respuesta a la aplicación de biofertilizantes constituidos por bacterias diazótrofes no simbióticas puras, y en consorcio a partir de una revisión sistemática de literatura para encontrar oportunidades de estudio.

Se utilizó la metodología prisma de revisiones sistemáticas<sup>(6)</sup>, las bases de datos consultadas fueron Scopus y Web of Science; para la búsqueda de información se establecieron los siguientes criterios: a) especificidad, a partir del uso de operadores booleanos, b) sensibilidad, con descriptores CAB; c) exhaustividad, a través de la comprobación de los descriptores de interés. La estrategia de búsqueda fue a partir de las rutas: TITLE-ABS-KEY (“Biofertilizer”) y TITLE-ABS-KEY (“Biofertilizer and Grass”). Con la búsqueda general se encontraron en total 6,813 registros entre las bases Scopus (n=4,621) y Web of Science (n= 2,192). La

búsqueda se limitó a los conectores boléanos “Biofertilizer and Grass” a partir de los cuales se encontraron 128 registros (Scopus: 84 registros y Web of Science: 44 registros) que fueron importados al software Mendeley y se agruparon por años; el análisis se limitó al periodo 2012-2022 (n= 80 registros), luego se eliminaron los documentos duplicados (n= 2 registros). Se incluyeron en el análisis artículos donde se evaluó el efecto de la aplicación de biofertilizantes en forrajes o la contribución de nitrógeno fijado por estas plantas. Se excluyeron publicaciones con un título por fuera de la búsqueda de interés (n= 5) y con información únicamente descriptiva que no cumplían los criterios de inclusión (n= 13 registros). Cada registro se revisó de forma independiente por todos los autores para un total de 50 estudios incluidos dentro de la revisión. Se definieron como resultados del análisis: a) Nitrógeno fijado por gramíneas forrajeas, b) Biofertilizantes aplicados y su efecto en gramíneas forrajeras. Los datos de interés de estudio (Nitrógeno fijado y efecto en planta) fueron tabulados y agrupados por tema para medir su efecto. Se realizó un análisis de regresión no lineal con el número de los registros obtenidos a partir de los modelos sigmoideal 3,4, Gompertz 3, y Hill 3. Los modelos con mayor ajuste se seleccionaron de acuerdo con el valor de significancia y ajuste del coeficiente de determinación para establecer la tendencia global del área de interés.

### Fijación biológica de nitrógeno en gramíneas forrajeras

En esta revisión se identificó que la prueba de elección para determinar el nitrógeno fijado por gramíneas forrajeras es abundancia natural de  $^{15}\text{N}^{(7)}$ . En las principales investigaciones donde se reporta N fijado por forraje, se destaca que la tasa de fijación de N difiere entre especies (Cuadro 1). Esto tiene una relación directa con las poblaciones de bacterias diazótrofes que interactúan con cada tipo de forraje, en *Brachiaria* sp. se estima aproximadamente de  $10^2$  a  $10^8$  UFC  $\text{g}^{-1}$  suelo<sup>(8)</sup>. Mientras que en *Pennisetum* sp. se reporta que la población bacteriana diazótropa es de  $10^2$  a  $10^6$  UFC  $\text{g}^{-1}$  suelo<sup>(9)</sup>.

**Cuadro 1:** Algunos reportes de especies forrajeras que contribuyen con la fijación biológica de nitrógeno según análisis de revisión

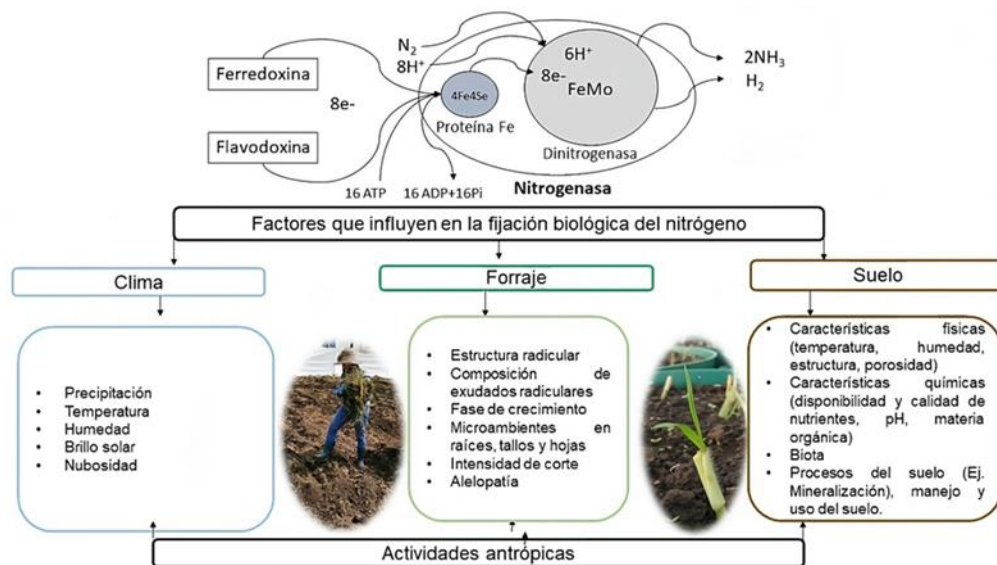
Cultivo	N fijado (%)	Fuente
<i>Aristida laevis</i>	36	Marques AC, <i>et al</i> <sup>(2)</sup>
<i>Pennisetum purpureum</i>	18-70	De-Morais RF, <i>et al</i> <sup>(10)</sup>
<i>Megathyrsus maximus</i> sp.	16 - 39	De-Carvalho EX, <i>et al</i> <sup>(11)</sup>
<i>Brachiaria</i> sp.	5.1 – 45	Leite RDC, <i>et al</i> <sup>(12)</sup>
<i>Miscanthus giganteus</i>	16	Leite RC, <i>et al</i> <sup>(13)</sup>

Fuente: elaborado a partir de citas indicadas.

Se encontró que los principales géneros bacterianos que persisten en rizosfera y tejido vegetal de *Brachiaria* sp., *Pennisetum* sp., *Megathyrsus* sp. y *Panicum* sp., corresponden a *Enterobacter* sp. (6 %)<sup>(10)</sup>, *Azospirillum* sp. (25 %)<sup>(12,13,14)</sup>, *Azotobacter* sp., *Bacillus* sp.

(14 %)<sup>(2,15)</sup>, *Herbaspirillum* sp. (11 %), *Burkholderia* sp. (8 %)<sup>(14)</sup>, *Bradyrhizobium* sp. (6 %), *Klebsiella* sp. (5 %)<sup>(11,16)</sup>, *Sphingomonas* sp. (4 %)<sup>(17)</sup>, otras (2 %). Aunque, su distribución en raíces, hojas y tallos varía por especie forrajera, localidad y tipo de suelo<sup>(18)</sup>. Estos microorganismos no causan modificaciones estructurales en la planta y están codificados con el gen *nifH*<sup>(4)</sup>. El proceso de FBN lo realizan en sitios con menor saturación de oxígeno para evitar la inactivación de la nitrogenasa, como en las arcillas o a través de la reducción en la concentración de oxígeno intracelular a partir del incremento en la respiración celular<sup>(19)</sup>. Durante la reacción, ocho electrones son bombeados a alta velocidad desde un agente donante (ferredoxina o flavodoxina) hacia el complejo enzimático nitrogenasa constituido por las metaloenzimas dinitrogenasa reductasa o proteína Fe codificada por el gen *nifH* y la metaloenzima dinitrogenasa codificada por los genes *nifD* y *nifK*<sup>(20)</sup>. La dinitrogenasa reductasa trasfiere cada electrón a la dinitrogenasa y son almacenados en el cofactor FeMo, sitio de unión del N hasta que es reducido a NH<sub>3</sub>, de este modo, se consumen 16 ATP y se producen 2 mol de amonio y 1 mol de H<sub>2</sub> por cada molécula de N fijada<sup>(21)</sup>. Como resultado de la revisión, se encontró que las diferencias en los rangos de nitrógeno fijado entre forrajes y especies del mismo género está determinada principalmente por los factores: planta, suelo, actividades antrópicas y clima (Figura 1).

**Figura 1:** Factores que influyen en la fijación biológica del N en gramíneas forrajeras



Fuente: elaborada a partir de las citas<sup>(2,5,11,18,21,22)</sup>.

### Efecto del clima en la FBN de forrajes

Aunque son escasos los estudios en los que se analiza el efecto del clima sobre el proceso de FBN, se destaca que la nubosidad influye negativamente en este proceso, por la menor disponibilidad de fotoasimilados que se producen en las hojas y se distribuyen hacia las raíces para la formación de rizoexudados<sup>(23)</sup>. La mayor producción de fotoasimilados parece tener

una relación directa con la persistencia de diazótrofos inoculados, lo que favorece su efecto; por ejemplo, con la aplicación de *Azospirillum brasilense* en *Urochloa brizantha* se ha observado que al comienzo de la estación seca en la cual incrementa la radiación solar, la masa de las raíces de plantas inoculadas fue un 27 % mayor que en plantas no inoculadas, y aunque durante la época de transición disminuyó la producción de pasto, en plantas inoculadas se redujo en solo 7 % y su altura incrementó un 16 % respecto a plantas no inoculadas, por la mayor absorción de nutrientes<sup>(12)</sup>. Respuestas similares se reportan con la aplicación de *Bacillus* sp. en *Megathyrus maximus*<sup>(24)</sup>.

Garantizar la persistencia de comunidades diazótroficas puede reducir la dependencia de fertilización nitrogenada<sup>(13)</sup>; sin embargo, en época lluviosa la fijación de N por efecto bacteriano puede disminuir quizás por el arrastre de los microorganismos<sup>(1, 9)</sup>. Esto puede explicar por qué se reporta que al final de la estación húmeda la biomasa radicular disminuye en 15 % en plantas inoculadas y se presenta menor contenido de N en las hojas respecto a plantas fertilizadas con N<sup>(12)</sup>.

En ambientes deficientes de N la FBN incrementa como una respuesta de control cuando hay bajas tasas de mineralización<sup>(4,25)</sup>. De este modo se reporta mayor N acumulado en otoño que en primavera por efecto de una menor temperatura en los forrajes *Axonopus affinis* (37.6 kg N ha<sup>-1</sup>), *Paspalum notatum* (27.7 kg N ha<sup>-1</sup>) y *Andropogon lateralis* (1.6 kg N ha<sup>-1</sup>) estimándose que en promedio el porcentaje de N proveniente de la FBN es de 33 %, 22 % y 25 % respectivamente<sup>(2)</sup>.

### **Efecto del suelo en la FBN de forrajes**

Las características del suelo también influyen en la FBN<sup>(22)</sup> destacan mayor diversidad de poblaciones diazótroficas en suelos con alta materia orgánica. La persistencia de estos microorganismos está modulada por el tipo y calidad de nutrientes en el suelo<sup>(22)</sup> explican, que los diazótrofos incrementan su actividad con presencia de hierro (Fe), molibdeno (Mo) y vanadio (V) debido a que estos elementos pueden intercambiarse para hacer parte de la estructura de la nitrogenasa. Esta enzima, al inactivarse con el oxígeno, requiere de micrositios anaerobios para catabolizar la fijación de nitrógeno, por esto, parece que en suelos arcillosos hay mayor movilización química, mineral, y eventualmente mayor FBN<sup>(21)</sup>.

### **Efecto de las actividades antrópicas en la FBN de forrajes**

El suelo es un sistema que se autorregula naturalmente, pero, cambios bruscos en sus características por actividades antrópicas de manejo (labranza, fertilización) y uso (pastos permanentes con y sin intervención, ganadería), causan desbalance en las comunidades bacterianas, ya que alteran la estructura de los poros, la disponibilidad de elementos, el



contenido de carbono orgánico y el pH, factores que determinan la riqueza, uniformidad y diversidad de microorganismos<sup>(2,22)</sup>.

La aplicación excesiva de Ca, nitrato y N durante la fertilización tiene un efecto negativo en las poblaciones diazótrofes<sup>(17)</sup>. La principal causa se relaciona con el pH del suelo<sup>(12,22)</sup>; variaciones en 1.5 del valor del pH del suelo puede reducir el crecimiento de los microorganismos hasta en 50 % en suelos con un pH entre 5 y 7<sup>(12,22)</sup>. Se reporta, la inhibición en el crecimiento de algunas poblaciones microbianas, como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum* y *Gluconoacetobacter diazotrophicus* con altas dosis de fertilización con N<sup>(2,10,26)</sup>, por ejemplo, con la aplicación de 430 kg N ha<sup>-1</sup> en *B.brizanta* y *B. ruziziensis*<sup>(27)</sup>. Sin embargo, el tipo y cantidad de fertilizante aplicado influye en la abundancia y diversidad de las poblaciones microbianas; se ha observado incremento de metanótrofos con aportes mayores de 200 µg N g<sup>-1</sup> de amoníaco al superarse el sitio activo del amonio monooxigenasa<sup>(28)</sup>. En general, la modificación estructural de la comunidad bacteriana es un mecanismo natural de control del estado de nitrógeno en el suelo<sup>(2)</sup>.

### **Efecto del factor planta en la FBN de forrajes**

Las características morfo fisiológicas de las gramíneas generan microambientes disímiles en hojas, tallos y raíces, que promueven el crecimiento selectivo de miembros de la población bacteriana durante la fase de crecimiento<sup>(4)</sup>. En la fase temprana, es mayor la actividad de poblaciones diazótrofes rizosféricas por incremento en las rizodeposiciones como mecanismo de recuperación de la planta posterior al pastoreo<sup>(13)</sup>. La interacción entre las bacterias diazótrofes y la planta, sucede a partir de las rizodeposiciones que incluyen varias moléculas como azúcares, polisacáridos, ácidos orgánicos inorgánicos, aminoácidos, vitaminas, flavonoides, sideróforos, péptidos, proteínas y ácidos grasos<sup>(29)</sup>. Estas señales químicas controlan las interacciones que suceden en el suelo y son las responsables de promover el crecimiento selectivo de miembros de la comunidad rizosférica y permiten el desplazamiento de las bacterias hacia la raíz de la planta y los pelos radiculares<sup>(24)</sup>. La diversa capacidad funcional de las bacterias diazótrofes permite modular la respuesta de crecimiento del forraje y generar interacciones positivas, negativas o neutras. A continuación, se discuten los principales hallazgos encontrados en relación con la respuesta de forraje con la inoculación de diazótrofes.

### **Biofertilizantes constituidos por diazótrofes que han sido utilizados en gramíneas**

A partir de 1985 se reportan los primeros estudios científicos en el área de biofertilizantes aplicados a forrajes, aunque históricamente es una práctica que data del año 500 A.C. originaria de la India, país que continúa liderando los avances científicos con un 30 % de

participación mundial seguido de Brasil (10 %) y China (8.8 %). En el área de biofertilizantes aplicados en forrajes se destacan autores como Gupta *et al*<sup>(4)</sup>, Li H *et al*<sup>(15)</sup> y De Sousa *et al*<sup>(30)</sup>. Se estima un rápido crecimiento en el área con un punto de inflexión para el año 2034 (Cuadro 2), proyección que muestra la existencia de oportunidades de estudio que van ligadas con el fenómeno de cambio climático y el reto de utilización de estrategias de fertilización sostenibles que reduzcan la aplicación de productos químicos obtenidos por la quema de combustibles fósiles como la urea.

**Cuadro 2:** Modelos de regresión no lineal obtenidos para las búsquedas “Biofertilizer” y “Biofertilizer and grass”

Código booleano	Modelo	Año de inflexión	Durbin Watson	a	b	R <sup>2</sup>	Valor P
Biofertilizer	Sigmoidal 3 Parameter	2034	1.07	10988	5.7	0.99	0.01
	Sigmoidal, 3 Parameter	2029	1.87	21.42	4.34	0.96	0.01
	Sigmoidal, 4 Parameter	2018	2.89	26.96	5.4	0.90	0.01
Biofertilizer and grass	Gompertz, 3 Parameter	2018	2.93	33.68	10.42	0.90	0.01
	Hill,3 Parameter	2016	0.82	21.34	92.85	0.58	0.01

Fuente: Elaboración propia.

La tendencia de uso de biofertilizantes en forrajes es sigmoideal con un punto de inflexión hacia el año 2029 como se observa en el modelo logístico con mayor ajuste que obtuvo un valor Durbin Watson cercano a 2<sup>(7)</sup>, aunque, la predicción por los modelos Gompertz y Hill es anterior, pero con un menor ajuste (R<sup>2</sup>), por lo tanto, no predicen un comportamiento confiable (Cuadro 2). El punto de inflexión se asocia con la fase de rápido crecimiento de la tecnología y corresponde al valor máximo de la curva a partir del cual se prevé empiezan a disminuir las publicaciones relacionadas con biofertilizantes. Estas predicciones con alta variación se relacionan con áreas de aplicación en creciente desarrollo, y es que la fertilización orgánica empieza a cobrar importancia en el sector ganadero por el alza en el costo de los fertilizantes químicos.

A partir del análisis de revisión se encontró, que los biofertilizantes utilizados en pastos han sido aplicados por inoculación de semilla en el producto durante 30 min a 24 h seguido de un tiempo de secado previo a la siembra<sup>(2,31)</sup> o por aspersión en dosificaciones que varían entre 200 – 500 ml de inoculante ha<sup>-1</sup> diluido en agua al 0.1 - 1.3 % en una concentración mínima de 10<sup>6</sup> UFC ml<sup>-1</sup> o 10<sup>6</sup> UFC g<sup>-1</sup><sup>(32-36)</sup>.

La inoculación de microorganismos puede modificar el desarrollo del forraje con alta variabilidad entre géneros y cepas aplicadas o incluso no causar efecto, o generar una respuesta negativa<sup>(35)</sup> (Cuadro 3). Cuando los biofertilizantes se han aplicado junto con una fuente de N sintético, se han logrado respuestas superiores o equivalentes a la aplicación del 100 % del requerimiento de N por una absorción más eficiente, reduciéndose las pérdidas de N causadas por lixiviación hasta en un 95 %<sup>(36)</sup>. Los mejores resultados en términos productivos y económicos se han observado con la aplicación combinada del inoculante y N<sup>(36-40)</sup>.

**Cuadro 3:** Algunos estudios del efecto de la aplicación de diazótrofos en gramíneas forrajeras

Forraje	Inoculante	Incremento porcentual de parámetros biológicos comparado con plantas no inoculadas	Fuente
<i>Brachiaria decumbens</i>	<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i> y <i>H. seropedicae</i>	12 % en la proteína cruda	(1)
<i>Megathyrsus maximus</i>	<i>Bacillus</i> sp y <i>Bacillus megaterium</i>	7.32 %, 25.3 %, 3.32 %, 20.3 %, 2.43 % en la altura, biomasa de raíz, digestibilidad, proteína y fibra detergente neutro respectivamente.	(15)
<i>Avena saliva</i> L.	<i>Klebsiella</i> sp.	20 % en biomasa	(16)
<i>Panicum virgatum</i> L.	<i>Burkholderia phytofirmans</i>	27 % en la altura	(19)
<i>Brachiaria ruziziensis</i>	<i>A. brasilense</i>	31.49 % en el contenido relativo de agua de las hojas	(27)
<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> y <i>Bacillus subtilis</i>	63 y 51 % en la producción de masa seca de las plantas y biomasa respectivamente	(32)
<i>Brachiaria brizantha</i>	<i>Burkholderia pyrrocinia</i> y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	770 %, 300 %, 17 % en biomasa de raíz, materia seca y clorofila respectivamente	(33)
<i>Panicum virgatum</i> L.	<i>Azospirillum brasilense</i>	23 % en biomasa	(34)
<i>Avena saliva</i> L.	<i>Sinorhizobium meliloti</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Enterobacter</i> sp., <i>A. chroococum</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.	10.34 y 28.92 % en altura y longitud de raíz (28.92 %)	(37)

<i>Pennisetum clandestinum</i>	<i>Klebsiella</i> sp., <i>Beijerinckia</i> sp., <i>Achromobacter</i> sp.	52 %, 170 %, 134 % en la longitud del brote, peso seco del brote y longitud de raíz respectivamente	(41)
<i>Megathyrsus maximus</i>	<i>Bacillus</i> sp.	30.8 % y 12.7 % en la producción de biomasa y altura respectivamente	(42)
<i>Avena saliva</i> L.	<i>Providencia rettgeri</i> , <i>Advenella incenata</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Serratia plymuthica</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	81.19 %, 26.89 %, 10.94 % en la altura, longitud de raíz y clorofila respectivamente	(43)
<i>Avena saliva</i> L.	<i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>B. thuringiensis</i>	92 % en semillas germinadas	(44)
<i>Phleum pratense</i> L.	<i>Bacillus subtilis</i>	26.6 % y 63.8 % en brotes y raíces respectivamente	(45)
<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach	<i>Sphingomonas</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Enterobacter</i>	Incrementado de 116.01 % en el peso seco del brote	(46)
<i>Sorghum bicolor</i> L.	<i>Azotobacter</i> sp y <i>Burkholderia</i> sp.	21.5 % y el 16.8 % en la proteína cruda y digestibilidad de materia seca respectivamente	(47)

Fuente: elaborada a partir de las citas indicadas.

La respuesta positiva de la planta con la inoculación de diazótrofos se da por dos condiciones principalmente, primero por favorecer la disponibilidad de nitrógeno en el suelo que es un elemento que hace parte de las proteínas, aminoácidos, ADN, ARN, citocromos, ácidos nucleicos y la clorofila<sup>(2,21)</sup>; y segundo por la producción de metabolitos secundarios de origen bacteriano como: a) auxinas que están involucradas en el crecimiento, diferenciación y división celular<sup>(16)</sup>, b) giberelinas, que son hormonas que intervienen la regulación de la división y el alargamiento celular, en la germinación de semillas, aparición de yemas y en el crecimiento de los tallos<sup>(48)</sup>, c) citocinas que están relacionadas con la regulación del crecimiento celular<sup>(48)</sup>, d) sideróforos que son compuestos que pueden unirse al hierro dejándolo disponible para ser utilizado en procesos metabólicos<sup>(26)</sup> y e) biosurfactantes que son agentes químicos que forman micelas y permiten mejor interacción entre la membrana de los microorganismos y los nutrientes disueltos en el suelo y en las rizodeposiciones<sup>(49)</sup>.

De estas biomoléculas las más estudiadas son las auxinas; se destaca el ácido indol acético que es sintetizado a partir de triptófano que puede derivarse de las vías: indol-3-acetronilo, indole-3-acetamina, ácido indol-3-piruvico o de triptamina<sup>(48,50)</sup>. Esta hormona es producida por algunos diazótrofos, por ejemplo: *Stenotrophomona* spp., *Pseudomona* spp<sup>(49)</sup>,

*Azospirillum* spp<sup>(51)</sup>, *Azotobacter* spp. y *Pseudomonas* spp<sup>(26)</sup>. Su principal efecto se relaciona con la modificación de la estructura, elongación e incremento de biomasa de raíz del forraje<sup>(37)</sup>, lo que se favorece la absorción de nutrientes.

El estímulo hormonal que puede causar indirectamente la aplicación de diazótrofos en la planta puede favorecer su plasticidad fenotípica en ambientes sombreados<sup>(23)</sup>, en condiciones de sequía<sup>(15)</sup> o suelos salinos<sup>(46)</sup>. Fisiológicamente, la tolerancia a condiciones de estrés se relaciona con un incremento en la actividad de las enzimas superóxido-dismutasa y catalasa que eliminan el H de los radicales libres generados en condiciones estresantes<sup>(32)</sup>. También, se reporta incremento en los contenidos de prolina, glutatión-reductasa<sup>(42)</sup>, y en ACC-deaminasa<sup>(46)</sup>.

Por otro lado, mayor disponibilidad de N en el suelo por efecto bacteriano, permite que la planta pueda aumentar la producción de clorofila al constituir parte de su estructura química, lo que conlleva a un incremento en la tasa fotosintética de la planta y en consecuencia en la producción de biomasa<sup>(32)</sup>. Composicionalmente, puede favorecer el contenido de proteína cruda del forraje<sup>(1)</sup> y la producción de ácidos grasos insaturados<sup>(14)</sup>.

Pese a los sinergismos mencionados, se reportan repuestas antagónicas con la inoculación de diazótrofos<sup>(2)</sup>, por efecto de la inactivación de la nitrogenasa por la exposición a altas dosis de N. Aunque la falta de respuesta también puede deberse a una baja dosis de inoculante aplicado<sup>(23)</sup>, que puede ser inhibido por control alelopático de la planta, lo que genera baja supervivencia, adaptación, y persistencia de los microorganismos inoculados. Incluso, la variabilidad entre el ecosistema puede limitar la respuesta de las bacterias debido a que el proceso de FBN se da solo en ambientes favorables que permiten la persistencia del grupo taxonómico de alfa-proteobacterias<sup>(9, 51)</sup>.

## Conclusiones

La FBN es la principal fuente de N en praderas perennes donde no se aplica N de origen sintético y en áreas de fuerte sequía, donde la planta logra mantener su crecimiento gracias a adaptaciones estructurales como la reducción del material aéreo para incrementar la longitud radicular. Se desconocen los mecanismos específicos de señalización que permiten la expresión de proteínas para la producción de hormonas y enzimas que hacen posibles dichas modificaciones y potencializan comunidades microbianas especializadas en la FBN para favorecer la supervivencia de la planta a condiciones extremas. Sin embargo, se ha identificado que las especies *Brachiaria* spp. y *Pennisetum* spp. tienen alto potencial en contribuir con el proceso de FBN, por la persistencia de alfa proteobacterias en la rizosfera y en el tejido de raíces, tallos y hojas.

Se destaca *Azospirillum* spp. y *Azotobacter* spp., pero de estos, *Azospirillum brasilense* tiene mayor potencial en fijar N por la capacidad de infectar tejido del forraje, lo que facilita eventualmente su supervivencia. Sin embargo, se desconoce si la colonización de este aislado junto con otros microorganismos endófitos resiste el sistema de defensa de la planta durante tiempos de exposición prolongados, y quizás esto, se relacione con la falta de respuesta productiva con la aplicación de algunos inoculantes. Es por esto que el desarrollo biotecnológico de estos productos apunta al estudio de microorganismos nativos, para evitar una respuesta alelopática negativa por la planta.

El incremento de materia seca con la aplicación de biofertilizantes es la principal respuesta observada según el análisis de revisión, este efecto puede permitir eventualmente intervalos entre pastoreos más cortos e intensificar las rotaciones en los sistemas ganaderos. También se ha observado que la aplicación de diazótrofos puede estimular la plasticidad fenotípica de la planta en condiciones de sombra, razón por la que el uso de biofertilizantes puede ser una opción rentable en sistemas silvopastoriles.

Aún existen desafíos como garantizar interacciones positivas entre los microorganismos aplicados y las cepas nativas; desarrollar biofertilizantes combinados con fertilizantes químicos y bioestimulantes; reducir los costos técnicos de aislamiento, masificación y obtención del producto final; formular productos por cultivo y de acuerdo con la etapa de crecimiento; utilizar métodos de seguimiento para la detección y cuantificación de poblaciones bacterianas persistentes que permitan ajustar la dosificación y frecuencia de uso de los biofertilizantes de acuerdo al manejo, cultivo, condiciones ambientales y tipo de suelo; y fomentar su aplicación en los sistemas de granja como servicio eco sistémico.

### **Agradecimientos y conflicto de interés**

A Minciencias convocatoria 779 de 2017, regalías de la Gobernación del departamento de Boyacá – Colombia por el apoyo financiero y Universidad del Cauca proyecto ID. 5150 por el apoyo técnico, además a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia UPTC y al Grupo de Investigación En Bioquímica y Nutrición Animal GIBNA.

Los autores no tienen conflicto de interés.

### **Literatura citada:**

1. Pinheiro PL, Passos R, Peçanha A, Mendonça A. Application of biofertilizer in degraded pasture modified C dynamics and improved forage yield in a short-term period at the tropical region. *Aust J Crop Sci* 2020;14(12):1889-1897. doi: 10.21475/ajcs.20.14.12.2666.

2. Marques AC, De-Oliveira LB, Nicoloso FT, Jacques RJ, Giacomini SJ. Biological nitrogen fixation in C4 grasses of different growth strategies of South America Natural Grasslands. *Appl Soil Ecol* 2017;(113):54-62. doi:10.1016/j.apsoil.2017.01.011.
3. Guareschi R, Boddey RM, Rodrigues B, Sarkis L, Martins M, Jantalia C, *et al.* Balanço de nitrogênio, fósforo e potássio na agricultura da América Latina e o Caribe. *Terra Latinoam* 2019;37(2):105-119. doi:10.28940/terra.v37i2.423.
4. Gupta V, Kroker S, Hicks M, Davoren C, Descheemaeker K, Llewellyn R. Nitrogen cycling in summer active perennial grass systems in South Australia: Non-symbiotic nitrogen fixation. *Crop Pasture Sci* 2014;65(10):1044-1056. doi:10.1071/CP14109.
5. Acurio R, España C. Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *Lgr* 2016;25(1):53-61. doi:10.17163/lgr.n25.2017.05.
6. Pague M, Mckenzie JE, Bossuyt P, Hoffmann TC, Mulrow C, Shamseer L, *et al.* The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372(71):1-9. doi:10.1136/bmj.n71.
7. Fonseca LD, Vivas QN, Balaguera LH. Técnicas aplicadas en la investigación agrícola para cuantificar la fijación de nitrógeno: una revisión sistemática. *Cienc Tecnol Agropec Méx* 2019;21(1):1-19. doi:10.21930/rcta.vol21\_num1\_art:1342.
8. Ribeiro NV, Vidal MS, Barrios SC, Baldani VL, Baldani JI. Genetic diversity and growth promoting characteristics of diazotrophic bacteria isolated from 20 genotypes of *Brachiaria* spp. *Plant Soil* 2020;(451):187-205. doi:10.1007/s11104-019-04263-y.
9. Videira SS, Oliveira DM, Morais RF, Borges WL, Baldani VL, Baldani JI. Genetic diversity and plant growth promoting traits of diazotrophic bacteria isolated from two *Pennisetum purpureum* Schum. genotypes grown in the field. *Plant Soil* 2012;(356):51-66. doi:10.1007/s11104-011-1082-6.
10. De-Morais RF, Quesada DM, Reis VM, Urquiaga S, Alves BJ, Boddey RM. Contribution of biological nitrogen fixation to Elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.). *Plant Soil* 2012;356(1-2):23-34. doi:10.1007/s11104-011-0944-2.
11. De-Carvalho EX, Menezes CRS, Santiago-De-Freitas AD, Valadares-De-Sa BSE, Simões NDE, *et al.* The <sup>15</sup>N natural abundance technique to assess the potential of biological nitrogen fixation (BNF) in some important C4 Grasses. *Aust J Crop Sci* 2017;11(12):1559-1564. doi:10.21475/ajcs.17.11.12.pne729.

12. Leite RDC, Dos-Santos JG, Silva EL, Alves CR, Hungria M, Leite RD, *et al.* Productivity increase, reduction of nitrogen fertiliser use and drought-stress mitigation by inoculation of marandu grass (*Urochloa brizantha*) with *Azospirillum brasilense*. *Crop Pasture Sci* 2019;70(1):61-67. doi:10.1071/CP18105.
13. Leite RC, Santos AC, Santos JG, Leite RC, Oliveira L, Bernardes T, *et al.* Mitigation of Mombasa Grass (*Megathyrsus maximus*) dependence on nitrogen fertilization as a function of inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Rev Bras Cienc Solo* 2019;(43):e0180234. doi: 10.1590/18069657rbcs20180234.
14. Castanheira N, Dourado A, Kruz S, Alves P, Delgado RA, Pais J, *et al.* Plant growth-promoting *Burkholderia* species isolated from annual ryegrass in Portuguese soils. *J Appl Microbiol* 2016;120(39):724-739. doi:10.1111/jam.13025.
15. Li H, Qiu Y, Yao T, Ma Y, Zhang H, Yang X. Effects of PGPR microbial inoculants on the growth and soil properties of *Avena sativa*, *Medicago sativa*, and *Cucumis sativus* seedlings. *Soil Tillage Res* 2020;(199):104577. doi:10.1016/j.still.2020.104577.
16. Gagné-Bourque F, Bertrand A, Claessens A, Aliferis KA, Jabaji S. Alleviation of drought stress and metabolic changes in timothy (*Phleum pratense* L.) colonized with *Bacillus subtilis* B26. *Front Plant Sci* 2016;7(584):1-16. doi:10.3389/fpls.2016.00584.
17. Soman CH, Keymer DP, Kent AD. Edaphic correlates of feedstock-associated diazotroph communities. *Glob Change Biol Bioenergy* 2018;10(5):343-352. doi:10.1111/gcbb.12502.
18. Antunes GD, Santana SR, Escobar IE, Brasil MD, Araújo GG, Voltolini TV, Fernandes PI. Associative diazotrophic bacteria from forage grasses in the Brazilian semi-arid region are effective plant growth promoters. *Crop Pasture Sci* 2019;70(10):899-907. doi:/10.1071/CP19076.
19. Lowman S, Kim-Dura S, Mei C, Nowak J. Strategies for enhancement of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) performance under limited nitrogen supply based on utilization of N-fixing bacterial endophytes. *Plant Soil* 2016;405(1-2):47-63. doi:10.1007/s11104-015-2640-0.
20. Mus F, Colman DR, Peters JW, Boyd ES. Geobiological feedbacks, oxygen, and the evolution of nitrogenase. *Free Radic Biol Med* 2019;(140):250-259. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.050.
21. Herrero A, Flores E, Imperial J. Nitrogen assimilation in bacteria. *Encyclopedia of Microbiology* 2019;(231):280-300. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.20680-8.



22. Yulei J, Zhen L, Lifang W, Jianchao B, Biaosheng L, Hui L, *et al.* Effects of chemical fertilizer reduction and co-application with a JUNCAO nitrogen-fixing biofertilizer on growth and nutritional quality of *Pennisetum giganteum* and soil nutrient status. *Acta Agric Sin* 2021;30(3):215-223. doi:10.11686/cyxb2020047.
23. Lopes M, Dias-Filho M, Castro T, Silva G. Light and plant growth-promoting rhizobacteria effects on *Brachiaria brizantha* growth and phenotypic plasticity to shade. *Grass Forage Sci* 2017;73(2):493-499. doi:10.1111/gfs.12336.
24. Abril JL, Roncallo B, Bonilla R. Efecto de la inoculación con bacterias del género *Bacillus* sobre el crecimiento de *Megathyrus maximus Jacq*, en condiciones de estrés hídrico. *Rev Agr Agron Noroeste Argent* 2017;37(1):25-37.
25. Roley SS, Duncan DS, Liang D, Garoutte A, Jackson RD, Tiedje JM, Robertson P. Associative nitrogen fixation (ANF) in switchgrass (*Panicum virgatum*) across a nitrogen input gradient. *PLoS ONE* 2018;13(6):e0197320. doi:10.1371/journal.pone.0197320.
26. Cardenas D, Garrido M, Roncallo B, Bonilla R. Inoculación con *Azospirillum* spp y *Enterobacter agglomerans* en pasto Guinea (*Panicum maximum* Jacq.) en el departamento de Cesar (Colombia). *Rev Fac Nac Agron Medellin* 2014;67(2):7271-7280. doi:10.15446/rfnam.v67n2.44168.
27. Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agric Ecosyst Environ* 2016;221(1):125-131. doi:10.1016/j.agee.2016.01.024.
28. Shankar J, Strong PJ. Biologically derived fertilizer: A multifaceted bio-tool in methane mitigation. *Ecotoxicol Environ Saf* 2016;(124):267-276. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.10.018.
29. Castanheira N, Dourado A, Kruz S, Alves P, Delgado-RA, Pais J, *et al.* Plant growth-promoting *Burkholderia* species isolated from annual ryegrass in Portuguese soils. *J Appl Microbiol* 2016;120(39):724-739. doi:10.1111/jam.13025.
30. De-Souza M, Florentino LA, Rabêlo FH, De Rezende AV, Roman Da-Costa SF, Borgo L. Características morfológicas, produtivas e bromatológicas do Capim-xaraés: adubação nitrogenada em cobertura versus inoculação com bactérias diazotróficas. *Cienc Anim Bras* 2019;(20):1-12.
31. Bauer JT, Kleczewski NM, Bever JD, Clay K, Reynolds HL. Nitrogen-fixing bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, and the productivity and structure of prairie Grassland communities. *Oecologia* 2012;170(4):1089-1098. doi:10.1007/s00442-012-2363-3.

32. Bulegon LG, Guimarães VF, Urbanski JC. *Azospirillum brasilense* affects the antioxidant activity and leaf pigment content of *Urochloa ruziziensis* under water stress. *Pesqui Agropecu Trop* 2016;46(3):343-349. doi:10.1590/1983-40632016v46i4a1489.
33. Fei H, Crouse M, Papadopoulos Y, Vessey JK. Enhancing the productivity of hybrid poplar (*Populus* × hybrid) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.) by the application of beneficial soil microbes and a seaweed extract. *Biomass Bioenergy* 2017;(107):122-134. doi:10.1016/j.biombioe.2017.09.022.
34. Pedreira BC, Barbosa PL, Pereira LE, Mombach MA, Domiciano LF, Pereira DH, *et al.* Tiller density and tillering on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2017;69(4):1039-1046. doi:10.1590/1678-4162-9034.
35. Bonadiman RL, Ferreira OG, Coelho RA, Costa OA, Farias PP, Rosa PP, *et al.* Nitrogen fertilization associated to inoculation with *Azospirillum brasilense* about structural characteristics of annual ryegrass. *Rev Electron Vet* 2018;19(3):031822.
36. Paungfoo LC, Redding M, Pratt C, Wang W. Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilizers while reducing nitrogen loss. *J Environ Management* 2019;233(1):337-341. doi:10.1016/j.jenvman.2018.12.052.
37. Bilal M, Ayub M, Tariq M, Tahir M, Nadeem MA. Dry matter yield and forage quality traits of oat (*Avena sativa* L.) under integrative use of microbial and synthetic source of nitrogen. *J Saudi Soc Agric Sci* 2017;16(3):236-241. doi: 10.1016/j.jssas.2015.08.002.
38. Sá GC, Hungria M, Carvalho CL, Moreira A, Nogueira M, Heinrichs R, *et al.* Nutrients uptake in shoots and biomass yields and roots and nutritive value of zuri Guinea grass inoculated with plant growth-promoting bacteria. *Commun Soil Sci Plant Anal* 2019;50(22):2927-2940. doi:10.1080/00103624.2019.1689256.
39. Heinrichs R, Meirelles GC, De-Melo SLF, Da-Silva MV, De-Marcos A, Nogueira MA, *et al.* *Azospirillum* inoculation of 'Marandu' palisade grass seeds: Effects on forage production and nutritional status. *Semin Cienc Agrar* 2020;41(2):465-478. doi:10.5433/1679-0359.2020v41n2p465.
40. Romero PF, Ocampo GJ, Camelo RM, Bonilla R. Plant growth-promoting rhizobacteria and their potential as bioinoculants on *Pennisetum clandestinum* (Poaceae). *Rev Biol Trop* 2019;67(4):825-832.
41. Moreno GAE, Cortés PS, Romero PF, Uribe VD, Bashan Y, Bonilla RR. Proline accumulation and glutathione reductase activity induced by drought-tolerant rhizobacteria as potential mechanisms to alleviate drought stress in Guinea grass. *Appl Soil Ecol* 2020;(147):103367. doi:10.1016/j.apsoil.2019.103367.

42. Mendoza LJ, Romero PF, Hernández JP, Uribe D, Buitrago RB. Enhancement of drought tolerance on guinea grass by dry alginate macrobeads as inoculant of *Bacillus* strains. *BioRxiv* 2019:1-30. <https://doi.org/10.1101/761056>.
43. Hashmi I, Paul C, Al-Dourobi A, Sandoz F, Deschamps P, Junier T, *et al.* Comparison of the plant growth-promotion performance of a consortium of Bacilli inoculated as endospores or as vegetative cells. *FEMS Microbiol Ecol* 2019;65(11):1044-1056. doi:10.1071/CP14109.
44. Sapre S, Gontia I, Tiwari S. *Klebsiella sp.* confers enhanced tolerance to salinity and plant growth promotion in oat seedlings (*Avena sativa*). *Microbiol Res* 2018;(206):25-32. doi:10.1016/j.micres.2017.09.009.
45. Li X, Geng X, Xie R, Fu L, Jiang J, Gao L, *et al.* The endophytic bacteria isolated from elephant Grass (*Pennisetum purpureum schumach*) promote plant growth and enhance salt tolerance of hybrid Pennisetum. *Biotechnol Biofuels* 2016;9(1):1-16. doi:10.1186/s13068-016-0592-0.
46. Kaur OH, Gulab P, Anureet K. Effect of pre-sowing seed inoculation with liquid Biofertilizers on fodder yield and quality of sorghum (*Sorghum bicolor*). *Indian J Agron* 2020;65(1):100-106.
47. Castanheira N, Dourado A, Alves PI, Cortés AM, Delgado AI, Prazerez A, *et al.* Annual ryegrass-associated bacteria with potential for plant growth promotion. *Microbiol Res* 2014;169(9-10):768-779. doi:10.1016/j.micres.2013.12.010.
48. Stamenov D, Jarak M, Durić S, Milošev D, Hajnal T. Plant growth promoting rhizobacteria in the production of English ryegrass. *Plant Soil Environ* 2012;(58):477-480. doi:10.17221/132/2012-PSE.
49. Stajković O, Delić D, Kuzmanović D, Protić N, Rasulić N, Knežević J. Growth and nutrient uptake in oat and barley plants as affected by rhizobacteria. *Rom Biotechnol Lett* 2014;19(3):9429-9436.
50. Criollo PJ, Obando M, Sánchez ML, Bonilla R. Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecu* 2013;13(2):189-195. doi:10.21930/rcta.vol13\_num2\_art:254.
51. Bahulikar RR, Torres I, Worley E, Craven K, Udvardi MK. Diversity of nitrogen-fixing bacteria associated with switchgrass in the native tallgrass prairie of northern Oklahoma. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(18):5636-5643. doi:10.1128/AEM.02091-14.

## Frecuencia de seropositividad contra el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su área periférica

José Pablo Villarreal-Villarreal <sup>a</sup>

César Dávila-Martínez <sup>a</sup>

Heidi Giselle Rodríguez-Ramírez <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Campus de Ciencias Agropecuarias, Colonia Ex-Hacienda el Canadá, General Escobedo, Nuevo León, México.

\*Autor de correspondencia: rdzmzv@gmail.com

### Resumen:

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es un virus de tipo DNA que tiene afinidad por células del sistema inmune y que genera depleción de linfocitos por lo que favorece el desarrollo de enfermedades causadas por otros agentes oportunistas, así mismo está relacionado con la generación de diferentes síndromes. Por lo anterior, este virus produce importantes afecciones a la industria porcícola, sin embargo, fácilmente se pueden prevenir los síndromes asociados a PCV2 mediante la adecuada aplicación de medidas de bioseguridad y vacunación. Por otro lado, las unidades de producción a pequeña escala (UPPs) suelen carecer de este tipo de manejo preventivo, así como de vigilancia rutinaria por parte de un médico veterinario. Si bien, el PCV2 se considera un virus ampliamente distribuido, no existen reportes de su presencia en las UPPs en Nuevo León. Se determinó la presencia de anticuerpos contra PCV2 mediante el uso de un kit comercial y se realizó la biometría hemática de los animales. Se localizaron 48 UPPs en las que se encontró un 91.67% de positividad, así como un 89.7% de seropositividad en los animales. En la biometría se encontró que la HGB y el HCT se presentaron disminuidos en los individuos que resultaron positivos a anticuerpos comparados contra los negativos ( $P=0.03$  y  $P=0.01$ , respectivamente), por el contrario, el valor de células blancas totales se encontró disminuido

en los individuos que resultaron negativos a la presencia de anticuerpo contra PCV2 ( $P=0.01$ ).

**Palabras clave:** Traspatio, PCV2, Circovirus porcino tipo 2, ELISA, Seroprevalencia, Cerdos.

Recibido: 13/03/2023

Aceptado: 19/01/2024

El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es un virus DNA de cadena sencilla que sólo infecta a los cerdos, por lo que no tiene importancia zoonótica. El PCV2 es un patógeno que se ve implicado en el desarrollo de diferentes síndromes como el síndrome de desmedro post-destete, el síndrome de dermatitis y nefropatía, así como de fallas reproductivas<sup>(1)</sup>. Se reconoce que la infección con este virus es un factor predisponente para los síndromes, sin embargo, requiere de la co-infección con otro agente patógeno para desencadenar el proceso de enfermedad. Entre los factores de riesgo que aumentan la posibilidad de introducir al agente en la población porcina y su diseminación se encuentran: bajo peso al nacer, bajo peso al destete, así como aquellos relacionados a las instalaciones y prácticas de manejo tales como el alojamiento de una gran cantidad de animales en poco espacio, contacto entre los cerdos y la higiene<sup>(2)</sup>.

El PCV2 tiene afinidad por las células del sistema inmune, especialmente los macrófagos y linfocitos<sup>(3)</sup>; de hecho, uno de los hallazgos clínicos esperados durante la infección por este virus es la reducción del conteo de los leucocitos totales, así como linfopenia<sup>(1,4,5)</sup>. Entre los métodos diagnósticos para este virus se encuentran el PCR y la inmunohistoquímica (IHQ)<sup>(6)</sup>, para esta última se emplea tejido linfático con la finalidad de detectar antígenos del virus, que indica la presencia de éste en las células blanco. Se ha confirmado que la depleción de linfocitos en tejido linfático está relacionada con la activación de la apoptosis mediante las vías de las caspasas 3 y 8 al interior de los linfocitos<sup>(3)</sup>, aunque no se descarta que existan otros mecanismos involucrados. La depleción de linfocitos induce un estado de inmunosupresión que además es agravado por la co-infección con otros agentes patógenos como el parvovirus porcino, el virus del PRRS, y otros más<sup>(7)</sup>, lo que permite la aparición de los síndromes mencionados.

En México las unidades de producción a pequeña escala (UPPs), se mantienen presentes en algunas áreas. Previamente se ha investigado las características entre estos sistemas presentes en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y entre ellas se ha confirmado la falta de bioseguridad, medicación y de vigilancia rutinaria por parte de un médico veterinario. Las

condiciones mencionadas favorecen la entrada de agentes patógenos a las unidades de producción, así como su posterior perpetuación en el medio ambiente, sin embargo, el PCV2 tiene especial importancia, ya que al ser inmunosupresor permite la aparición de manifestaciones clínicas de infecciones secundarias en algunos casos<sup>(8-10)</sup>. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra PCV2 en cerdos de traspatio que no contaban con vacunación previa dirigida contra este agente patógeno, por lo que se realizó un estudio transversal en el que fueron incluidos cerdos en UPPs de 9 municipios correspondientes al área metropolitana de Monterrey, Nuevo León.

El sistema de producción a pequeña escala (también conocido como traspatio o artesanal) se definió como aquel en el que se llevarán a cabo actividades de crianza de cerdos en la vivienda de los dueños de los animales, o como una actividad económica complementaria, es decir, que no representará el principal ingreso familiar. La cantidad mínima de muestra se calculó con el software WinEpi bajo las siguientes consideraciones: se tomó en cuenta una prevalencia esperada del 92 % la cual se tomó de un reporte previo en México<sup>(11)</sup>, un margen de error del 5 % y un nivel de confianza del 95 % para una población desconocida, arrojando una cantidad de 114 muestras mínimas. Una vez identificadas las UPPs se solicitó permiso a los propietarios para tomar muestras de los animales y al finalizar se aplicó un cuestionario. Las muestras se colectaron en el periodo de mayo de 2019 hasta marzo de 2020. Se incluyeron cerdos de diferentes edades; sin embargo, se evitó el muestreo en hembras gestantes para evitar el riesgo de aborto, así como de lechones lactantes para evitar la detección de anticuerpos maternos.

Para la toma de muestras, los cerdos se sujetaron físicamente. Durante la inmovilización se apuntó la condición corporal de cada individuo en una escala del 1 al 5. Se tomaron dos muestras sanguíneas de la vena yugular; una en un tubo colector con EDTA y la otra en un tubo colector con separador de suero. Las muestras con EDTA se procesaron en el laboratorio clínico del Hospital Veterinario de Pequeñas Especies (HVPE) de la Universidad Autónoma de Nuevo León bajo el procedimiento estándar en el equipo KONTROLab 5R+Vet.

El suero se separó del coágulo a 1,000 rpm durante 10 min a 4 °C para posteriormente ser fraccionado en alícuotas de 500 µl y almacenado a -80 °C hasta su posterior uso. Para la detección de anticuerpo contra PCV2 se empleó un kit comercial (Bio Check®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Dicho kit posee una sensibilidad del 92.1 % y una especificidad del 95.6 %. La absorbancia de las muestras se leyó a 405 nm en el equipo Awareness technology Chromate® (Awareness technology Inc.).

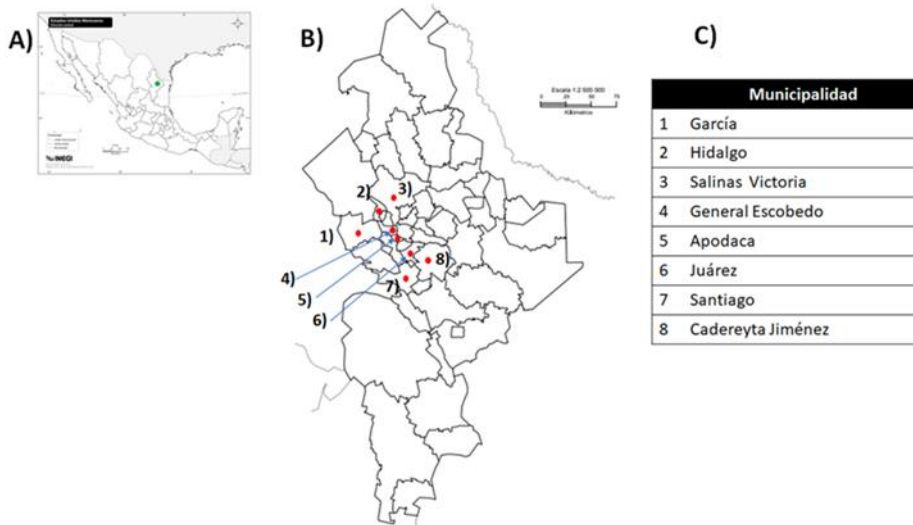
Los datos se capturaron en una hoja de cálculo para determinar el porcentaje de seropositividad. Se realizó una T de Student para determinar diferencia entre las medias de los parámetros hematológicos entre el grupo positivo y negativo a anticuerpos, así como de la frecuencia de la condición corporal de los animales. El análisis estadístico se realizó

empleando el software GraphPad Prism 6 (San Diego, CA). Un valor *P* de  $\leq 0.05$  se consideró como significativo.

Se localizaron 48 UPPs en las cuales se permitió el acceso para muestrear, las cuales se encontraban en los municipios de Apodaca, Cadereyta Jiménez, García, General Escobedo, Hidalgo, Juárez, Santiago y Salinas Victoria. Se encontró que, en 44 de los sitios muestreados, al menos un animal dio positivo a anticuerpos, por lo que el porcentaje de positividad fue de 91.67 %. El resto de las unidades de producción correspondía a cuatro sitios en los que ningún animal fue detectado como positivo a anticuerpos contra PCV2. En todos los municipios fue posible detectar unidades de producción positivas.

Se muestreó a un total de 204 animales, de los cuales se confirmó la presencia de anticuerpos contra PCV2 en 183, alcanzando un 89.7 % de seropositividad. En México, previamente se han realizado estudios donde se determinó un 92.29 % de positividad a anticuerpos contra PCV2 entre los animales y entre las unidades de producción un 98.14 % de positividad con al menos un animal positivo<sup>(11)</sup>, por lo que, en congruencia con hallazgos de otros autores, la seropositividad contra este virus se encontró de forma ubicua en las UPPs en el área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su zona periférica.

**Figura 1:** A) Mapa de México. B) Mapa de Nuevo León. Cada punto rojo representa una municipalidad muestreada. C) Identificación de los municipios muestreados



Por otra parte, diferentes grupos de investigación han explorado la presencia del PCV2 mediante el uso de PCR en tiempo real, un ejemplo es en Brasil donde han encontrado la presencia del genoma del virus en un 15.6 %<sup>(8)</sup> de las muestras de pulmón estudiadas. Por otra parte, empleando PCR cuantitativa, en Colombia se ha detectado un 90 % de prevalencia empleando muestras de células blancas provenientes de sangre<sup>(9)</sup>. En España, otro grupo de

investigadores se han dado a la tarea de identificar la presencia del virus en unidades de producción tecnificadas en diferentes áreas empleando PCR cuantitativa en muestras ambientales, entre las que incluyeron hisopados de superficies de corrales, botas de trabajadores e incluso dentro de las oficinas de cinco unidades de producción<sup>(12)</sup>, logrando encontrar un 42.9 % de positividad, reiterando así la fácil diseminación de este virus y su amplia diseminación en el ambiente.

Los resultados de la seroprevalencia obtenidos se introdujeron en la plataforma WinEpi, así como las especificaciones de la sensibilidad y especificidad proporcionadas por el fabricante del kit a fin de estimar los valores predictivos positivo y negativo. La plataforma arrojó un valor predictivo positivo del 99.9 % y un valor predictivo negativo del 25.4 %, así como una prevalencia real del 97.3 %.

En este estudio no se muestrearon hembras gestantes debido al riesgo de inducir abortos o en su caso partos prematuros. Sin embargo, existen estudios en el contexto de otros agentes infecciosos, como en el caso de influenza A, en el que se ha demostrado que las hembras de mayor número de partos tienen una mayor experiencia inmune debido a su edad, así como una mayor concentración de anticuerpo específicos<sup>(13)</sup>. Por lo que es de suponer que, si se encontró positividad en animales de otras edades, del mismo modo exista seropositividad entre las hembras. Por otra parte, los cerdos son animales que nacen agamaglobulinémicos a menos que sean expuestos *in utero* a algún agente, por esto, es importante la ingesta de calostro para su supervivencia, ya que de este modo adquieren IgG e IgA de la madre<sup>(14)</sup>; en este estudio, los lechones que no habían sido destetados no se incluyeron, debido a que la presencia de anticuerpos maternos puede ser detectada a través del método de ELISA sin representar una seroconversión debida a la exposición al agente.

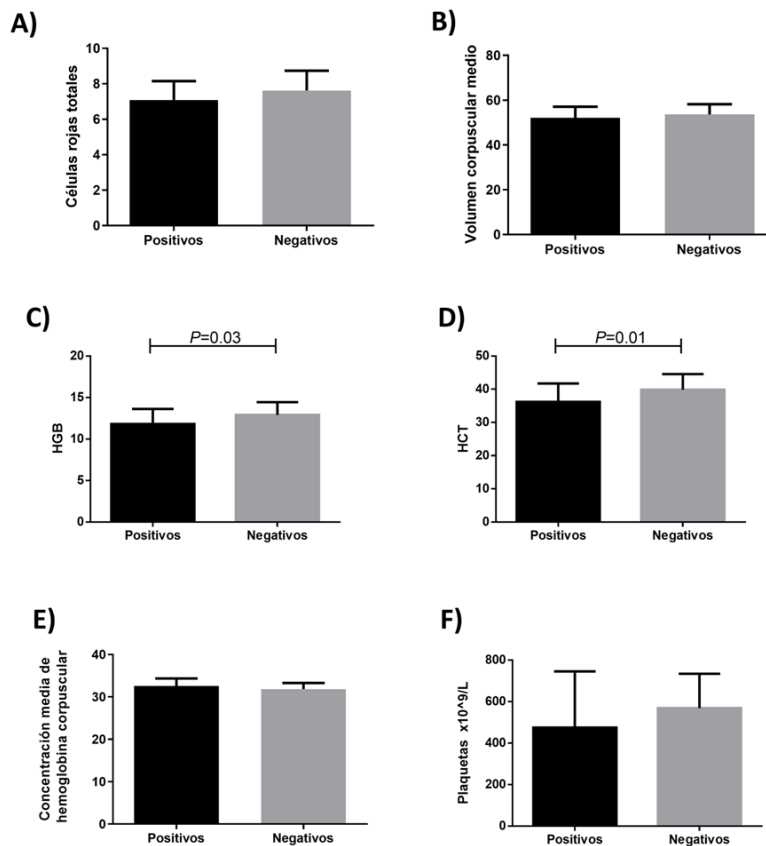
En cuanto a la condición corporal de los animales, se observó solo un animal con condición de 1 (0.41 %), 49 animales con condición de 2 (20.16 %), 86 con condición de 3 (35.39 %) y 107 animales con condición de 4 (44.03 %). No se observó ningún animal con una condición de 5. Se comparó la media de la condición corporal en el grupo positivo a anticuerpos contra el grupo negativo (n= 139 animales), pero no se encontró diferencia ( $P>0.05$ ). Ya que para ninguno de los animales se reportó vacunación contra PCV2, se presume que la presencia de anticuerpos es debida a la seroconversión por experiencia inmune previa contra el virus de campo, sin embargo, estos anticuerpos podrían estar cumpliendo un rol protector contra el desarrollo de los síndromes asociados a PCV2. Se ha demostrado que la vacunación no siempre evita la viremia, pero sí disminuye la carga viral sistémica en los individuos vacunados<sup>(15)</sup>. Abonando a lo anterior, un grupo de investigadores demostró que la vacunación tiene un efecto positivo en la respuesta inmune celular y humoral incluso en animales que previamente presentaban viremia<sup>(16)</sup>, es decir, que se han infectado antes de ser vacunados.



Si bien, en este trabajo se encontró una alta frecuencia de positividad a anticuerpos, no se encontraron animales en aparente cuadro clínico. La mayor parte de los animales poseían una condición corporal de media a buena; así como tampoco fue posible diferenciar por la condición corporal a los negativos a anticuerpos de aquellos positivos. Otros investigadores han encontrado que la presencia del virus en granja no necesariamente es compatible con la presencia de los síndromes asociados al PCV2<sup>(12)</sup>, además, si bien este virus se reconoce como necesario para desencadenar los síndromes asociados, su sola presencia no es suficiente para producir la enfermedad<sup>(17)</sup>.

Por otra parte, se compararon las medias de los parámetros hematológicos en el grupo positivo a anticuerpos contra el negativo, y en cuanto a la línea roja se encontró una diferencia significativa para la hemoglobina (HGB) ( $P=0.03$ ) y el hematocrito (HCT) ( $P=0.01$ ), los cuales se encontraron disminuidos en el grupo positivo con respecto al grupo negativo a anticuerpos (Figura 2).

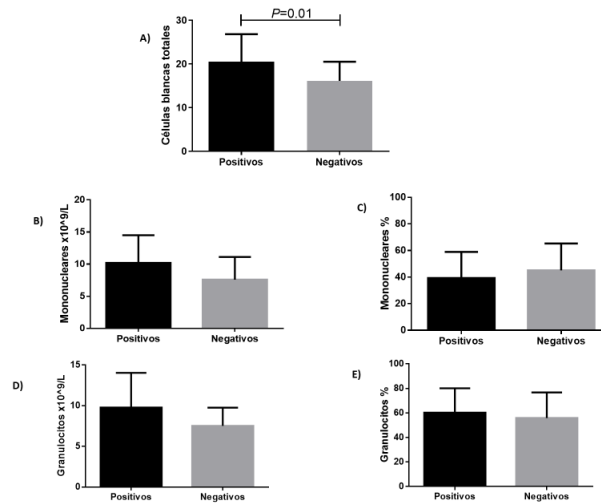
**Figura 2:** Comparación de parámetros hematológicos en la línea roja



La cantidad de individuos incluidos en cada análisis fueron: A= 124, B= 124, C= 141, D= 141, E= 141, F= 141.

Para la línea blanca (Figura 3), se encontró una disminución en las células blancas totales en el grupo negativo a anticuerpos contra PCV2 comparado contra aquellos seropositivos ( $P=0.01$ ). Aunque se encontraron diferencias en los parámetros de HGB y HCT disminuidos en los individuos positivos y células blancas totales en mayor cantidad en los positivos a anticuerpos comparados con los negativos, los tres parámetros se encontraron dentro de los rangos normales esperados en ambos grupos. Resulta interesante el hecho de encontrar una disminución en el conteo total de leucocitos en el grupo negativo a anticuerpos; sin embargo, el hallazgo orienta a pensar que estos cerdos pudieran encontrarse en un estado de infección e incluso viremia en el que aún están por desarrollar anticuerpos; así mismo, hay que tener en consideración que la mayoría de los individuos que permanecieron negativos a la presencia de anticuerpos, se encontraron en lugares donde se encontró al menos un animal positivo, por lo que es muy probable que tengan contacto con el virus en algún momento de su vida.

**Figura 3:** Comparación de parámetros hematológicos en la línea blanca



La cantidad de individuos incluidos en cada análisis fueron: A= 147, B=81, C=134, D= 81, E= 134.

En conclusión, existe la presencia de anticuerpos contra el PCV2 en una gran proporción de las UPPs y en los cerdos al interior de éstas, que se encuentran en el área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su zona periférica; sin embargo, esto no implica la presencia de cuadros clínicos.

### Agradecimientos

Agradecemos el apoyo financiero a la investigación proporcionado por la Universidad Autónoma de Nuevo León en la convocatoria PAICyT 2021 para la realización de este proyecto.


### Conflictos de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés.


### Literatura citada:

1. Zimmerman JJ. Disease of swine. 11th ed. USA: Wiley-Blackwell; 2019.
2. Grau-Roma L, Heegaard PMH, Hjulsager CK, Sibila M, Kristensen CS, Allepuz A, *et al.* Pig-major acute phase protein and haptoglobin serum concentrations correlate with PCV2 viremia and the clinical course of postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Microbiol* 2009;138(1–2):53–61.
3. Shi R, Hou L, Liu J. Host immune response to infection with porcine circoviruses. *Anim Diseases* 2021;1(1):1–10.
4. Rajesh JB, Rajkhowa S, Dimri U, Prasad H, Mohan NH, Hmar L, *et al.* Haemato-biochemical alterations and oxidative stress associated with naturally occurring porcine circovirus2 infection in pigs. *Trop Anim Health Prod* 2020;52:2243–2250.
5. Gauger PC, Lager KM, Vincent AL, Opriessnig T, Cheung AK, Butler JE, *et al.* Leukogram abnormalities in gnotobiotic pigs infected with porcine circovirus type 2. *Vet Microbiol* 2011;154(1–2):185–190.
6. Karuppanan AK, Opriessnig T. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines in the context of current molecular epidemiology. *Viruses* 2017;9(5):1–15.
7. Ouyang T, Zhang X, Liu X, Ren L. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 2019;11(2):16–20.
8. Balestrin E, Wolf JM, Wolf LM, Fonseca ASK, Ikuta N, Siqueira FM, *et al.* Molecular detection of respiratory coinfections in pig herds with enzootic pneumonia: a survey in Brazil. *J Vet Diagn Invest* 2022;34(2):310–313.
9. Uribe-García HF, Suarez-Mesa RA, Rondón-Barragán IS. Survey of porcine circovirus type 2 and parvovirus in swine breeding herds of Colombia. *Vet Med Sci* 2022;8(6):2451–2459.

10. Chen S, Li X, Zhang X, Niu G, Yang L, Ji W, *et al.* PCV2 and PRV coinfection induces endoplasmic reticulum stress via PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP and IRE1-XBP1-EDEM Pathways. *Int J Mol Sci* 2022;23(9):4479.
11. Ramírez-Mendoza H, Martínez C, Mercado C, Castillo-Juárez H, Hernández J, Segalés J. Porcine circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. *Res Vet Sci* 2007;83(1):130–132.
12. López-Lorenzo G, Díaz-Cao JM, Prieto A, López-Novo C, López CM, Díaz P, *et al.* Environmental distribution of porcine Circovirus type 2 (PCV2) in swine herds with natural infection. *Sci Rep* 2019;9(1):1–8.
13. Ozawa M, Matsuu A, Yonezawa K, Igarashi M, Okuya K, Kawabata T, *et al.* Efficient isolation of swine influenza viruses by age-targeted specimen collection. *J Clin Microbiol* 2015;53(4):1331–1338.
14. Chattha KS, Roth JA, Saif LJ. Strategies for design and application of enteric viral vaccines. *Annu Rev Anim Biosci* 2015;3:375–395.
15. Afolabi KO, Iweriebor BC, Okoh AI, Obi LC. Global status of porcine circovirus type 2 and its associated diseases in Sub-Saharan Africa. *Adv Virol* 2017;2017:6807964.
16. Seo HW, Park C, Han K, Chae C. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on PCV2-viremic piglets after experimental PCV2 challenge. *Vet Res* 2014;45(1):1–9.
17. Zhai N, Liu K, Li H, Liu Z, Wang H, Korolchuk VI, *et al.* PCV2 replication promoted by oxidative stress is dependent on the regulation of autophagy on apoptosis. *Vet Res* 2019;50(1):1–11.



## Prevalencia e intensidad de virosis de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en seis regiones del estado de Jalisco, México



---

Ana Karen Ramos-Cuellar <sup>a</sup>

Álvaro De la Mora <sup>b</sup>

Francisca Contreras-Escareño <sup>c</sup>

Nuria Morfin <sup>d</sup>

José María Tapia-González <sup>e</sup>

José Octavio Macías-Macías <sup>e</sup>

Tatiana Petukhova <sup>f\*</sup>

Adriana Correa-Benítez <sup>a</sup>

Ernesto Guzman-Novoa <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. FMVZ, Departamento de Medicina y Zootecnia de Abejas. Ciudad de México, México.

<sup>b</sup> University of Guelph. School of Environmental Sciences, 50 Stone Road East, Guelph, ON, N1G 2W1, Canadá.

<sup>c</sup> Universidad de Guadalajara. CUCSur, Depto. Prod. Agríc., Autlán, Jal., México.

<sup>d</sup> University of British Columbia. Dept. Biochem. Mol. Biol., Vancouver, BC, Canadá.

<sup>e</sup> Universidad de Guadalajara. CUSur, Depto. Cienc. Natur., Cd. Guzmán, Jal., México.

<sup>f</sup> University of Guelph. Department of Population Medicine, Guelph, ON, Canadá.

\*Autor de correspondencia: [tpetukho@uoguelph.ca](mailto:tpetukho@uoguelph.ca)

**Resumen:**

El estado de Jalisco es un importante productor de miel de abejas en México. Sin embargo, no existe información sobre las virosis que afectan a las abejas melíferas (*Apis mellifera*) en las diferentes regiones apícolas de la entidad. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia e intensidad de cuatro enfermedades virales de *Apis mellifera* durante la primavera, en seis regiones de Jalisco. Se analizaron abejas de 79 colonias, de las cuales, el 66 y 38 % fueron positivas al virus de la celda real negra (VCRN) y al virus de las alas deformes (VAD), respectivamente. Dos virosis no fueron detectadas, las causadas por el virus de la parálisis aguda Israelí (VPAI) y la causada por el virus de la parálisis crónica (VPC). Los niveles de infección fueron relativamente bajos para el VCRN, pero elevados para el VAD, cuyas infecciones fueron 8,000 veces más altas que las del VCRN. La prevalencia del VAD fue significativamente más alta en las regiones de los Altos, Centro y Sur, mientras que para el VCRN no hubo diferencias entre regiones. Para la intensidad de infecciones, no hubo diferencias entre regiones para el VAD, pero sí para el VCRN. Las regiones con niveles de infección más altos fueron la Sur y Centro. Se recomienda realizar muestreos en otras épocas del año para detectar posibles efectos estacionales de las virosis de las abejas y diseñar estrategias para su control.

**Palabras clave:** *Apis mellifera*, Virus de las alas deformes, Virus de la celda real negra.

Recibido: 15/10/2023

Aceptado: 23/02/2024

Las enfermedades virales de las abejas melíferas (*Apis mellifera*) cada vez se asocian más con pérdidas de colonias<sup>(1)</sup>, por lo que es importante conocer su prevalencia y distribución para poder controlarlas. Se conocen más de 20 virus que infectan a las abejas melíferas, pero pocos parecen tener un impacto serio en su salud. Entre ellos, se puede mencionar al virus de las alas deformes (VAD), virus de la celda real negra (VCRN), virus de la parálisis aguda israelí (VPAI) y virus de la parálisis crónica de las abejas (VPCA)<sup>(2,3)</sup>. En México se ha reportado la presencia del VAD, VPAI y VCRN<sup>(4,5)</sup> en la región del altiplano. Además, se identificó al VAD y VPAI en ácaros *Varroa destructor*, siendo el VAD el de mayor prevalencia tanto en muestras de abejas como de ácaros<sup>(4)</sup>. Poco se sabe de las enfermedades virales de las abejas en México y el conocimiento de ellas se limita a pocas regiones en pocos estados. Para el caso de Jalisco, aun no existen reportes oficiales de su distribución y niveles de infección en las diferentes regiones apícolas del estado. Conocer esta información sería importante porque Jalisco es uno de los principales estados productores de miel en México, ocupando el tercer lugar en 2021 con 6,073 t<sup>(6)</sup>.

Para fines de la apicultura, el estado de Jalisco ha sido dividido en seis diferentes regiones que varían en topografía y clima, e incluyen las regiones de los Altos, Centro, Norte, Sierra amula, Sur y Sureste. Más de la mitad de los productores y de las colmenas del estado se encuentran en las regiones Sur y Sureste<sup>(7)</sup>. Debido a que no existe información sobre la presencia e intensidad de enfermedades virales que afectan a las abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, se consideró relevante hacer un muestreo para determinar su presencia, y si existe alguna relación entre las virosis y las distintas regiones del estado. Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia y nivel de infección de las principales virosis que afectan a las abejas melíferas adultas: VAD, VCRN, VPAI y VPC, en muestras de abejas provenientes de colonias de seis regiones del estado de Jalisco, México.

Se colectaron muestras de abejas adultas de entre 12 y 16 colonias en cada una de las seis regiones apícolas de Jalisco al inicio de la primavera, durante los meses de marzo, abril y mayo de 2018. En cada apiario visitado se seleccionaron y muestrearon tres colonias al azar. En total se muestrearon 81 colonias de 27 apiarios, aunque sólo se pudieron obtener datos de 79. De cada colonia se colectaron dos muestras de tres abejas tomadas de la piquera de cada colmena. Las abejas se introdujeron en tubos de microcentrífuga de 2.0 ml con RNAlater® (Thermo Scientific; Mississauga, ON, Canadá) para la preservación del ARN viral. Las muestras se transportaron en hieleras con refrigerantes y se congelaron a -70° C hasta que se realizó el diagnóstico y cuantificación de las enfermedades virales.

Los análisis moleculares para el diagnóstico y cuantificación de las virosis se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones de Abejas Melíferas de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad de Guelph, en Guelph, Ontario, Canadá.

Se determinó la presencia del VAD, VCRN, VPAI y VPCA mediante PCR con transcripción en reversa (RT-PCR). Para ello, se realizó la extracción de ARN de tres abejas por muestra con TRIzol (Fisher Scientific; Mississauga, ON, Canadá), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN complementario se obtuvo con un kit de síntesis de ADNc de RevertAid™ H Minus First Strand (Fermentas; Burlington, ON, Canadá), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las reacciones de PCR se hicieron en un termociclador Mastercycler (Eppendorf; Mississauga, ON, Canadá). Cada reacción contenía 1.5 µl de 10x amortiguador de pH para PCR (New England BioLabs; Pickering, ON, Canadá), 1 µl de oligonucleótidos directos y de reversa (10 mM), 0.2 µl 5U/µl de Taq polimerasa (New England BioLabs; Pickering, ON, Canadá), 2 µl DNAc y 8.8 µl de DEPC-dH<sub>2</sub>O. Las secuencias de cebadores y los ciclos de amplificación fueron los descritos en trabajos previos para el VAD<sup>(4,8)</sup>, VCRN<sup>(9)</sup>, VPAI<sup>(10)</sup> y VPCA<sup>(11)</sup>. Los productos de la PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa y las bandas amplificadas fueron capturadas con una cámara digital bajo luz UV. Además, se

determinó el número de copias de VAD y VCRN con PCR en tiempo real (qRT-PCR). Los demás virus no fueron cuantificados por no haber sido detectados en las muestras procesadas mediante RT-PCR. La curva estándar de calibración tanto para el VAD como para el VCRN se creó utilizando un fragmento de gen sintético gBlock® (Integrated DNA technologies; Coralville, IO, EUA) de 300 pb para cada uno. Los liofilizados de los genes sintéticos (500 ng) se diluyeron con 50 µl de dH<sub>2</sub>O libre de nucleasas para obtener una concentración inicial de 10 ng/µl que se utilizó para hacer diluciones en serie de 10<sup>9</sup> a 10<sup>2</sup> número de copias de VAD y de VCRN.

Las reacciones de qRT-PCR se realizaron en un Termociclador BioRad CFX96™ (Bio-Rad Laboratories; Mississauga, ON, Canadá), con PowerUp™ SYBRgreen™ (Supermix 2X) (Applied Biosystems; Foster City, CA, EUA), en placas para PCR de 96 pozos Hard-Shell® (BioRad Laboratories; Mississauga, ON, Canadá). Las reacciones se realizaron en un volumen final de 20 µl que contenían las siguientes mezclas. Para el VAD, 10 µl de Supermix 2X (Applied Biosystems; Foster City, CA, EUA), 0.4 µl de oligonucleótidos directo y de reversa (200nM), 7.2 µl de dH<sub>2</sub>O libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, ON, Canadá) y 2 µl de ADNc o las diluciones del gen sintético. Para el VCRN, 10 µl de Supermix 2X (Applied Biosystems; Foster City, CA, EUA), 0.8 µl de oligonucleótidos directo y de reversa (400nM), 6.4 µl de dH<sub>2</sub>O libre de nucleasas (Invitrogen; Burlington, ON, Canadá) y 2 µl de ADNc o las diluciones del gen sintético. Las secuencias de oligonucleótidos y ciclos de amplificación fueron los descritos en trabajos previos para el VAD<sup>(12)</sup> y para el VCRN<sup>(13)</sup>.

El software del termociclador proporcionó el cálculo de la eficiencia, el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) y la pendiente de la curva estándar del ARN viral. Para determinar la cantidad de ARN viral en las diluciones seriadas se utilizó la siguiente fórmula:

Números copias de ARN viral = (ng del fragmento de gen sintético) (6.022x10<sup>23</sup>) / (longitud del fragmento de gen sintético) (1x10<sup>9</sup>) (650 D). Donde: 650 D es el peso promedio de un par de bases y 6.022x10<sup>23</sup> es el número de Avogadro<sup>(14)</sup>. Posteriormente, se construyó un gráfico con los valores de Ct frente al número de copias de ARN viral inicial y con una ecuación de regresión lineal se calculó el número de copias virales de VAD y VCRN en las muestras.

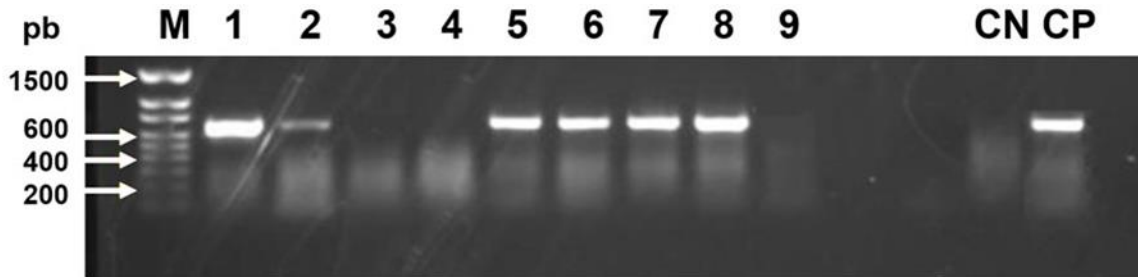
Para determinar si hubo diferencias en las prevalencias de las virosis entre regiones, los datos se analizaron con pruebas de comparación de equidad de proporciones usando la corrección de Benjamini-Hochberg. También, antes de analizar y comparar la intensidad de las infecciones, los datos se sometieron a pruebas de Shapiro-Wilk y de Bartlett, para analizar los supuestos de normalidad y homocedasticidad, respectivamente. Los datos no tuvieron una distribución normal o fueron homocedásticos, por lo que, para comparar la carga de las virosis, los datos se transformaron a logaritmo natural y después se sometieron a análisis de varianza. Cuando se detectaron diferencias significativas, se hicieron comparaciones por



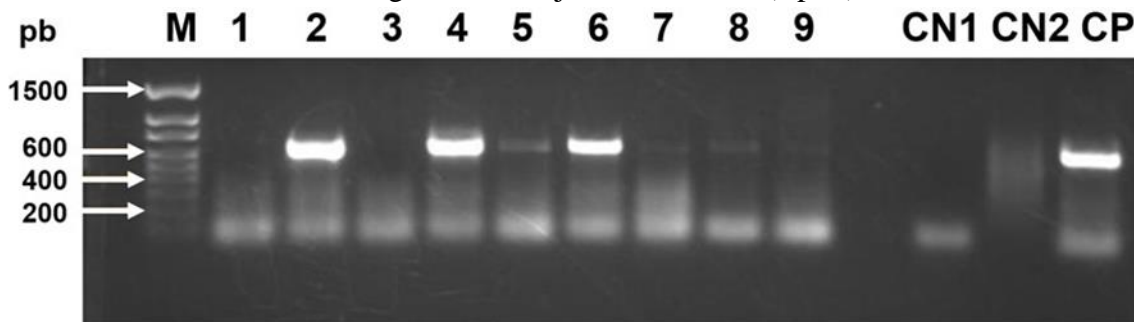
pares de regiones con pruebas t de Student y la corrección de Benjamini-Hochberg. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa R 3.3.1 (Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

Se detectaron dos virosis en colonias de abejas del estado de Jalisco, las causadas por el VCRN (Figura 1) y el VAD (Figura 2). Dos virosis no fueron detectadas, las causadas por el VPAI y el VPC. De los virus detectados, la prevalencia a nivel estatal del VCRN fue de 66 % y la del VAD de 38 %. La prevalencia e intensidad de las infecciones causadas por los virus diagnosticados se presentan en el Cuadro 1.

**Figura 1:** Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 698 pares de bases del virus de la celda real negra (VCRN) en las columnas 1, 2, 5, 6, 7 y 8. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5)



**Figura 2:** Fotografía de un gel de agarosa que muestra bandas de 642 pares de bases del virus de las alas deformes (VAD) en las columnas 2, 4 y 6. En la reacción de RT-PCR se usa un gen de la abeja como control (RpS5)



**Cuadro 1:** Prevalencia e intensidad media de infecciones virales que afectan a colonias de abejas melíferas en el estado de Jalisco, México

Patógeno	N	Prevalencia (%)	Intensidad ± E.E. <sup>1</sup>
Virus alas deformes	79	38.0	4,083.40 ± 2,676.05 <sup>1</sup>
Virus celda real negra	79	65.8	0.49 ± 0.23 <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Número de copias virales por µg de ARN x 10<sup>6</sup>

A nivel regional, el VAD tuvo una prevalencia significativamente más baja en las colonias de las regiones Sureste y Norte, con solo 8 %, en comparación con la de las colonias de las regiones Sur, Sierra Amula y Centro ( $P < 0.05$ , Cuadro 2). Para la intensidad de infecciones causadas por el VAD, no hubo diferencias significativas entre colonias de las diferentes regiones ( $F_{5,73} = 0.64$ ,  $P = 0.67$ ).

**Cuadro 2:** Prevalencia e intensidad media de infección del virus de las alas deformes (VAD) en obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México

Región	N	Prevalencia (%)	Intensidad $\pm$ E.E. <sup>1</sup>
Altos	12	33.3 <sup>a,b</sup>	368.81 $\pm$ 239.91
Centro	12	66.7 <sup>a</sup>	955.33 $\pm$ 611.20
Sierra Amula	15	60.0 <sup>a</sup>	14,652.31 $\pm$ 13,740.36
Norte	12	8.3 <sup>b</sup>	176.67 $\pm$ 85.12
Sur	16	50.0 <sup>a</sup>	955.19 $\pm$ 476.21
Sureste	12	8.3 <sup>b</sup>	5,778.83 $\pm$ 3,860.24

<sup>1</sup> Número de copias virales por  $\mu\text{g}$  de ARN  $\times 10^6$ .

<sup>ab</sup> Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en pruebas de comparación de equidad de proporciones con corrección de Benjamini-Hochberg ( $P < 0.05$ ).

El VCRN se detectó en el 42 al 81 % de las colonias de las regiones estudiadas, pero no hubo diferencias significativas en la prevalencia de este virus entre regiones ( $P > 0.05$ , Cuadro 3). Para la intensidad de las infecciones causadas por el VCRN si se encontraron diferencias significativas entre colonias de distintas regiones ( $F_{5,73} = 7.14$ ,  $P < 0.01$ ). Por ejemplo, la región Sur tuvo colonias con niveles de infección significativamente más altos que los de colonias de las demás regiones, excepto la región Centro, que fue la segunda región con los valores más elevados, mientras que la región Norte fue la de menores niveles de infección. En México existe poca información sobre la presencia de enfermedades virales de las abejas melíferas, ya que hace apenas una década se reportó por primera vez la detección molecular del VCE, VAD, VPAI y VCRN<sup>(4,5)</sup> en el altiplano mexicano, pero nada se sabe sobre la prevalencia o intensidad de infección de estas virosis en casi todos los estados del país. En la región norte de México, se reportó la presencia del VAD, VCRN, Virus de Kachemira (VK), VPAI y virus filamentoso (VF) en colonias del estado de Chihuahua, pero no se determinó su prevalencia e intensidad<sup>(15,16)</sup>. Por lo anterior, los resultados de este estudio son un punto de referencia para futuras investigaciones en las diferentes regiones de importancia apícola de México.

**Cuadro 3:** Prevalencia e intensidad media de infección del virus de la celda real negra (VCRN) en obreras adultas de colonias de abejas melíferas en diferentes regiones del estado de Jalisco, México

Región	N	Prevalencia (%)	Intensidad $\pm$ E.E. <sup>1</sup>
Altos	12	41.7	0.12 $\pm$ 0.07 <sup>b,c</sup>
Centro	12	66.7	0.37 $\pm$ 0.21 <sup>a,b</sup>
Sierra Amula	15	66.7	0.06 $\pm$ 0.05 <sup>c,d</sup>
Norte	12	58.3	0.02 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
Sur	16	81.2	1.94 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>
Sureste	12	75.0	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>

<sup>1</sup> Número de copias virales por  $\mu$ g de ARN  $\times$  10<sup>6</sup>.

<sup>abcd</sup> Literales diferentes indican diferencias significativas basadas en análisis de varianza y pruebas t con corrección de Benjamini-Hochberg ( $P < 0.05$ ) de datos transformados a logaritmo natural

En otros países del continente americano se han reportado varios virus con prevalencias variables. Sin embargo, la mayoría tienen en común al VAD y al VCRN como los virus más prevalentes. Por ejemplo, en Uruguay, el 100 % de las colonias analizadas presentaron VAD y VCRN<sup>(17,18)</sup>. En Argentina y Chile, el virus más prevalente fue el VAD, el cual se detectó en el 35 y 37 % de las colonias muestreadas, respectivamente<sup>(19,20)</sup>. En Cuba, el VAD fue el virus más prevalente, detectado en 91 % de las colonias analizadas, pero no se detectó el VCRN<sup>(21)</sup>. En Colombia se detectaron el VAD y el VCRN con prevalencias de 19.9 y 10.6 %, respectivamente<sup>(22)</sup>. En cuanto a Norteamérica, en los EUA se comparó la prevalencia de ocho virus durante seis años y en todos los años el VAD se mantuvo como el virus más prevalente dentro de un rango de 65 a 92 %, seguido de cerca por el VCRN, con un rango de 60 a 92 %<sup>(23)</sup>.

En cuanto a intensidad de las infecciones virales, a excepción de algunos trabajos realizados en EUA y Canadá, ningún estudio realizado en países de Centroamérica, el Caribe, o México, ha reportado niveles de infección virales en las abejas a nivel regional de un estado, a diferencia de este estudio, que hasta donde se sabe, es el primero en reportar intensidades de infecciones causadas por virus en las abejas melíferas a nivel regional en México.

Entre las regiones hubo diferencias significativas en las prevalencias de las infecciones virales de colonias de abejas. El VAD fue detectado con una prevalencia significativamente baja de 8 % en colonias de las regiones Sureste y Norte. En contraposición a esta baja prevalencia, en las regiones Sur, Sierra Amula y Centro, la prevalencia del VAD fue mayor al 50 %. En cuanto a la intensidad de la infección causada por el VAD, no hubo diferencias significativas entre las regiones; en todas fue alto en las muestras positivas. Para la virosis causada por el VCRN no se encontraron diferencias significativas en prevalencia entre regiones. Sin embargo, para la intensidad de la infección sí hubo diferencias significativas, con las colonias de la región Sur, presentando niveles de infección más altos de la virosis que

las colonias de las demás regiones, excepto la región Centro. En cuanto a intensidad de infección, los niveles de infección encontrados en este estudio fueron altos para el VAD, con  $4083.4 \times 10^6$  copias virales por  $\mu\text{g}$  de ARN y relativamente bajos para el VCRN con  $0.49 \times 10^6$  copias virales por  $\mu\text{g}$  de ARN. Es decir, la intensidad de las infecciones del VAD en abejas de Jalisco, fue aproximadamente 8,000 veces más alta que la de las infecciones del VCRN.

Algunos de los factores que pudieron haber influido en las diferencias en prevalencia e intensidad viral en las colonias de abejas melíferas entre regiones de Jalisco, se incluyen efectos del entorno, el genotipo de las abejas, y posiblemente cepas diferentes de los virus. En cuanto a efectos climáticos entre regiones de México, se sabe que las infecciones del VAD son más prevalentes y elevadas en colonias ubicadas en zonas de clima templado que en colonias establecidas en clima tropical<sup>(24)</sup>. Los autores del estudio citado plantearon que esto ocurre debido a que los climas más fríos favorecen la transmisión y replicación del VAD y pudieran reducir la respuesta inmune de las abejas, lo que las hace más susceptibles al virus. Los autores también plantearon el efecto de la interacción entre el clima y el parasitismo por *V. destructor*, ácaro que está fuertemente relacionado con la prevalencia e intensidad del VAD, ya que no solo sirve de vector del virus, sino que este se multiplica en sus tejidos<sup>(25,26)</sup>. Por ello, colonias con mayor infestación por *V. destructor* suelen tener prevalencias e intensidades de infección del VAD más altas que colonias con baja infestación del ácaro<sup>(27)</sup>. Además, el genotipo de las abejas varía con su grado de africanización. Se ha demostrado que la intensidad de infección causada por el VAD y por el VCRN es más alta en colonias con mitotipo o morfotipo europeo que en colonias con mitotipo o morfotipo africano<sup>(28)</sup>. Es posible que las colonias menos infectadas con virosis en este estudio hayan tenido mayor grado de africanización que las más infectadas. Sin embargo, esta hipótesis tendría que ser investigada.

Los elevados niveles de infección del VAD son preocupantes, ya que si los apicultores descuidan las medidas de control de *V. destructor*, la prevalencia e intensidad de las infecciones del VAD podrían aumentar. Se sabe que junto con el parasitismo por *Varroa*, este virus puede debilitar a las colonias hasta ocasionar su colapso<sup>(1)</sup>. Por ello es fundamental hacer hincapié en la importancia de implementar una adecuada estrategia de control de las infestaciones de *V. destructor*, para mantener las infecciones del VAD lo más bajas posible en las colonias de abejas. En cuanto al VCRN, aunque tuvo una alta prevalencia, sus niveles de infección fueron bajos. Sin embargo, este estudio fue estacional, por lo que habría que llevar a cabo estudios a lo largo de todo un año y por varios años para confirmar si este es un virus que pudiera representar daños potenciales a la apicultura de Jalisco.

En conclusión, la virosis de las abejas melíferas más prevalente en el estado de Jalisco fue la del VCRN que se detectó en el 66 % de las muestras, mientras que la virosis del VAD, fue detectada en el 38 % de las colonias. Los niveles de infección para el VAD fueron elevados

(8,000 veces más altos que los del VCRN). Las regiones con mayor prevalencia del VAD fueron la Centro, Sur, Altos y Sierra amula. En cuanto a la intensidad de infecciones del VAD, no hubo diferencias significativas entre regiones. Para la prevalencia del VCRN tampoco hubo diferencias significativas entre regiones, pero si las hubo para la intensidad de infección. Las regiones con niveles de infección más altos fueron la Sur y Centro. Se recomienda llevar a cabo estudios adicionales con muestreos en varias estaciones del año y por varios años, para conocer bajo que condiciones y épocas, las virosis pudieran ser más dañinas a la apicultura y para diseñar estrategias de control.

### Agradecimientos y conflictos de interés

Los autores agradecen a los 42 apicultores que amablemente facilitaron la colecta de las muestras de sus colonias. A Sara Dino, Ulises Nuño, Shaira Alvarado y Miriam Rángel, que ayudaron en la colecta de las muestras. Este estudio fue parcialmente financiado por fondos para la investigación del CUSur otorgados a J.T. y por el fondo Pinchin de la Universidad de Guelph a E.G. Los autores declaran no tener conflicto de interés.

### Literatura citada:

1. Dainat B, Evans JD, Chen YP, Gauthier L, Neumann P. Dead or alive: deformed wing virus and *Varroa destructor* reduce the life span of winter honeybees. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(4):981-987. <https://doi.org/10.1128/AEM.06537-11>.
2. Cox-Foster DL, Conlan S, Holmes EC, Palacios G, Evans JD, Moran NA, *et al.* A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 2007;318(5848):283-287. <https://doi.org/10.1126/science.1146498>.
3. Evans JD, Saegerman C, Mullin C, Haubruge E, Nguyen BK, Frazier M, *et al.* Colony collapse disorder: a descriptive study. *PloS ONE* 2009;4(8):e6481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>.
4. Guzman-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Espinosa-Montaña LG, Correa-Benítez A, Anguiano-Báez R, Ponce-Vázquez R. First detection of four viruses in honey bee (*Apis mellifera*) workers with and without deformed wings and *Varroa destructor* in México. *J Apic Res* 2012;51(4):342-346. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.51.4.08>.
5. Guzman-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Correa-Benítez A, Espinosa-Montaña LG, Uribe-Rubio JL. A scientific note on the first detection of black queen cell virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Mexico. *Apidologie* 2013;44(4):382-384. <https://doi.org/10.1007/s13592-012-0191-4>.

6. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Panorama Agroalimentario, edición 2022. México. 2022: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural; 2022. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/panorama-agroalimentario-258035>.
7. Contreras-Escareño F, Pérez-Armendáriz B, Echazarreta CM, Cavazos-Arroyo J, Macías-Macías JO, Tapia-González JM. Características y situación actual de la apicultura en las regiones Sur y Sureste de Jalisco, México. *Rev Mex Cienc Pecu* 2013;4(3):387-398.
8. Chen YP, Higgins JA, Feldlaufer MF. Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Appl Environ Microbiol* 2005;71(1):436-441. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.436-441.2005>.
9. Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, *et al.* Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl Environ Microbiol* 2004;70(12):7185-7191. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7185-7191.2004>.
10. Maori E, Paldi N, Shafir S, Kalev H, Tsur E, Glick E, *et al.* IAPV, a bee-affecting virus associated with Colony Collapse Disorder can be silenced by dsRNA ingestion. *Insect Mol Biol* 2009;18(1):55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2009.00847.x>.
11. Li B, Deng S, Yang D, Hou C, Diao Q. Complete sequences of the RNA 1 and RNA 2 segments of chronic bee paralysis virus strain CBPV-BJ detected in China. *Arch Virol* 2017;162(8):2451-2456. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3373-6>.
12. Di Prisco G, Cavaliere V, Annoscia D, Varricchio P, Caprio E, Nazzi F, *et al.* Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *PNAS* 2013;110(46):18466-18471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314923110>.
13. Chantawannakul P, Ward L, Boonham N, Brown M. A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in varroa mites collected from a Thai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *J Invertebr Pathol* 2006;91(1):69-73. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.11.001>.
14. Morfin N, Macías-Macías JO, Guzman-Novoa E. Viral quantification in bee samples using synthetic DNA sequences with Real-Time PCR (qPCR). In: Aquino de Muro M editor. *Virus-Host Interactions: Methods and Protocols*, Meth Mol Biol 2610. New York, NY, USA: Springer Nature;2023:57-66, [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2895-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2895-9_5).

15. García-Anaya MC, Romo-Chacón A, Zamudio-Flores PB, Ríos-Velasco C, Acosta-Muñiz CH. Detection of viruses in colonies of honey bees (*Apis mellifera* L.) in the state of Chihuahua, Mexico. *J Apic Res* 2016;55(3):240–242. <https://doi.org/10.1080/00218839.2016.1226605>.
16. García-Anaya MC, Romo-Chacón A, Sáenz-Mendoza AI, Pérez-Ordoñez G, Acosta-Muñiz CH. Detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) and *Apis mellifera* filamentous virus (AmFV) in honey bees in Mexico. *J Apic Sci* 2018;62(1):141. <https://doi.org/10.2478/jas-2018-0009>.
17. Antúnez K, D'Alessandro B, Corbella E, Ramallo G, Zunino P. Honeybee viruses in Uruguay. *J Invertebr Pathol* 2006;93(1):67-70. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.05.009>.
18. Mendoza Y, Antúnez K, Branchiccela B, Anido M, Santos E, Invernizzi C. *Nosema ceranae* and RNA viruses in European and Africanized honeybee colonies (*Apis mellifera*) in Uruguay. *Apidologie* 2014;45(2):224-234. <https://doi.org/10.1007/s13592-013-0241-6>.
19. Molineri AI, Pacini A, Giacobino A, Bulacio-Cagnolo N, Aignasse A, Zago L, *et al.* Prevalence of honey bee (*Apis mellifera*) viruses in temperate and subtropical regions from Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2017;49(2):166-173. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.12.004>.
20. Vargas M, Arismendi N, Riveros G, Zapata N, Bruna A, Vidal M, *et al.* Viral and intestinal diseases detected in *Apis mellifera* in Central and Southern Chile. *Chil J Agric Res* 2017;77(3):243-249. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000300243>.
21. Luis AR, García CAY, Invernizzi C, Branchiccela B, Piñeiro AMP, Morfi AP, *et al.* *Nosema ceranae* and RNA viruses in honey bee populations of Cuba. *J Apic Res* 2020;59(4):468-471. <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1749451>.
22. Tibatá VM, Sánchez A, Palmer-Young E, Junca H, Solarte VM, Madella S, *et al.* Africanized honey bees in Colombia exhibit high prevalence but low level of infestation of *Varroa* mites and low prevalence of pathogenic viruses. *PLoS ONE* 2021;16(5):e0244906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244906>.
23. Traynor KS, Rennich K, Forsgren E, Rose R, Pettis J, Kunkel G, *et al.* Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie* 2016;47(3):325-347. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0431-0>.

24. Anguiano-Báez R, Guzman-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Espinosa-Montaña LG, Correa-Benítez A. *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) parasitism and climate differentially influence the prevalence, levels, and overt infections of deformed wing virus in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *J Insect Sci* 2016;16(1):44. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew029>.
25. Gisder S, Aumeier P, Genersch E. Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *J Gen Virol* 2009;90(2):463-467. <https://doi.org/10.1099/vir.0.005579-0>.
26. Sabahi Q, Morfin N, Nehzati-Paghaleh G, Guzman-Novoa E. Detection and replication of deformed wing virus and black queen cell virus in parasitic mites, *Varroa destructor*, from Iranian honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J Apic Res* 2020;59(2):211-217. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1686576>.
27. Emsen B, Hamiduzzaman MM, Goodwin PH, Guzman-Novoa E. Lower virus infections in *Varroa destructor*-infested and uninfested brood and adult honey bees (*Apis mellifera*) of a low mite population growth colony compared to a high mite population growth colony. *Plos ONE* 2015;10(2):e0118885. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118885>.
28. Ramos-Cuellar AK, De la Mora A, Contreras-Escareño F, Morfin N, Tapia-González JM, Macías-Macías JO, *et al*. Genotype, but not climate, affects the resistance of honey bees (*Apis mellifera*) to viral infections and to the mite *Varroa destructor*. *Vet Sci* 2022;9(7):358. <https://doi.org/10.3390/vetsci9070358>.



## CONTENIDO CONTENTS

### ARTÍCULOS / ARTICLES

Pags.

<b>Estudio de la Estructura y Diversidad genética de ganado Holstein del sistema familiar en México</b> Study of the Genetic Structure and Diversity of Holstein cattle in the small holder system in Mexico Felipe de Jesús Ruiz-López, José G. Cortés-Hernández, José Luis Romano-Muñoz, Fernando Villaseñor-González, Adriana García-Ruiz.....	249
<b>Efecto de diferentes protocolos de castración en indicadores productivos de cerdos: meta-análisis</b> Effect of various castration protocols on production indicators in pigs: meta-analysis Humberto Rafael Silva-Santos, Francisco Ernesto Martínez-Castañeda, Gregorio Álvarez-Fuentes, María de la Salud Rubio-Lozano, María Elena Trujillo-Ortega.....	267
<b>Acumulación de materia seca, rendimiento y calidad nutricional del forraje de híbridos de maíz cosechados a diferentes días después de la siembra</b> Dry matter accumulation, yield, and nutritional quality of forage of corn hybrids harvested at different days after sowing Diego Eduardo Ramírez Gutiérrez, José de Jesús Olmos Colmenero, Alfonso Peña Ramos, Juan Isidro Sánchez Duarte, Ernesto Medina Núñez, Silvano Gallardo Ramírez, Omar Iván Santana.....	287
<b>Análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X de enterolitos de equinos en el valle de Aburrá, Antioquia, Colombia</b> Electron microscopy and X-ray diffraction analysis of equine enteroliths from the Aburrá Valley in Antioquia, Colombia Sergio Andrés Vélez Gil, Juan José Patiño Marulanda, José Ramón Martínez Aranzales.....	302
<b>Prevalencia y factores de riesgo asociados a Cryptosporidium spp. en bovinos de leche de Chiquinquirá (Colombia)</b> Prevalence and risk factors associated with Cryptosporidium spp. in dairy cattle in Chiquinquirá (Colombia) Diana M. Bulla-Castañeda, Deisy J. Lancheros Buitrago, Leneth B. Castañeda Sedano, Rosa I. Higuera Piedrahita, Martin O. Pulido-Medellin.....	310
<b>Influencia del tipo de recipiente y de los métodos tradicionales en el almacenamiento a largo plazo de la miel producida por Scaptotrigona mexicana sin aguijón: compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes</b> Influence of the type of container and traditional methods on the long-term storage of honey produced by stingless Scaptotrigona mexicana: bioactive compounds and antioxidant properties Naida Juárez-Trujillo, Simón Carrouché, María Remedios Mendoza-López, Juan L. Monribot- Villanueva, José A. Guerrero-Analco, Maribel Jiménez-Fernández.....	323
<b>Un efecto novedoso del extracto acuoso de semillas de Pimpinella anisum sobre garrapatas de perros domésticos (Canis lupus familiaris)</b> A novel effect of aqueous extract of Pimpinella anisum seeds on ticks of domestic dogs (Canis lupus familiaris) William Fernando Várguez-Tec, Sara Luz Nahuat-Dzib, Julia Cano-Sosa, Lorena Reyes-Vaquero, Edgar E. Lara-Ramírez, Benjamín Abraham Ayil-Gutiérrez, Angel Virgilio Domínguez-May.....	344
<b>Conocimiento socio-ecológico de la actividad apícola en la Costa Chica de Guerrero, México</b> Socio-ecological knowledge of the beekeeping activity in the Costa Chica region of Guerrero, Mexico José Cámara-Romero, William Cetzal-Ix, Luis Alaniz-Gutiérrez, Agustín Rojas-Herrera, José Aparicio- López, Columba Rodríguez-Alviso.....	360
<b>Prevalencia de Fasciola hepatica y Calicophoron spp. en vacunos de crianza extensiva del distrito Florida (Amazonas), Perú</b> Prevalence of Fasciola hepatica and Calicophoron spp. in extensively reared cattle in the Florida district (Amazonas), Peru Medali Cueva-Rodríguez, Teófilo Torrel, Cristian Hobán, Wuesley Alvarez-García, Flor Mejía, Luis Vargas-Rocha.....	376
<b>Influencia del espacio vital del corral de engorda en las variables de producción, rasgos de calidad de la canal y la carne en novillos Holstein</b> Influence of feedlot living space on production variables, carcass and meat quality traits in Holstein steers Ana Mireya Romo-Valdez, Cristina Pérez-Linares, Francisco Gerardo Ríos-Rincón, Fernando Figueroa-Saavedra, Alberto Barreras-Serrano, Beatriz Isabel Castro-Pérez, Eduardo Sánchez-López, Georgina Valentina Cervantes Cazarez.....	393
<b>REVISIONES DE LITERATURA / REVIEWS</b>	
<b>Lenteja de agua (Lemna minor): potencial alimentario y ambiental. Revisión</b> Common duckweed (Lemna minor): food and environmental potential. Review Olga Jaimes Prada, Olga Lora Díaz, Katherine Tache Rocha.....	404
<b>Implicación de las Fusariotoxinas en la producción avícola. Revisión</b> Implication of Fusariotoxins in poultry production. Review Gabriela Guadalupe Gómez Verduzco, Ernesto Ávila González, Guillermo Téllez Isaías, Juan Carlos Del Río García, Jacqueline Uribe Rivera.....	425
<b>Contribución de gramíneas forrajeras a la fijación biológica de nitrógeno y su respuesta a la inoculación de diazótrofes. Revisión</b> Contribution of forage grasses to biological nitrogen fixation and their response to diazotroph inoculation. Review Dania Fonseca López, Nelson Vivas Quila, Raúl Cuervo Mulet, Carlos Eduardo Rodríguez Molano.....	446
<b>NOTAS DE INVESTIGACIÓN / TECHNICAL NOTES</b>	
<b>Frecuencia de seropositividad contra el circovirus porcino tipo 2 (PCV2) en el área metropolitana de Monterrey, Nuevo León y su área periférica</b> Frequency of seropositivity against porcine circovirus type 2 (PCV2) in the metropolitan area of Monterrey, Nuevo León, and its peripheral area José Pablo Villarreal-Villarreal, César Dávila-Martínez, Heidi Giselle Rodríguez-Ramírez.....	462
<b>Prevalencia e intensidad de virosis de abejas melíferas (Apis mellifera) en seis regiones del estado de Jalisco, México</b> Prevalence and infection intensity of honey bee (Apis mellifera) viral diseases in six regions of the state of Jalisco, Mexico Ana Karen Ramos-Cuellar, Álvaro De la Mora, Francisca Contreras-Escareño, Nuria Morfin, José María Tapia-González, José Octavio Macías-Macías, Tatiana Petukhova, Adriana Correa-Benítez, Ernesto Guzman-Novoa.....	471