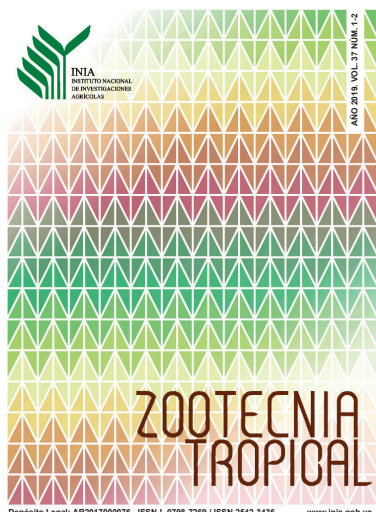




INIA
INSTITUTO NACIONAL
DE INVESTIGACIONES
AGRÍCOLAS

AÑO 2019. VOL. 37 NÚM. 1-2

ZOOTECNIA TROPICAL



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Giomar G. Blanco E.	Presidente
Deisy Carvajal	Gerente General
Nohelia R. Rodríguez O.	Gerente de Investigación
Doris Blanco E.	Gerente de Desarrollo Tecnológico
Betsy Camacho	Gerente de Producción Social
Nicolas García	Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editores Asociados

Juan A. Vergara L.(LUZ-Venezuela)	Sección Alimentación Animal
Débora M. Paxiao (PECEGE-Brasil)	Sección Genética
Oscar De La Rosa (INIA-Venezuela)	Sección Genética Molecular
Oziel D. Montañez V. (UDG-Mexico)	Sección Nutrición
José J. Alió M.(ULEAM-Ecuador)	Sección Piscicultura y Acuicultura

Consejo Asesor

Omar G. Verde S.	Venezuela
Juan F. Capote A.	España
Glaforo Torres H.	México
Manuel E. Milla P.	Venezuela
Bertha Chongo G.	Cuba
Siomara Martínez M.	Cuba
Miguel Batista A.	España
Carlos M. Becerril P.	México

Indización

Biosis Zoological Records	(EUA)
Agroforestry Abstracts	(EUA)
IICA - CIDIA	(Costa Rica)
Tropag & Rural	(Holanda)
AGRIS - FAO	(Italia)
LATINDEX	(México)
IAMSLIC	(USA)
PERIÓDICA	(México)
MEDIATHEK	(Alemania)
Base Agrícola Venezolana	(Venezuela)
Bioline International	(Canadá)
SCIELO	(Venezuela)
SCOPUS	(EUA)
OEI	(Colombia)
Citefactor	(Canadá)

ISSN-L 0798-7269 / ISSN 2542-3436
Dep. Legal: AR2017000076

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

Correo electrónico: zootropi@gmail.com

Miembros Fundadores:

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

Comite Editorial

Belkys Vásquez	Editora Jefe
Reine Mejias	Editora Asistente
Oscar De La Rosa	Editor Técnico
Oscar De La Rosa	Diagramación

Editada por la Gerencia de Investigación
Coordinación del Área de Gestión
de la Información

ZOOTECNIA TROPICAL

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

EDITORIAL

La producción científica permite expresar el conocimiento resultante del trabajo intelectual realizado en un proceso de investigación científica, en una determinada área del saber (Piedra y Martínez 2007). Se mide mediante la cantidad de publicaciones que produce un autor, una institución o un país (Spinak 1996). En este proceso de producción científica son protagonistas importantes los autores con sus contribuciones y los revisores pares que mediante su trabajo, seleccionan y priorizan los artículos.

Este trabajo de autores y revisores requiere de infraestructuras digitales que permita a los científicos compartir información e incrementar la visibilidad de su producción científica, lo cual es crucial para los mismos investigadores y las instituciones. Así mismo, esta estructura digital es importante para el reconocimiento de los árbitros por su actividad como revisores pares.

Consecuente con lo anterior, el equipo editorial de la revista *Zootecnia Tropical* incorpora nuevas mejoras a su portal OJS las cuales presenta en este número 1-2 del año 2019. La primera, constituye un acceso directo para el registro de los usuarios a **ORCID**; este registro permite a los científicos el reconocimiento de todo tipo de contribuciones de investigación e innovación, además de facilitar la conexión entre profesionales a través de sus disciplinas y organizaciones. La segunda, es un acceso directo para los árbitros que les permiten la afiliación y creación de una cuenta personal a **ReviewerCredits**, la cual les otorga la posibilidad de certificar, medir y obtener reconocimiento por su actividad como revisores pares. Esperamos que estas mejoras de nuestra plataforma OJS sean de utilidad para los autores y revisores.

En cuanto al contenido de este número, se incluyen contribuciones en las áreas de acuicultura, inocuidad alimentaria, sistemas agroforestales y reproducción animal. Estas abarcan estudios sobre caracterización de pesquerías artesanales de camarón (Venezuela), identificación de *Yersinia enterocolitica* en pescados para el consumo humano (Brasil), determinación de la calidad sanitaria del jamón cocido, evaluada durante su procesamiento (Venezuela), estudio de la productividad de forrajes en sistemas agroforestales (Brasil) y evaluación de la hormona antimülleriana como indicador de respuesta superovulatoria de hembras bovinas (Ecuador). Todos constituyen contribuciones importantes para el desarrollo de las diferentes áreas de conocimiento a las que tributan.

La caracterización de pesquerías artesanales aporta datos e insumos que contribuyen a la creación de normas así como al desarrollo y mejora de las políticas de manejo integral. Por otra parte, La inocuidad alimentaria es un tema importante de interés público. A pesar de los esfuerzos realizados, todavía existe una carga considerable de enfermedades transmitidas por los alimentos, en la que los microorganismos juegan un papel destacado. El monitoreo de la contaminación en la cadena alimentaria es una fuente importante de información para la creación de regulaciones y recomendaciones que promuevan una mejora relevante de la inocuidad de los alimentos de origen animal.

Los sistemas agroforestales tienen usos potenciales en la estabilización de tierras en pendiente y en la recuperación de tierras degradadas, por lo que su evaluación permite establecer las bases para maximizar el uso de la tierra y la productividad de manera sostenible. Por otra parte, el estudio de la hormona antimülleriana aporta elementos para la tecnificación de las unidades de producción bovina.

Me despido esperando que este número sea de utilidad para investigadores, docentes, profesionales y estudiantes del área.

Belkys J. Vásquez M.

TABLA DE CONTENIDO Vol. 37 N° 1-2

Artículos Científicos

da Rosa, JV; de Souza, AIA; Timm, CD.

- Yersinia enterocolitica* em pescados do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil** 7
 (*Yersinia enterocolitica* from fishes from the Lagoa dos Patos estuary, Brazil)

Silva, FFC; Ferreira, JLS; Calil, FN.

- Produtividade da forrageira Tamani em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) na região sul de Goiás** 15
 (*Tamani forage productivity in an integration crop-livestock-forest (ICLS) system in south of Goiás*)

Macías A., J; Vivanco M., Hurtado G., E; Carreño M., Á.

- Niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y su relación con la población folicular en hembras Brahman** 25
 (*Plasma levels of the Anti-Müllerian Hormone and its relationship with the follicular population in Brahman females*)

Mesa F., A; Mesa P., C; Millán H., O; Luigi S., T; Ramírez M., L; Rojas, L.

- Evaluación de la calidad sanitaria durante el procesamiento del jamón cocido, en una empresa del estado Carabobo, Venezuela** 35
 (*Assesment of the sanitary quality during processing of cooked ham in a company of Carabobo state, Venezuela*)

Nota Técnica

Garcés M., J; Díaz L., Á; González, L.

- Caracterización preliminar de la pesca artesanal de arrastre camaronero en el occidente de Venezuela** 45
 (*Preliminary characterization of artisanal shrimp trawling fi sheries in the western of Venezuela*)

- Instrucciones al autor 53

***Yersinia enterocolitica* em pescados do estuário da Lagoa dos Patos, Brasil**

Janaina V. da Rosa^{1*}, Agnes I. A. de Souza¹, Cláudio D. Timm¹

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Departamento de Veterinária Preventiva. Pelotas. Brasil. *Correio eletrônico: janavrosa@yahoo.com.br.

RESUMO

Yersinia enterocolitica, uma bactéria que causa doença transmitida por alimentos (DTA), já foi encontrada em lagoas e lagos, e tem sido isolada de carne de porco, bovino, ostras, peixe e leite cru. A bactéria causa síndromes gastrintestinais e é capaz de se multiplicar em temperaturas utilizadas durante o armazenamento do pescado. O trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Y. enterocolitica* em peixes capturados no estuário da Lagoa dos Patos e verificar a similaridade entre isolados de amostras colhidas imediatamente após o desembarque e após o processamento para venda ao consumidor. 13 desembarques de pescados foram acompanhados e 130 peixes (65 inteiros e 65 eviscerados) foram analisados quanto à presença de *Y. enterocolitica*. O microrganismo foi isolado em 4,61 % das amostras de peixes inteiros e em 7,7 % das amostras de peixes prontos para o comércio, especificamente nas espécies *Paralichthys orbignyanus* e *Micropogonias furnieri*, o que constitui o primeiro registro da ocorrência desta bactéria nessas espécies de pescado. Os resultados demonstram a necessidade de orientar os manipuladores quanto aos cuidados higiênico-sanitários nas operações de limpeza e sanitização, de modo a evitar a contaminação do alimento por micro-organismos patogênicos. Também é preciso intensificar as ações de vigilância sanitária, a fim de evitar riscos no consumo de pescados.

Palavras chave: peixes, doenças transmitidas por alimentos, higiene dos alimentos.

***Yersinia enterocolitica* from fishes from the Lagoa dos Patos estuary, Brazil**

ABSTRACT

Yersinia enterocolitica, a bacterium that causes foodborne disease (FBD), has been found in ponds and lakes and has been isolated from pork, beef, oysters, fish, and raw milk. It causes gastrointestinal syndromes and can multiply at temperatures used during the storage of fish. The study aimed to investigate the presence of *Y. enterocolitica* in fish caught in the Lagoa dos Patos estuary and to verify the similarity between isolates from samples collected immediately after landing and after processing for sale to the consumer. 13 fish discharges were followed and 130 fishes (65 entire and 65 cleaned) were analyzed regarding *Y. enterocolitica* presence. The microorganism was isolated in 4.61 % of whole fish samples and 7.7 % of ready-to-trade fish samples, specifically *Paralichthys orbignyanus* and *Micropogonias furnieri* species, which constitutes the first record of this bacteria occurrence in these fish species. The results demonstrate the need to train the handlers about the hygienic handling during the operations of cleaning and sanitizing in order to avoid food contamination by pathogenic micro-organisms. It also needs to increase health surveillance activities in order to avoid risks in fish consumption.

Key words: fishes, foodborne diseases, food hygiene.

***Yersinia enterocolitica* en pescados del estuario de la Lagoa dos Patos, Brasil**

RESUMEN

Yersinia enterocolitica, una bacteria causante de enfermedad transmitida por alimentos (ETA), ha sido encontrada en estanques y lagos, y también se ha aislado de carne de cerdo, carne de res, ostras, pescado y leche cruda. Provoca síndromes gastrointestinales y es capaz de multiplicarse a las temperaturas usadas durante el almacenamiento del pescado. El estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de *Y. enterocolitica* en peces capturados en el estuario de Lagoa dos Patos y verificar la similitud entre los aislamientos de las muestras recolectadas inmediatamente después del desembarque y después del procesamiento para la venta al consumidor. Se monitorearon 13 lotes de pesca y 130 peces (65 eviscerados y 65 enteros) se analizaron para determinar la presencia de *Y. enterocolitica*. El microorganismo fue aislado en 4,61 % de muestras de pescado entero y 7,7 % de las muestras de pescado listo para el comercio, específicamente en las especies *Paralichthys orbignyanus* y *Micropogonias furnieri*, lo que constituye el primer registro de la ocurrencia de esta bacteria en estas especies de peces. Los resultados demuestran la necesidad de orientar a los manipuladores sobre los cuidados higiénico-sanitarios en las operaciones de limpieza y desinfección con el fin de evitar la contaminación de los alimentos por microorganismos patógenos. También es necesario intensificar las actividades de vigilancia de la salud con el fin de evitar riesgos en el consumo de pescado.

Palabras clave: peces, enfermedades transmitidas por alimentos, higiene de los alimentos.

INTRODUÇÃO

O pescado é rico em proteínas de elevado valor biológico, vitaminas, sais minerais e ácidos graxos insaturados, como ômega-3. Apresenta, ainda, alta digestibilidade e possui baixa quantidade de gordura saturada, o que propicia benefícios para a saúde humana (MAPA 2019). Pesquisas descrevem também a presença de efeito protetor contra doenças cardiovasculares, transtornos de desenvolvimento, depressão, ansiedade e doenças inflamatórias (MAPA 2019).

Devido a esses fatores, o seu consumo tem aumentado consideravelmente com o passar dos anos. Segundo Sartori e Amancio (2012) é recomendado o consumo de peixes uma ou duas vezes por semana. No território brasileiro, o consumo *per capita* é inferior a 10 kg/ano, sendo que o recomendado pela FAO é de 12 kg/ano, por isso ainda é necessário o incentivo do consumo no Brasil (ABP 2019).

De todos os produtos cárneos, o pescado é o mais sensível à deterioração, hidrólise de gorduras, oxidação e alteração por micro-organismos devido à sua atividade de água elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e pH próximo da neutralidade

(Soares e Gonçalves 2012). É um alimento que apresenta características intrínsecas favoráveis à sobrevivência de micro-organismos patogênicos (Bartolomeu *et al.* 2011).

A captura do pescado no Brasil é muito prejudicada pela existência de quantidades relevantes de comércio de pescado sem inspeção sanitária, sendo assim, ele acaba sendo vendido sem a garantia de segurança e inocuidade alimentar (Seafood Brasil 2019). Além disso, as empresas informais acabam vendendo produtos sem frescor, com troca de espécies e/ou peso abaixo do permitido (Seafood Brasil 2019). Os estabelecimentos industriais de carnes e derivados têm exigências específicas de estrutura e produção, de ordem higiênico-sanitária, visando a manter condições favoráveis no sentido de evitar contaminações que causem danos ao produto e/ou ao consumidor (Brasil 2017).

Yersinia enterocolitica é uma bactéria Gram-negativa que pode causar doença transmitida por alimentos (DTA), sendo responsável por causar síndromes gastrintestinais, que variam de enterite aguda a linfadenite mesentérica. Este micro-organismo tem sido isolado de amostras ambientais, como lagoas e lagos, e de alimentos, como carne de porco, carne bovina, ostras, peixe e leite

cru (Shanmugapriya *et al.* 2014). É uma bactéria psicotrófica, capaz de se multiplicar em temperaturas usualmente utilizadas durante o armazenamento do pescado (- 0,5 à 2 °C). Além disso, também resiste ao congelamento, aumentando sua importância em doenças transmitidas por pescados (Nesbakken 2015). A falta de higiene dos manipuladores de alimentos e técnicas de esterilização inadequadas, em adição a armazenamento impróprio, são fatores importantes que contribuem para a contaminação dos alimentos (Atobla 2012).

Segundo Baldisserotto (2009), não há estudos sobre a qualidade do pescado continental vendido ao consumidor no Rio Grande do Sul. Também faltam estudos que permitam conhecer a ocorrência de agentes etiológicos de DTA em pescados da região, em especial do estuário da Lagoa dos Patos, o que constitui a base indispensável para traçar planos efetivos de controle da sua transmissão para os consumidores. Assim sendo, o trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Y. enterocolitica* em peixes capturados no estuário da Lagoa dos Patos e verificar a similaridade entre isolados de amostras colhidas imediatamente após o desembarque e após o processamento para venda ao consumidor.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das amostras

Treze desembarques de pescados capturados, sendo nove na colônia de pescadores Z-3, no município de Pelotas, e quatro no mercado público do município de Rio Grande, foram acompanhados. Todas as capturas foram realizadas com métodos artesanais no estuário da Lagoa dos Patos, RS.

Foram coletados aleatoriamente em cada desembarque de ambos os municípios, cinco peixes inteiros no momento de cada desembarque e cinco após o processamento (evisceração e higienização) para venda aos consumidores, totalizando 130 amostras. Os pescados foram colocados em sacos estéreis e imediatamente encaminhados ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo, para pesquisa de *Y. enterocolitica*. As coletas foram realizadas durante os meses de abril a outubro de 2014.

Obtenção dos isolados do pescado inteiro

Para pesquisa de *Y. enterocolitica* foi utilizada a metodologia recomendada por Weagant e Feng (2007), com modificações. Foi realizada coleta de conteúdo intestinal com uso de zaragatoas (na metodologia recomendada foi utilizado 0,1 mL da amostra diluída em caldo de enriquecimento) e semeadura por esgotamento em ágar MacConkey (Acumedia, Lansing, Michigan, USA).

Foi utilizada uma temperatura de incubação de 37 °C por 24 horas, diferentemente do protocolo original de 30 °C. Após a incubação, três colônias lactose negativas foram semeadas em Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Acumedia) e, após incubação a 37 °C por 24 horas, foram misturadas com 20 % de glicerol, para manutenção de estoque a -70 °C. Os isolados foram recuperados em BHI a 37 °C por 24 horas, quando necessário.

Obtenção dos isolados de pescado pronto para venda

Para a pesquisa de *Y. enterocolitica*, foi coletado material com uso de zaragatoa estéril, a qual foi passada três vezes em cada um dos dois lados do dorso e posteriormente dos dois lados da superfície interna do pescado e imediatamente semeada por esgotamento em ágar MacConkey, seguindo procedimento conforme descrição anterior.

Extração de DNA

O DNA dos isolados suspeitos de *Y. enterocolitica* foi extraído conforme Sambrook e Russel (2001). Resumidamente, o pellet obtido por centrifugação de 1 mL de cultura em BHI foi ressuspensionado em 100 µL de tampão STES [Tris-HCl 0,2 M; NaCl 0,5 M; SDS 0,1 % (m/v); EDTA 0,01 M, pH 7,6]. Foram adicionados 50 µL de pérolas de vidro e 100 µL de fenol/clorofórmio.

Após homogeneização por 1 minuto, a mistura foi centrifugada a 13.000 *g* por 5 minutos. O sobrenadante foi coletado e precipitado em 2 volumes de etanol absoluto e 0,1 volume de NaCl 5 M a -70 °C por 30 minutos. Uma nova centrifugação foi realizada a 13.000 *g* por 20 minutos, o sobrenadante foi descartado e o pellet lavado com etanol a 70 %. Após eluição em 40 µL de tampão de eluição [Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,4],

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados para a identificação de *Y. enterocolitica* (genes A₁, A₂, Y₁, Y₂) e para a comparação de cepas (rep-PCR)

Oligonucleotídeo	Sequência (5' - 3')	(pb) ¹	Referencia
A ₁	TTAATGTGTACGCTGGGAGTG	425	Wannet <i>et al.</i> 2001
A ₂	GGAGTATTCATATGAAGCGTC		
Y ₁	AATACCGCATAACGTCTTCG	330	Wannet <i>et al.</i> 2001
Y ₂	CTTCTTCTGCGAGTAACGTC		
(GTG) ₅	GTGGTGGTGGTGGTG	-	Versalovic <i>et al.</i> 1994, Rasschaert <i>et al.</i> 2005

¹Tamanho da amplificação na PCR

foi adicionado 1 µL de RNase (10 µg/µL). O DNA extraído foi estocado a -70 °C.

Identificação de *Y. enterocolitica*

Os isolados suspeitos de *Y. enterocolitica* foram analisados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa dos genes A₁, A₂, Y₁, Y₂ (Tabela 1), para identificação de *Y. enterocolitica* conforme Wannet *et al.* (2001), com modificações. Cada reação teve volume final de 25 µL. Foram utilizados 12,5 µL de Master Mix (Qiagen, São Paulo, Brasil) (na literatura citada os componentes foram adicionados separados), 1 µL (10 pmol) de cada oligonucleotídeo, 2 µL de DNA e 6,5 µL de água para completar o volume da reação.

A amplificação foi realizada em termociclador TC-3000 com o programa citado na Tabela 2. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose a 1 % (sendo usado o gel de agarose a 1,5 % na literatura seguida). Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *Y. enterocolitica* ATCC 0098.

Rep-PCR

Para comparação das cepas da mesma espécie, os DNAs de *Y. enterocolitica* foram analisados pela técnica de PCR em sequências palindrômicas extragênicas repetidas (rep-PCR), utilizando o primer (GTG)₅ apresentado na Tabela 1 (Versalovic *et al.* 1994, Rasschaert *et al.* 2005). As condições da rep-PCR foram as seguintes: 2,5 µL de DNA, 2 µL do oligonucleotídeo, 12,5 µL de Master Mix e 8 µL de água para completar o volume da

reação. Os ciclos da amplificação foram efetuados conforme a Tabela 3. Para a visualização dos padrões de banda das diferentes regiões amplificadas no genoma, os produtos da PCR foram corados com GelRed e a eletroforese foi realizada em gel de agarose 2 %. Como controle positivo, foi utilizada a cepa de *Y. enterocolitica* ATCC 0098. Como controle negativo foram utilizados todos os componentes da reação, menos DNA.

Tabela 2. Descrição do programa de amplificação para identificação de *Y. enterocolitica* realizada em termociclador.

Fase	T (°C)	t (s)
Desnaturação inicial	94	300
36 ciclos	Desnaturação	45
	Anelamento	45
	Extensão	45
Extensão final	72	420

Tabela 3. Descrição do programa de amplificação para comparação de cepas de *Y. enterocolitica* realizada em termociclador.

Fase	T (°C)	t (s)
Desnaturação inicial	94	300
30 ciclos	Desnaturação	30
	Anelamento	60
	Extensão	300
Extensão final	60	960

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies capturadas no estuário da Lagoa dos Patos desembarcadas na época do ano em que o trabalho foi realizado foram: *Micropogonias furnieri* (corvina), *Mugil platanus* (tainha), ambas de desembarques realizados na Z-3, e *Paralichthys orbignyanus* (linguado), obtido no mercado público de Rio Grande.

As espécies que albergavam o micro-organismo pesquisado foram *P. orbignyanus* e *M. furnieri*, sendo este o primeiro registro de isolamento de *Y. enterocolitica* dessas espécies de pescado. *Y. enterocolitica* foi isolada de 4,61 % (3/65) das amostras de peixes inteiros e de 7,7 % (5/65) das amostras de peixes já eviscerados e prontos para o comércio (Tabela 4).

Na Índia, Khare *et al.* (2006) analisaram diversos tipos de pescados e produtos cárneos e isolaram *Y. enterocolitica* de ostras e caranguejos (20% cada) e de peixes (14,28%). Em outro trabalho, também na Índia, Shanmugapriya *et al.* (2014) analisaram um total de 24 amostras de peixes coletadas de diferentes mercados durante dezembro de 2010 e março de 2011 e encontraram *Y. enterocolitica* em 90 % das amostras. Estes valores são superiores

aos observados em nosso estudo, no qual a bactéria foi identificada em 6,15 % das amostras.

Entretanto, baixa ocorrência de *Y. enterocolitica* em pescados também tem sido reportada, como no estudo de Ripabelli *et al.* (2004), realizado na Itália, no qual isolaram *Y. enterocolitica* de 1% de amostras de crustáceos e de 3 % de moluscos. Além das diferenças geográficas, estes distintos resultados também podem se dever às distintas espécies de organismos aquáticos analisados. O isolamento de *Y. enterocolitica* de alimentos preparados com pescados, seja por estar presente na matéria-prima ou por ter sido contaminado durante o manuseio inadequado ou incorreto acondicionamento, representa sério risco à saúde do consumidor.

Em Portugal, Correia *et al.* (2013) analisaram dados das toxinfecções alimentares reportadas pela European Food Safety Authority (EFSA), no período de 2008 a 2011, e identificaram o arroz com bacalhau como veículo de *Y. enterocolitica* em um surto de DTA. O fato de um prato quente preparado com peixe ter transmitido *Y. enterocolitica* reforça a importância do nosso estudo, indicando a necessidade de controle mais rigoroso

Tabela 4. Mês das coletas, espécies coletadas e isolamentos obtidos.

Desembarques	Meses	Pescados	<i>Yersinia enterocolitica</i>	
			Peixes inteiros	Peixes eviscerados
1	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
2	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
3	Abril	<i>M. platanus</i>	0	0
4	Junho	<i>P. orbignyanus</i>	0	0
5	Julho	<i>P. orbignyanus</i>	0	0
6	Setembro	<i>P. orbignyanus</i>	2	0
7	Outubro	<i>P. orbignyanus</i>	0	1
8	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	1
9	Outubro	<i>M. furnieri</i>	1	2
10	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0
11	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0
12	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	1
13	Outubro	<i>M. furnieri</i>	0	0

no processamento do pescado, uma vez que não só pratos preparados com peixe cru podem oferecer risco ao consumidor, caso o pescado esteja contaminado com *Y. enterocolitica*.

Além disso, a presença de *Y. enterocolitica* em peixes inteiros pode favorecer a contaminação cruzada no momento de sua evisceração, pois os utensílios utilizados para retirar as vísceras, caso não sejam bem higienizados, poderão contaminar outros pescados. O isolamento de *Y. enterocolitica* em peixes eviscerados aumenta o risco de contaminação durante a exposição dos produtos para venda ou até na preparação dos alimentos na casa do consumidor final.

No Brasil, de acordo com o Centro de Vigilância Epidemiológica (SES-CVE, 2003), ainda não há dados oficiais sobre a ocorrência de *Y. enterocolitica* como causadora de DTA, mas como o nosso trabalho comprovou, existe a possibilidade de ingestão de peixes contaminados com *Y. enterocolitica* na região de estudo, ressaltando a necessidade de mais estudos sobre o tema em outras regiões do Brasil.

Na análise dos isolados de *Y. enterocolitica* pela rep-PCR todos os isolados apresentaram diferentes perfis de bandas, evidenciando que são cepas distintas. Estes resultados indicam que não houve contaminação cruzada por *Y. enterocolitica* durante a manipulação dos pescados.

CONCLUSÕES

Os peixes das espécies *P. orbignyanus* e *M. furnieri* capturadas no estuário da Lagoa dos Patos podem albergar *Y. enterocolitica*, que pode também estar presente no pescado processado para o comércio ao consumidor.

Os resultados obtidos demonstram a necessidade de orientar os manipuladores quanto aos cuidados higiênico-sanitários nas operações de limpeza e sanificação, de modo a evitar a contaminação do alimento por micro-organismos patogênicos. Também é preciso intensificar as ações de vigilância sanitária, a fim de evitar riscos no consumo de pescados.

LITERATURA CITADA

- ABP (Associação Brasileira da Piscicultura). 2019. Anuário PeixeBR da piscicultura 2019 (em linha). São Paulo, Brasil, Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bmZCoU>
- Atobla, K; Karou, TG; Dadie, AT; Niamke, LS; Dje, KM. 2012. Isolation and characterization of pathogenic *Yersinia enterocolitica* from pigs in Abidjan, Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 50:3540-3548.
- Baldisserotto, B. 2009. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. *Ciência Rural* 39(1):291-299.
- Bartolomeu, DAFS; Dallabona, BR; Macedo, REF; Kirschnik, PG. 2011. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Veterinary Science* 16(1):21-30.
- Brasil. 2017. Decreto n. 9013, de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (em linha). *Diário Oficial da União, Seção 1*. Brasília. Consultado 19 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2KkCvPY>
- Correia, CB; Cunha, IC; Coelho, AS; Maia, C; Pena, C; Bonito, CC; Sousa, I; Toscano, MM; Furtado, R; Santos, SD; Viegas, S; Lopes, TT; Saraiva, M; Calhau, MA. 2013. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares (2008-2011) (em linha). Instituto Nacional de Saúde. *Observações do Boletim Epidemiológico*. Consultado 21 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3alv8SI>
- Khare, SS, Kamat, AS; Doctor, TR; Nair, PM. 2006. Incidence of *Yersinia enterocolitica* and Related Species in Some Fish, Meat and Meat Products in India. *Journal of The Science of Food and Agriculture* 72(2):187-195.
- MAPA. 2019. Consumo de peixe reduz risco de morte por doenças do coração (em linha). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2XOzNtl>

- Nesbakken T. 2015. Update on *Yersinia* as a foodborne pathogen: Analysis and control. *Advances in microbial food safety* 2:33-58.
- Rasschaert, G; Houf, K; Imberechts, H; Grijspeerdt, K; De Zutter, L; Heyndrickx, M. 2005. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 43(8):3615–3623.
- Ripabelli, G; Sammarco, ML; Fanelli, I; Grasso, GM. 2004. Detection of *Salmonella*, *Listeria* spp., *Vibrio* spp., and *Yersinia enterocolitica* in frozen seafood and comparison with enumeration for faecal indicators: implication for public health. *Annali di igiene: medicina preventiva e di comunità* 16(4):531-539.
- Sambrook, J; Russel, DW. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, EUA.
- Sartori, GO; Amancio, RD. 2012. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional* 19(2):83-93.
- Seafood Brasil. 2019. Cruzada da Industrialização (em linha). Seafood Brasil (31):46-48. Consultado 16 out. 2019. Disponível em <https://bit.ly/2Y2up6H>
- SES-CVE (Secretaria de Estado da Saúde - Centro de Vigilância Epidemiológica). 2003. *Manual das doenças transmitidas por alimentos e água* (em linha). Consultado 21 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bqwPQ9>
- Shanmugapriya, S; Senthilmurugan, T; Thayumanavan, T. 2014. Genetic Diversity among *Yersinia enterocolitica* isolated from Chicken and Fish in and around Coimbatore City. India. *Iranian Journal of Public Health* 43(6):835-844.
- Soares, KMdeP; Gonçalves, AA. 2012. Seafood quality and safety. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 71:1-10.
- Versalovic, J; Schneider, M; de Bruijn, FJ; Lupski, JR. 1994. Genomic fingerprinting of bacteria with repetitive sequence based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology* 5:25-40.
- Wannet, WJB; Reessink, M; Brunings, HA; Maas, HME. 2001. Detection of Pathogenic *Yersinia enterocolitica* by a Rapid and Sensitive Duplex PCR Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 39(12):4483-4486.
- Weagant, SD; Feng, P. 2007. *Yersinia enterocolitica* (em linha). U.S. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual (BAM). Consultado 11 fev. 2019. Disponível em <https://bit.ly/3bpaYZt>

Produtividade da forrageira Tamani em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) na região sul de Goiás

Flávia F. da C. Silva¹, Jorge L. S. Ferreira^{1*}, Francine N. Calil²

¹Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Goiás, Brasil. ²Universidade Federal de Goiás, Professora do curso de Engenharia Florestal. Goiás, Brasil. *Correio eletrônico: jorgeluisferreira89@hotmail.com

RESUMO

A degradação das pastagens tem sido um grande problema para a pecuária brasileira. Estudos mostram que mais da metade das pastagens do Cerrado brasileiro podem estar em algum estágio de degradação, devido a manejo inadequado dos animais, baixa reposição de nutrientes no solo, impedimentos físicos dos solos e os baixos investimentos tecnológicos. Estratégias como a integração lavoura-pecuária-floresta tem sido implantada visando maximizar o uso da terra e a produtividade das áreas de forma sustentável. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade da forrageira Tamani (*Panicum maximum*) em diferentes distâncias (1 m, 3 m, 6 m, 9 m e 12 m) dos renques de diferentes clones de eucalipto (AEC-2034, AEC-2111, AEC-007, AEC-043) e a produtividade (kg.ha⁻¹) das amostras coletadas dos lados direito e esquerdo dos renques de árvores. Os resultados obtidos mostraram maior produtividade forrageira em áreas localizadas próximas ao centro do renque amostrado, independente do clone analisado. Como o plantio das espécies arbóreas foi realizado na direção leste-oeste, não observou-se diferença de produtividade entre os lados direito e esquerdo do renque. Independente do clone utilizado no sistema, não houve diferença na produtividade total das pastagens.

Palavras chave: sistemas agroflorestais, manejo de solo, sustentabilidade, agroecossistema, *Panicum maximum* cv. Tamani.

Tamani forage productivity in an integration crop-livestock-forest (ICLS) system in south of Goiás

ABSTRACT

The pasture degradation has been a great problem for Brazilian farming. Studies show that more than half of Brazilian Cerrado region pastures can be at some degradation stage, due to inappropriate animal management, low reposition of soil nutrients, soil physical impediments and low technology investment in this area. Strategies as crop-livestock-forest integration system are been implemented looking to maximize the soil use and its productivities in a natural way. The objective of this study was to evaluate the productivity of Tamani (*Panicum maximum*) forage at different distances (1 m, 3 m, 6 m, 9 m and 12 m) from the rows of different eucalyptus clones (AEC-2034, AEC-2111, AEC-007, AEC-043) and the productivity (kg.ha⁻¹) of the forage samples collected on the left and right sides of the tree rows. The results obtained showed higher forage productivity in areas located near the center from the sampled row, independently the clone type. Because the planting of the tree species was carried out in east-west direction, no difference in productivity was observed between the left and right sides of the row. Independently the clone type planted at the system it was not observed total productivity difference at the forage.

Key words: agroforestry systems, soil management, sustainability, agroecosystems, *Panicum maximum* cv. Tamani.

Productividad del forraje Tamani en un sistema de integración cultivo-ganadería-bosque (ICGB) en la región sur de Goiás

RESUMEN

La degradación de los pastos ha sido un problema importante para la ganadería brasileña. Los estudios muestran que más de la mitad de los pastos en la región del Cerrado brasileño pueden estar en alguna etapa de degradación, debido a un manejo inadecuado de los animales, baja reposición de nutrientes en el suelo, impedimentos físicos de los suelos y bajas inversiones tecnológicas. Se han implementado estrategias como la integración cultivo-ganadería-bosque para maximizar el uso de la tierra y la productividad de las áreas, de manera sostenible. El objetivo de este trabajo fue evaluar la productividad del forraje Tamani (*Panicum maximum*) a diferentes distancias (1 m, 3 m, 6 m, 9 m y 12 m) de las hileras de distintos clones de eucalipto (AEC-2034, AEC-2111, AEC-007 y AEC-043) y la productividad ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) de las muestras de forraje recolectadas en los lados derecho e izquierdo de las hileras de árboles. Los resultados obtenidos mostraron mayor productividad de forraje en áreas localizadas cercanas al centro de la hilera muestreada, independientemente del clon analizado. Debido a que el plantado de las especies arbóreas se realizó en sentido este-oeste, no se observó diferencia de productividad entre los lados derecho e izquierdo de la hilera. Independientemente del clon utilizado en el sistema, no hubo diferencia en la productividad total del pasto.

Palabras clave: sistemas agroforestales, manejo del suelo, sostenibilidad, agroecosistemas, *Panicum maximum* cv. Tamani.

INTRODUÇÃO

A integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) é uma estratégia de produção sustentável que integra diferentes sistemas produtivos, agrícolas, pecuárias e florestais realizadas na mesma área. Pode ocorrer em cultivo consorciado, em sucessão ou rotacionado, buscando efeitos sinérgicos entre os componentes do agroecossistema (Balbino *et al.* 2011).

De acordo com os dados da Taguchi (2016) atualmente o Brasil possui 11,5 milhões de hectares com sistema integrados de produção agropecuária, e o Estado de Goiás e o Distrito Federal participam com quase 950 mil hectares. Os estudos apontam também que foram os Estados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Rio Grande do Sul os que mais aumentaram as áreas com ILPF.

O sistema pode ser adotado de diferentes formas, com inúmeras culturas e diversas espécies animais, adequando-se às características regionais, às condições climáticas, ao mercado local e ao perfil do produtor. Também em diferentes configurações, combinando-se dois ou três componentes em um sistema produtivo,

como integração lavoura-pecuária (agropastoril), integração pecuária-floresta (silvipastoril), integração lavoura-floresta (silviagrícola) e integração lavoura-pecuária-floresta (agrossilvipastoril), o último relatado por Taguchi (2016).

O bioma Cerrado representa uma área de 203,4 milhões de hectares, o que totaliza, aproximadamente, 24 % do território nacional. Contempla, ainda, em torno de 53 milhões de hectares com pastagens cultivadas e responde por 55 % da produção de carne bovina do Brasil (Andrade *et al.* 2016). Estudos mostram que mais da metade das pastagens do Cerrado brasileiro podem estar em algum estágio de degradação. São 32 milhões de hectares em que a qualidade do pasto está abaixo do esperado, comprometendo a produtividade e gerando prejuízos econômicos e ambientais (EMBRAPA 2014).

Quando se discute a sustentabilidade da produção agrícola, dois grandes aspectos chamam a atenção: o uso do solo com a agricultura tradicional, com preparo contínuo do solo, e a degradação das pastagens. No bioma Cerrado, onde há baixa fertilidade natural dos solos, esta situação

tende a se intensificar (Haridasan 2000, Macedo 2009).

A degradação das pastagens tem características intrínsecas em cada bioma. No Cerrado, em sua maior parte, a degradação das pastagens é caracterizada pelo manejo inadequado dos animais, baixa reposição de nutrientes no solo, impedimentos físicos dos solos e os baixos investimentos tecnológicos. Degradação de pastagens é definida como um processo evolutivo de perda do seu vigor, produtividade e capacidade de recuperação natural para sustentar os níveis de produção e qualidade exigidos pelos animais. Isso afeta, diretamente a sustentabilidade da pecuária (Macedo *et al.* 2000, Macedo *et al.* 2015).

Em sistemas integrados de produção, como a integração lavoura-pecuária (ILP), vários autores têm relatado melhorias dos atributos químicos e físicos do solo (Marchão *et al.* 2007, Macedo 2009, Spera *et al.* 2010, Santos *et al.* 2011, Anghinoni *et al.* 2013). Os sistemas integrados promovem diversos benefícios ao solo, plantas e animais, por explorar o sinergismo entre seus componentes. Podem ser mais lucrativos em razão da diversificação das atividades econômicas, da redução de custos e dos aumentos de produtividade. Quando se trata de ILP, especialmente no sistema de rotação lavoura-pasto, há aumento de produtividade de grãos cultivados após a pastagem, que também produz mais após o solo ter sido utilizado para cultivo de grãos. E essa pastagem mais produtiva resultará em maior ganho de peso de bovinos ou produção leiteira (Salton *et al.* 2015).

O conhecimento da forma como a cultura anual, a forrageira e as árvores são afetadas em um consórcio é de fundamental importância para que haja êxito na formação e, ou, na renovação de pastagens e produção satisfatória das culturas. Todavia, são escassos estudos sobre arranjos de plantio e a influência dos sistemas integrados na produtividade dos componentes. Dessa forma, objetivou-se avaliar a produtividade da forrageira *Panicum maximum* cv. Tamani em sistema Integração lavoura-pecuária-floresta na região sul do Estado de Goiás.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

O estudo foi conduzido na Fazenda Macaúba, no município de Inaciolândia-GO, no ano agrícola de 2016 - 2017. A área experimental está localizada a 18° 32'S e 49° 48'W, e 459 m de altitude. De acordo com a classificação de Köppen-Geiger o clima predominante na região é do tipo Aw - clima tropical com estação seca de inverno (Cardoso *et al.* 2014). A precipitação média anual é de 1.400 mm, concentrando-se no período chuvoso, de outubro a março. Quanto à distribuição das chuvas, o maior volume ocorre no mês janeiro, com uma média de 271 mm, e junho é o mês mais seco, com 10 mm. A temperatura média anual é de 24,8 °C, registrando a máxima de 26,2 °C em setembro e a mínima de 22,1 °C em junho (CLIMATE-DATA.ORG 2017).

Predominam nestes locais os Latossolos com horizonte "A", moderado e proeminente de textura muito argilosa. Também possui elevado conteúdo de alumínio, baixa disponibilidade de macro e micronutrientes e, ainda, reduzido conteúdo de matéria orgânica e a fração de argila, composta predominantemente por caulinita, goethita ou gibb-sita (IBGE 1983, EMBRAPA 1999).

Até o ano 2015, a área era utilizada para o cultivo de soja (*Glycine max* L.) no sistema convencional. No ano de 2016 adotou-se o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) em, aproximadamente, 40 hectares.

Estabelecimento do sistema de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta (ILPF)

Para o estabelecimento do sistema, foram implantados clones de eucalipto e, posteriormente, a espécie forrageira *Panicum maximum* cv. Tamani consorciada com o milho (*Zea mays* L.).

Foram plantados quatro clones de eucalipto separadamente, sendo o AEC-2034 [(*Eucalyptus camaldulensis* x *E. grandis*) x *E. urophylla*], AEC-2111 [*E. urophylla* x (*E. camaldulensis* x *E. grandis*)], AEC-007 (*E. torelana* x *E. citriodora*) e o AEC-043 (*E. citriodora* x *E. torelana*). Para o arranjo espacial do eucalipto, empregou-se o plantio em renques, cada uma com quatro linhas, no espaçamento

3,0 x 2,5 m. A distância utilizada entre renques foi de 24 m, totalizando 38 renques. Os renques de plantio foram orientados no sentido leste-o-este, para permitir maior insolação às culturas consorciadas nas entrelinhas (Figura 1).

Para o plantio das mudas dos clones de eucalipto foi realizado, primeiramente, o controle das formigas e dos cupins em toda a área. Após, foi feita a sulcagem (subsolador mono-haste) na linha de plantio a 60 cm de profundidade e, em seguida, a aplicação de 300 kg.ha⁻¹ de Mono-Amonio-Fosfato (MAP), na formulação 11-52-00 (N-P₂O₅-K₂O).

A adubação de cobertura foi realizada em maio de 2016, após o estabelecimento das mudas, com 120 g de 20-00-20 (N-P₂O₅-K₂O) por planta. O milho foi semeado em novembro de 2016, no Sistema Santa Fé, que compreende o cultivo de milho e Tamani (*Panicum maximum*) semeados juntos, utilizando-se semeadora mecanizada para plantio consorciado, com duas linhas de milho espaçadas de 0,90 m, intercaladas com capim espaçado de 0,90 m.

A semeadura foi realizada mantendo uma distância mínima de 1,0 m do eucalipto, visando minimizar a competição inicial entre as espécies. A adubação de plantio e cobertura consistiu de 350 kg.ha⁻¹ do adubo formulado 08-28-16 (N-P₂O₅-K₂O) e 200 kg.ha⁻¹ de ureia a 45 % de N (parcelado em duas aplicações), respectivamente. Foram realizados

todos os tratos culturais e silviculturais necessários para cada cultura, respeitando-se as suas respectivas recomendações técnicas.

A entrada dos animais iniciou-se em abril de 2017, um ano e dois meses após a implantação do sistema ILPF, sendo 100 animais, com 24 meses de idade, distribuídos em 40 hectares, com peso médio de 320 kg.cabeça⁻¹. Estimou-se uma produtividade média de gado nas áreas com integração de aproximadamente 15 @ ha⁻¹.ano⁻¹.

Produtividade da forrageira

Foram realizadas duas avaliações na pastagem estudada. Uma comparou a produtividade de massa seca (PMS) entre as distâncias das coletas das amostras analisadas e a outra avaliação foi uma comparação da produtividade das amostras coletadas dos lados direito e esquerdo dos renques.

Em outubro de 2017, quando as árvores estavam com 21 meses de idade e, aproximadamente, com 7,5 m de altura, em média, foram coletadas as amostras da pastagem para determinação da produção de massa seca (PMS) do sistema. Realizaram-se cortes da forrageira Tamani rente ao solo, com o auxílio de tesoura de poda e uma moldura de 0,5 m x 0,5 m, de acordo com a metodologia descrita por Coelho *et al.* (2017). O arranjo estrutural de amostragem da forrageira foi de 1, 3, 6, 9 e 12 m de distância do eucalipto,



Figura 1. Arranjo espacial dos clones de eucalipto AEC-2034, AEC-2111, AEC-007 e AEC-043 com a cultura do milho (*Zea mays* L.) no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) da Fazenda Macaúba, no município de Inaciolândia-GO.

equivalendo a uma área de 0,25 m² (0,5 m x 0,5 m) amostrada para cada bloco, com quatro repetições, sendo para os lados esquerdo e direito dos renques. O experimento foi conduzido no modelo DBC (Delineamento em Blocos Casualizados), com 4 blocos para cada tratamento (Figura 2).

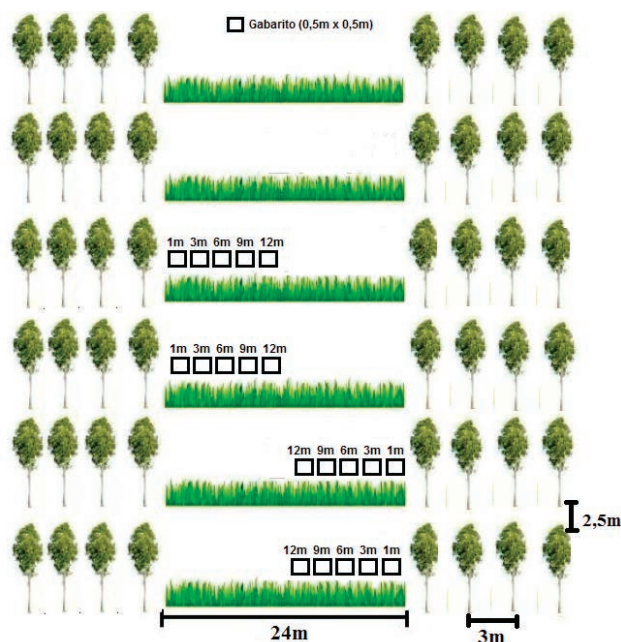


Figura 2. Metodologia de coleta da biomassa da forrageira no sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) da Fazenda Macaúba, no município de Inaciolândia-GO.

A forrageira amostrada foi acondicionada em sacos de papel Kraft, identificadas e encaminhadas ao laboratório de Ecologia de Plantas do Setor da Engenharia Florestal da Universidade Federal de Goiás, para determinação do teor de massa seca (MS) e cálculo da produção de forragem. As amostras foram secas em estufa com circulação e renovação de ar a 65 °C por 72 horas até obtenção de peso constante, para após realizar a pesagem de todo material e determinar a massa seca.

Os valores de massa seca das amostras de cada ponto de coleta, foram extrapolados em kg.ha⁻¹, para a determinação da massa seca total da forrageira. O cálculo foi realizado conforme a equação abaixo:

$$MST = \frac{\text{Peso (g)}}{\text{Área do Gabarito (0,25 m}^2\text{)}} \times 10$$

Onde: Massa seca total (MST) = (Peso da amostra (g) / área do gabarito) x 10

Análise estatística

Os resultados amostrais foram submetidos a análise de variância, acompanhada de testes de média, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR® (Ferreira 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 observa-se a produção de *Panicum maximum* cv. Tamani nas diferentes distâncias (1 m, 3 m, 6 m, 9 m e 12 m) coletadas entre os diferentes clones de eucalipto. Contata-se que a produção (kg.ha⁻¹) da forrageira Tamani apresentou diferença (P<0,05) nas distâncias analisadas para os clones AEC-2111, AEC-007 e AEC-043, onde a cada metro que a amostra avançava sentido ao centro da parcela, aumentava a produtividade.

As distâncias analisadas para o clone AEC-2034 não diferiram estatisticamente. Tal fato pode ser justificado em decorrência do maior crescimento inicial deste clone, apresentando maior altura e maior dossel foliar em relação aos demais clones avaliados, proporcionando sombreamento ao gado que estava pastejando na área. Logo, esta área teve maior concentração de animais por maior tempo.

A distância entre renques de plantio do componente arbóreo contribui com a produtividade total da forrageira e com a qualidade da mesma. Segundo Paciullo et al. (2011) que avaliaram as características produtivas e nutricionais de *Urochloa decumbens* em um sistema agrossilvipastoril com *Acacia mangium* e *Eucalyptus grandis* concluíram que um espaçamento ideal de 14 a 18 m entre as fileiras de árvores são as melhores opções para um maior aproveitamento do componente forrageiro, visto que os mesmos apresentam maiores taxas de acúmulo de proteína bruta e de matéria seca.

Tabela 1. Valores médios de produtividade da biomassa de *Panicum maximum* cv. Tamani nas diferentes distâncias analisadas para os diferentes clones de eucalipto do sistema de Integração lavoura-pecuária-floresta na Fazenda Macaúba, no município de Inaciolândia-GO.

Distância (m)	Produção por distância analisada (kg ha ⁻¹)			
	AEC-2034	AEC-2111	AEC-007	AEC-043
1	84,06 ^a	31,65 ^b	56,83 ^b	28,60 ^b
3	460,12 ^a	404,52 ^{ab}	161,97 ^b	286,23 ^{ab}
6	416,14 ^a	406,47 ^{ab}	235,13 ^b	415,13 ^a
9	254,84 ^a	668,33 ^a	507,89 ^{ab}	235,22 ^{ab}
12	36,36 ^a	674,39 ^a	786,51 ^a	363,13 ^{ab}
CV (%)	158,50	84,21	100,31	87,52
EP	16,17	17,57	16,46	10,28

Medias seguida de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05); EP: Erro Padrão.

O presente estudo observou que as pastagem quando produzidas a uma distância de 12 metros das árvores tiveram maiores produtividade do que os quando produzidas a pequenas distância, mostrando que um renque maior de 18 metros pode ser usado também.

As distâncias mensuradas anterior a 6 m receberam sombreamento da copa das árvores por mais tempo do que as outras mensuras. De acordo com Bosi *et al.* (2014), a disponibilidade de energia radiante sob as copas assume papel preponderante para a produção das forrageiras, por causa do sombreamento exercido pelas árvores. Mesmo com isso, podemos verificar que a 3 m de distância houve uma boa produtividade, mostrando que o *Panicum* apresenta tolerância ao sombreamento. Segundo Paciullo e Aroeira (2007) o *Panicum maximum* foi uma das gramíneas consideradas tolerantes ao sombreamento, atingindo, a 30% de sombreamento, 120% da produção sobre a avaliação feita a pleno sol.

As análises das distâncias de 9 e 12 m na média geral, foram as que mais apresentaram ganho de biomassa, visto que ambos tratamentos estavam a pleno sol durante quase todo o dia. Nas regiões com déficit hídrico, como é no caso da região de Cerrado, esse sistema é vantajoso, uma vez que as árvores aumentam a ciclagem de nutrientes e diminui a perda de umidade dentro do sistema. Neste caso, a magnitude das

respostas da pastagem à luz solar, em função da densidade arbórea ou do sombreamento, pode ser influenciada pela maior disponibilidade de água no solo (Ludwig *et al.* 2001, Barro *et al.* 2010).

A disponibilidade de luz, ou também o sombreamento das árvores que compõem o sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, podem favorecer a produtividade da forrageira nas distâncias das amostras em direção ao centro da parcela. O crescimento das gramíneas varia de acordo com os efeitos da disponibilidade de luz, como também através de outros fatores, como a tolerância da espécie forrageira à sombra e com a intensidade de sombreamento (de Andrade *et al.* 2004, Guenni *et al.* 2008).

Durante a avaliação de comportamento de espécies forrageiras (*Brachiaria decumbens* cv. Basilisk, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, *Panicum maximum* cvs. Tanzânia, Aruana e Mombaça, *Hemarthria altissima* cv. Florida, *Paspalum notatum* cv. Pensacola, *Axonopus catharinensis*, *Cynodon* sp. híbrido Tifton-85, *Arachispintoi* cvs. Alqueire e Amarillo) submetidas a diferentes níveis de luminosidade, observou-se que a produção de matéria seca foi afetada de forma negativa pelo sombreamento, podendo a baixa produção ser explicada pela qualidade e quantidade de radiação que chega ao dossel (Soares *et al.* 2009).

Para a formação de pastagens na região de Cerrado, as forrageiras tropicais dos gêneros *Urochloa* spp. (Syn. *Brachiaria*) e *Panicum* destacam-se por apresentarem tolerância moderada ao sombreamento, boa produção de forragem e grande utilização pelos pecuaristas, podendo compor os sistemas agrossilvipastoris (Santos et al. 2009, Paciullo et al. 2009). Na pesquisa realizada por da Matta et al. (2009), observou-se boa capacidade de crescimento inicial do capim Mombaça em ambiente sombreado. Embora os dados sejam para crescimentos não-consorciados, o Mombaça apresentou crescimento superior a 75% de sombreamento que a pleno sol durante os primeiros seis meses de crescimento, apresentando maiores altura de plantas e massa de folhas.

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios de produtividade do *Panicum maximum* cv. Tamani para os lados direito e esquerdo dos renques de eucalipto e a produtividade da área total dos clones estudados.

Observou-se que tanto a coleta feita do lado direito do renque quanto do lado esquerdo não tiveram diferença significativa. E os resultados para todos os clones foram semelhantes se comparar os dois lados de coleta.

A produtividade total da pastagem cultivada entre os renques dos clones AEC-2034, AEC-2111, AEC-007 e AEC-034 não apresentaram diferenças ($P < 0,05$). Os resultados obtidos podem ser fundamentados pela orientação no sentido

do plantio, realizado no sentido Leste - Oeste, permitindo maior insolação às culturas consorciadas nas entrelinhas e também a homogeneidade na topografia do terreno.

Kichel et al. (2014) ao avaliar a produtividade das forrageiras *Panicum maximum* cv. Tanzânia, *Panicum maximum* cv. Massai e *Panicum maximum* cv. Mombaça em um sistema de ILPF com 1,5 ano de idade, no Mato Grosso do Sul, e relatando que a coleta foi realizada logo após a colheita do milho, e não havia a entrada de animais na área, chegaram a produtividade de 3.704, 1.248 e 4.606 Kg ha⁻¹, respectivamente. Os dados deste trabalho foram inferiores aos dos autores para o tratamento Mombaça, superior ao Massai e semelhante ao Tanzânia. Porém, a coleta do material deste estudo foi realizada logo após a entrada dos animais na área, o que pode ter influenciado na produtividade, e mesmo assim, a produtividade foi satisfatória.

Avaliando a altura média da espécie arbórea semelhante a este estudo, Bonini et al. (2016), constataram que o componente florestal dos diferentes sistemas integrados de produção não interferiu na luminosidade, umidade e nutrientes, nos sistemas integrados e, portanto, não afetou a produtividade da forragem. A mesma situação provavelmente pode ter acontecido no presente estudo, visto que as árvores possuem porte baixo e permitiam a entrada de luz no local de coleta.

Tabela 2. Valores médios de produtividade do *Panicum maximum* cv. Tamani para os dois lados dos renques de eucalipto e área total dos diferentes clones do sistema de integração lavoura-pecuária-floresta na Fazenda Macaúba, no município de Inaciolândia-GO.

Clones	Produtividade (kg ha ⁻¹)		
	Lado direito	Lado esquerdo	Total
AEC-2034	290,72 ^a	209,88 ^a	2.503,06 ^a
AEC-2111	397,11 ^a	477,02 ^a	2.656,63 ^a
AEC-007	350,31 ^a	349,01 ^a	3.496,66 ^a
AEC-043	287,71 ^a	243,61 ^a	2.656,63 ^a
CV (%)	112,8	115,65	32,97
EP	10,73	11,28	7,76

Medias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$); EP: Erro Padrão.

Na integração lavoura-pecuária-floresta o uso de espaçamentos e arranjos mais amplos nos plantios de eucalipto devem ser empregados com a finalidade de favorecer o consórcio com espécies agrícolas e, ou, pastagens, prevenindo para não ocorrer sombreamento excessivo (Macedo *et al.* 2010, Oliveira *et al.* 2009).

CONCLUSÕES

Em áreas localizadas mais ao centro do renque, a produtividade, da forrageira é maior, independente do clone analisado. Uma vez que o plantio das espécies arbóreas foi realizado na posição leste-oeste, não se observou diferença de produtividade entre os lados (direito e esquerdo) do renque. Independente do clone utilizado no sistema não houve diferença na produtividade total da pastagem.

LITERATURA CITADA

- Andrade, RG; Bolfe, EL; Victoria, DC; Nogueira, SF. 2016. Recuperação de pastagens no cerrado. *Agroanalysis* (2):30-32.
- Anghinoni, I; Carvalho, PCF; Costa, SEVGA. 2013. Abordagem sistêmica do solo em sistemas integrados de produção agrícola e pecuária no subtropico brasileiro. *In* Tópicos em Ciência do Solo. Viçosa, Brasil, SBSCS. v. 8, p. 325-380.
- Balbino, LC; Barcellos, AO; Stone, LF. 2011. Marco referencial: integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF). Brasília, Brasil, EMBRAPA. 127 p.
- Barro, RS; Varela, AC; Bangel, FV; Saibro, JC; Medeiros, RB; Radin, B. 2010. Screening native C4 pasture genotypes for shade tolerance in Southern Brazil. *In* Australian Society of Agronomy Conference. Lincoln, Nova Zelândia, Annals. p. 1-5.
- Bonini, CSB; Lupatini, GC; Andrighetto, C; Mateus, GP; Heinrichs, R; Aranha, AS; de Santana, EAR; Meirelles, GC. 2016. Produção de forragem e atributos químicos e físicos do solo em sistemas integrados de produção agropecuária. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília 51(9):1695-1698.
- Bosi, C; Pezzopane, JM; Sentelhas, PC; Santos, PM; Nicodemo, MLF. 2014. Produtividade e características biométricas do capim-braquiária em sistema silvipastoril. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 49(6):449-456.
- Cardoso, MRD; Marcuzzo, FFN; Barros, JR. 2014. Classificação climática de Köppen-Geiger para o estado de Goiás e o Distrito Federal. *ACTA Geográfica* 8(16):40-55.
- CLIMATE-DATA.ORG. 2017. Dados climáticos para cidades mundiais (em linha, site web). Consultado 28 set. 2017. Disponível em <https://bit.ly/3b2nTj8>
- Coelho, TS; Ferreira, JLS; Calil, FN. 2017. Produtividade da forrageira *Urochloa brizantha* (Stapf) Webster e estoque de carbono em um sistema silvipastoril (em linha). *Enciclopédia Biosfera* 14(26):550-559. Consultado 10 ene. 2018. Disponível em <https://bit.ly/2W3oqwQ>
- da Matta, PM; Souto, SM; Dias, PF; Colombari, AA; de Azevedo, BC; Vieira, MS. 2009. Efeito de sombreamento no estabelecimento de *Panicum maximum* cv. Mombaça. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 17(3-4):97-102.
- de Andrade, CMS; Valentim, JF; Carneiro, JC; Vaz, FA. 2004. Crescimento de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais sob sombreamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39(3):263-270.
- de Oliveira, TK; Macedo, RLG; Venturin, N; Higashikawa, EM. 2009. Desempenho Silvicultural e Produtivo de Eucalipto sob Diferentes Arranjos Espaciais em Sistema Agrossilvipastoril. *Pesquisa Florestal Brasileira* (60):1-9.
- dos Santos, HP; Fontaneli, RS; Spera, ST; Dreon, G. 2011. Fertilidade e teor de matéria orgânica do solo em sistemas de produção com integração lavoura e pecuária sob plantio direto. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 6(3):474-482.

- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). 1999. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro, Brasil, EMBRAPA. 412 p.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). 2014. Embrapa mapeia degradação das pastagens do Cerrado (em linha, site web). Consultado 29 out. 2017. Disponível em <https://bit.ly/35w9Ssy>
- Ferreira, DF. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In Reunião Anual Da Região Brasileira Da Sociedade Internacional De Biometria (45, 2000, São Carlos, Brasil). Anais, São Carlos, Brasil. p. 255-258.
- Guenni, O; Seiter, S; Figueroa, R. 2008. Growth responses of three *Brachiaria* species to light intensity and nitrogen supply. *Tropical Grasslands* 42(2):75-87.
- Haridasan, M. 2000. Nutrição mineral de plantas nativas do Cerrado. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12(1):54-64.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 1983. Folha SE 22 Goiânia: Geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial da terra. Levantamento de Recursos naturais. Rio de Janeiro, Brasil, Projeto Radambrasil. v.31, 764 p.
- Kichel, AN; da Costa, JAA; de Almeida, RG; Paulino, VT. 2014. Sistema de integração lavoura-pecuária-floresta (iLPF) - experiência no Brasil (em linha). *Boletim de Indústria Animal* 71(1):94-105. Consultado 25 mai. 2017. Disponível em <https://bit.ly/3c6qbyT>
- Ludwig, F; de Kroon, H; Prins, HHT; Berendse, F. 2001. Effects of nutrients and shade on tree grass interactions on an East African savanna. *Journal of Vegetation Science* 12(4):579-588.
- Macedo, MCM. 2009. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(supl. esp.):133-146.
- Macedo, MCM; de Almeida, RG; de Araujo, AR; Ferreira, AD. 2015. Soil carbon contents in integrated crop-livestock and crop-livestock-forest systems in the Brazilian Cerrado. In World congress on integrated crop-livestock-forest system (1, 2015, Brasília, Brasil). International symposium on integrated crop-livestock systems (3, 2015, Brasília, Brasil). Anais do congress, Brasília, Brasil. p. 323.
- Macedo, MCM; Kichel, AN; Zimmer, AH. 2000. Degradação e alternativas de recuperação e renovação de pastagens. Campo Grande, Brasil, EMBRAPA. nº 62. 4 p.
- Macedo, RLG; Vale, AB; Venturin, N. 2010. Eucalipto em sistemas agroflorestais. Lavras, Brasil, UFLA. 331 p.
- Marchão, RL; Balbino, LC; da Silva, EM; dos Santos Junior, JDG; de Sá, MAC; Vilela, L; Becquer, T. 2007. Qualidade física de um Latossolo Vermelho sob sistemas de integração lavoura pecuária no Cerrado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42(6):873-82.
- Paciullo, DSC; Carvalho, CD; Aroeira, LJM; Morenz, MJF; Lopes, FCF; Rossiello, ROP. 2007. Morfofisiologia e valor nutritivo do capim-braquiária sob sombreamento natural e a sol pleno (em linha). *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42(4):573-579. Consultado 25 mai. 2017. Disponível em <https://bit.ly/3b2Zo5h>
- Paciullo, DSC; Lopes, FCF; Malaquias Junior, JD; Viana Filho, A; Rodriguez, NM; Morenz, MJF; Aroeira, LJM. 2009. Características do pasto e desempenho de novilhas em sistema silvipastoril e pastagem de braquiária em monocultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(11):1528-1535.
- Paciullo, DSC; Gomide, CAM; de Castro, CRT; Fernandes, PB; Müller, MD; Pires, MDFÁ; Fernandes, EN; Xavier, DF. 2011. Características produtivas e nutricionais do pasto em sistema agrossilvipastoril, conforme a distância das árvores. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46(10):1176-1183.
- Salton, JC; Oliveira, P; Tomazi, M; Richetti, A; Balbino, LC; Flumignam, D; Mercante, FM; Marchão, RL; Concenção, G; Scorza Junior, RP; Asmus, GL. 2015. Benefícios da adoção da estratégia de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta. In Cordeiro, LAM; Vilela, L; Kluthcouski, J;

- Marchão, RL (eds.). Integração Lavoura-Pecuária-Floresta: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, Brasil, EMBRAPA. p. 35-51.
- Santos, MER; da Fonseca, DM; Euclides, VPB; Ribeiro Júnior, JI; do Nascimento Júnior, D; Moreira, LM. 2009. Produção de bovinos em pastagens de capim-braquiária diferidas. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(4):635-642.
- Soares, AB; Sartor, LR; Adami, PF; Varella, AC; Fonseca, L; Mezzalana, JC. 2009. Influência da luminosidade no comportamento de onze espécies forrageiras perene de verão. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38(3):443-451.
- Spera, ST; dos Santos, HP; Fontaneli, R.S; Tomm, GO. 2010. Atributos físicos de um Hapludox em função de sistemas de produção integração lavoura-pecuária (ILP), sob plantio direto. *Acta Scientiarum Agronomy* 32(1):37-44.
- Taguchi, V. 2016. Estudo da Kleffmann Group revela que Brasil já tem 11,5 milhões de hectares com ILPF (em linha, site web). Kleffmann Group notícias, São Paulo, Brasil; 04 nov. Consultado 28 set. 2017. Disponível em <https://bit.ly/2W3Uscg>

Niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y su relación con la población folicular en hembras Brahman

Jorge Macias Andrade^{1*}, Henry Vivanco Mackie², Ernesto A. Hurtado¹, Ángela Carreño Mendoza¹

¹Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (ESPAM-MFL), Área Agropecuaria. Calceta, Ecuador. ²Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Lima, Perú. *Correo electrónico: jorgeignaciomacias@hotmail.com

Resumen

La hormona antimülleriana (HAM) funciona como un modulador del desarrollo folicular y su nivel plasmático es independiente de la etapa del ciclo estral. Dado que la diferencia en la población folicular dentro y entre razas, es un factor a considerar en la biotecnología reproductiva, se considera que el nivel plasmático de HAM es una herramienta útil para seleccionar donantes de embriones. Con la finalidad de determinar la relación entre los niveles plasmáticos de HAM y la población folicular en hembras Brahman, se seleccionaron al azar 60 individuos entre 18 y 132 meses de edad, en el cantón Paján, provincia de Manabí, Ecuador. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial de los tratamientos. El factor A correspondió a la categoría del animal (vacas y vaquillas) y el factor B correspondió a los niveles de HAM (100-200; 200-300 y más de 300 pg.mL⁻¹) con diez repeticiones. Se realizaron análisis estadístico descriptivo, análisis de varianza y ajustes de regresión. Se observó mayor número de folículos pequeños, grandes y totales a medida que aumentaron los niveles de HAM, los cuales fueron explicados a través de un ajuste cuadrático positivo, cuyo máximo fue alcanzado alrededor de 756 pg.mL⁻¹. A partir de ese nivel ocurrió el descenso en la población de folículos. Los niveles plasmáticos de HAM representaron un indicador confiable de la población de folículos y un biomarcador para predecir el potencial reproductivo de la hembra Brahman.

Palabras clave: folículos, niveles plasmáticos, HAM, cuerpo lúteo, reproducción.

Plasma levels of the Anti-Müllerian Hormone and its relationship with the follicular population in Brahman females

Abstract

The Anti-Müllerian hormone (AMH) works as a modulator of follicular development and its plasma level is independent of the stage of the estrous cycle. Given that the difference in follicular population within and between breeds is a factor to consider in reproductive biotechnology, the plasma level of AMH is considered to be a useful tool for selecting embryo donors. To determine the relationship between plasma AMH levels and the follicular population in Brahman females, 60 individuals between 18 and 132 months of age were randomly selected in the Paján canton, Manabí province, Ecuador. A completely randomized experimental design with a factorial arrangement of the treatments was used. Factor A corresponded to the category of the animal (cows and heifers) and factor B corresponded to AMH levels (100-200, 200-300 and more than 300 pg.mL⁻¹) with ten repetitions. Descriptive statistical analysis, analysis of variance and regression adjustments were made. A bigger number of small, large, and total follicles were found as levels of the AMH increased, which were explained through a positive quadratic adjustment, whose maximum was reached around 756 pg.mL⁻¹. From that level the decrease in the follicle population occurred. Plasma levels of the AMH accounted for a reliable indicator of the follicle population and a biomarker to predict the reproductive potential of the female Brahman.

Key words: follicles, plasma levels, AMH, corpus luteum, reproduction.

INTRODUCCIÓN

La hormona antimülleriana (HAM) es producida principalmente por folículos preantrales o antrales, pequeños y medianos (3 a 7 mm) en el ganado (Rico *et al.* 2009) y funciona como un modulador del desarrollo folicular, previniendo la atresia folicular temprana y el agotamiento de la reserva folicular pre-antral (Monniaux *et al.* 2012).

Aunque es altamente variable entre los individuos, su concentración sérica es altamente repetible dentro de los animales y muestra poca variabilidad a lo largo de las muchas etapas de los ciclos reproductivos y estros del ganado (Ireland, JJ *et al.* 2011).

La relación entre el nivel sérico de HAM y el número de folículos ha sido reportada por Broekmans *et al.* (2008). Rico *et al.* (2009) muestran que el nivel sérico de HAM se relaciona con el número de folículos ováricos y proponen un rol importante de esta hormona en la selección de folículos dominantes. La HAM participa en el desarrollo del folículo y es producida principalmente por folículos preantrales y antrales. Según Monniaux *et al.* 2012, la HAM inhibe la transformación de folículos primordiales a folículos primarios, durante el reclutamiento inicial de la foliculogénesis, e inhibe la sensibilidad a la hormona folículo estimulante en el reclutamiento cíclico.

Liang *et al.* (2016), reportaron que la concentración de HAM disminuyó al aumentar el diámetro folicular, observándose una concentración entre 4 a 12 veces mayor en folículos pequeños en comparación a la registrada en folículos medianos y grandes. Por su parte, Del Río *et al.* (2017) no encontraron evidencia estadística para asociar el tamaño del folículo con las concentraciones séricas de HAM.

Se indicado la posibilidad, que los niveles de AMH estén asociados con la calidad ovocitaria y la fertilidad (Ireland, JJ *et al.* 2009), la producción de andrógenos (Mossa *et al.* 2010) y la proporción y mantenimiento de embarazos (Ribeiro *et al.* 2014). También se correlaciona positivamente con la respuesta a la superovulación (Ireland, JJ *et al.* 2007), la producción de embriones en ganado lechero (Monniaux *et al.* 2010, Guerreiro *et al.* 2014) y con la longevidad del rebaño (Jimenez-Krassel *et al.* 2015).

Por lo tanto, la concentración de HAM representa un marcador genotípico confiable y puede ser de mucha utilidad en la identificación y posterior selección genética de bovinos con potencial reproductivo superior.

El agotamiento de la reserva ovárica folicular está relacionado con la senescencia reproductiva en las hembras de mamíferos, y existe una asociación positiva entre el tamaño de la reserva ovárica y el número de folículos antrales en la superficie del ovario (Ireland, JJ *et al.* 2007). Existe evidencia considerable de que las reducciones en la reserva ovárica se asocian con reducciones en la fertilidad, independientemente de la edad (Ball 2011). Sin embargo, estudios de Guerreiro *et al.* (2014) en ganado bovino no encontraron variaciones en la concentración plasmática de HAM a lo largo de la vida, especialmente entre individuos jóvenes y adultos.

Por otro lado, la raza parece tener una influencia significativa en la eficiencia de los programas de recolección y producción de embriones *in vitro* en el ganado. Se han informado mejores resultados en vacas y novillas cuando se utilizan las razas *Bos indicus* en lugar de las razas *Bos taurus* (Gimenes *et al.* 2015). En tal sentido, Batista *et al.* (2016) reportaron que las terneras *Bos indicus* (Nelore) tenían más folículos preantrales y antrales en sus ovarios que las novillas, lo que resultó en mayores concentraciones de HAM en este grupo de animales cuando fueron comparados con terneras y novillas *Bos taurus* (Holstein). Similarmente, Santa Cruz *et al.* (2018) indican, que las concentraciones de HAM no fueron útiles para seleccionar las novillas Hereford menos fértiles después del destete o el servicio previo, pero sí podrían ser de utilidad en la selección de novillas Braford, ya que con altos niveles de HAM alcanzan la pubertad a una edad temprana.

En función de lo antes descrito, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la relación entre los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana y la población folicular de vacas y vaquillas de la raza Brahman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica y rebaño experimental

El rebaño experimental se localizó en el establo de la compañía Aura Germania, emplazado en el cantón Paján, provincia de Manabí (01°33'0"S: 80°25'60"O), a altitud de 110 m.s.n.m., temperatura promedio anual 24°C y precipitación pluviométrica promedio anual de 1500 mm. Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio Biotecnológico de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (ESPAM-MFL), localizado en el cantón Bolívar, (0°49'23"S: 80°11'01"O) y altitud de 15 m.s.n.m., ambas localidades en la República del Ecuador.

Se seleccionaron al azar 60 hembras, de un rebaño constituido por 1.500 bovinos de alto valor genético de la raza Brahman, mantenido en potreros donde destacaron las gramíneas *Cynodon nlemfuensis* y *Panicum maximum* (Saboya), y con suplementación mineral concentrada suficiente para cubrir sus requerimientos nutricionales de acuerdo a edad, peso, producción y condición fisiológica. El abastecimiento de agua de bebida fue realizado a través de fuentes naturales. Los animales seleccionados se organizaron en dos categorías, vaquillas entre 24 y 30 meses ($n = 30$), y vacas con más de 3 años de edad ($n = 30$). La condición corporal (CC) de los individuos en ambas categorías varió de 2,75 a 3 (escala del 1 al 5)

Evaluación reproductiva y sincronización ovárica

Se verificó la ausencia de animales prepúberes, en condición de anestro, la presencia de quistes ováricos o de otras patologías inflamatorias como

endometritis y píometra, mediante una revisión ginecológica con un ecógrafo (DP 50 Vet; Shenzhen Mindray) y transductor lineal de 7,5 MHz en modo B.

Se estableció un protocolo para el reinicio de una nueva onda folicular y sincronización de la ovulación (Figura 1). Para esto se usó un dispositivo con progesterona en el día 0 (DIB® 0.5; Zoetis) y una dosis de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis), el día 8 se retiró el dispositivo y se administró una dosis de 0,15 mg de prostaglandina (Ciclas DL®; Zoetis), el día 9 se inyectó 1 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol; Zoetis). A partir de la inserción del dispositivo con progesterona (día 0), todas las hembras fueron revisadas con ecografía transrectal en los días 4, 6, 8, 9, 10 y 13, como mecanismo de supervisión del protocolo hormonal.

El número y tamaño de los folículos se determinó con ultrasonografía transrectal en el día 4 (inicio de la onda folicular) y en el día 8 (momento de la divergencia folicular), mientras que el tamaño del cuerpo lúteo se cuantificó por ultrasonografía a las 72 horas después de los signos de celo. El tamaño ovárico de los animales también fue medido por ecografía transrectal.

Determinación hormonal

Para la determinación de los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana se usó un kit ELISA específico (AHM ELISA simple test Kit Bovine Serum, 40 samples Max/Kit 21700/100; MOFA®). Antes del inicio del protocolo de sincronización, se realizó colecta de sangre (4 mL), mediante punción en la vena yugular, con el uso de tubos BD Vacutainer™ NH con heparina sódica (Becton Dickinson®).

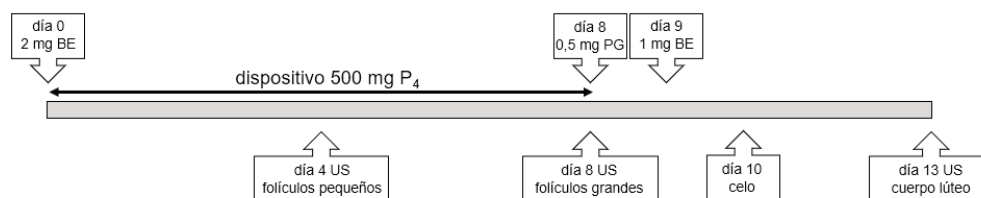


Figura 1. Protocolo de sincronización ovárica y evaluación ecográfica. BE: benzoato de estradiol, P₄: progesterona, PG: prostaglandina, US: ultrasonido.

Las muestras de sangre se procesaron por medio de centrifugación refrigerada a 3.200 g por 10 minutos a 4 °C y el plasma colectado fue almacenado a -20 °C hasta realizar el análisis ELISA.

Para el análisis de ELISA, las muestras de plasma fueron descongeladas en baño de maría, remezcladas en un agitador de vórtice y centrifugadas a 3.200 g por 10 minutos a 4 °C, luego incubadas por 12 horas a 4 °C en presencia de un primer anticuerpo; a continuación, se realizó una segunda incubación por 1,5 horas a temperatura ambiente en presencia del segundo anticuerpo; el proceso finalizó con la medida de absorbancia en el lector Infinite® 200 PRO, de acuerdo a los métodos descritos por Monniaux *et al.* (2008), Rico *et al.* (2009) y Rico *et al.* (2012). Las concentraciones de HAM se cuantificaron en muestras de 50 µL de plasma.

Diseño estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de los tratamientos. El factor "A" correspondió a la categoría del animal (vacas y vaquillas) y el factor "B" correspondió a los niveles de la hormona antimülleriana (100-200; 200-300 y más de 300 pg.mL⁻¹) establecidos de acuerdo al muestreo de sangre, con diez repeticiones, cada una representada por un animal.

Se realizó el análisis estadístico descriptivo de las variables, a través de medidas de tendencia central y de dispersión. Previo al análisis de

varianza (ANAVA), se evaluaron los supuestos de normalidad de los residuos y homocedasticidad mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett respectivamente, y se cumplieron las condiciones para el ANAVA. Las comparaciones de los valores promedios se realizaron por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

De forma adicional, se determinó el grado de relación funcional de las variables cuantificadas a través de modelos de regresión. En las regresiones se ajustó la relación entre los niveles de la hormona antimülleriana y el número de folículos (pequeños, grandes y totales). Los análisis estadísticos se realizaron con el software InfoStat® (Di Rienzo *et al.* 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis descriptivo de las variables evaluadas se muestra en el Cuadro 1, donde se destaca que los niveles de HAM presentaron promedio de 297,25 pg.mL⁻¹, mientras que la mediana fue de 250,65 pg.mL⁻¹, tal condición permite evidenciar que el valor promedio se aproxima más al tercer cuartil (310,4 pg.mL⁻¹), lo cual refleja una distribución sesgada hacia la izquierda, con pocos valores ubicados en los mayores niveles de HAM que tienen impacto sobre la media obtenida. Esta situación se refleja en los elevados coeficientes de variación obtenidos para esta variable (62,46 %).

Para las variables número de folículos pequeños, folículos grandes y folículos totales, la media y la mediana mostraron valores similares, lo cual es

Cuadro 1. Resumen descriptivo de las variables: niveles de la hormona antimülleriana (HAM) (pg.mL⁻¹), número de folículos -pequeños, grandes y totales-, tamaño del cuerpo lúteo (mm) y de ovarios (cm) en vacas y vaquillas Brahman.

Variable	n	Media	Mediana	Q ₁	Q ₃	D.E	CV
HAM	60	297,25	250,65	197,4	310,4	185,65	62,46
Folículos pequeños	60	20,68	18,50	13	27	10,24	49,50
Folículos grandes	60	14,22	13,00	11	18	5,16	36,29
Folículos Totales	60	34,88	34,00	24	42	13,89	39,83
Cuerpo lúteo	41	13,66	13,80	12	15	3,30	24,14
Ovario derecho	59	2,82	2,80	2,4	3,1	0,46	16,44
Ovario izquierdo	59	2,79	2,72	2,25	3,37	0,64	23,10

Q₁: primer cuartil, Q₃: tercer cuartil, D.E: desviación estándar, CV: coeficiente de variación.

Cuadro 2. Resumen del análisis de varianza para las variables: número de folículos; tamaño del cuerpo lúteo (mm) y tamaño de ovarios (cm), para la dinámica folicular de vacas y vaquillas Brahman.

Fuente de variación	gl	Cuadrados Medios					
		número de folículos			cuerpo lúteo (mm)	ovarios (cm)	
		pequeños	grandes	totales		Derecho	Izquierdo
Categoría	1	110,08 ^{ns}	2,61 ^{ns}	143,97 ^{ns}	21,92 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Rango HAM	2	1572,29 ^{**}	99,94 [*]	892,49 ^{**}	25,36 ^{ns}	0,64 ^{ns}	0,32 ^{ns}
Categoría*Rango HAM	2	72,12 ^{ns}	20,03 ^{ns}	16,94 ^{ns}	6,15 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,05 ^{ns}
Error	54	133,48	23,01	71,60	9,50	0,204	0,440
CV		23,18	23,62	28,64	15,80	11,18	16,64

gl: grados de libertad; (*): significancia de 0,05; (**): significancia de 0,01; ns: no significativo; CV: coeficiente de variación.

indicativo de una distribución normal de los datos; los valores promedio fueron de 20,68; 14,22 y 34,88 con coeficientes de variación de 49,50; 36,29 y 39,83 para folículos pequeños, grandes y totales, respectivamente. Similarmente, el tamaño del cuerpo lúteo y el tamaño de los ovarios también mostraron valores similares de media y mediana, con coeficientes de variación relativamente bajos.

En el análisis de varianza presentado en el Cuadro 2 se observó diferencias significativas en el factor Rango de HAM, para las variables número de folículos pequeños, grandes y totales; mientras que para las variables tamaño del cuerpo lúteo y tamaños de ovarios no se detectaron efectos significativos. Para el factor categoría del animal (vacas y vaquillas) y para la interacción Categoría*Rango HAM no se detectaron diferencias estadísticas para ninguna de las variables.

De manera general, la tendencia de los valores promedios para los tres tipos de folículos cuantificados, es que a mayores niveles de HAM, se tiene mayor cantidad de folículos (Cuadro 3). En todos los casos, los valores más elevados del número de folículos pequeños, grandes y totales están vinculados al rango de más de 300 pg.mL⁻¹ de HAM, que resultaron estadísticamente superiores a los valores promedios observados en los otros dos niveles de la hormona (100-200 y 200-300 pg.mL⁻¹), los cuales son similares entre sí.

Hernández (2012) señala, que la hembra bovina nace con aproximadamente 200 mil folículos, de los cuales muy pocos se activan o inician su crecimiento y la mayor parte de ellos sufre atresia en diferentes etapas de desarrollo. Al nacimiento los folículos están en la fase más elemental y se conocen como folículos primordiales. Posteriormente estos

Cuadro 3. Comparación de valores promedios para los diferentes rangos de la HAM en relación al número de folículos, tamaño de cuerpo lúteo y tamaño de ovarios en vacas y vaquillas Brahman.

Rango HAM (pg.mL ⁻¹)	número de folículos			cuerpo lúteo (mm)	ovarios (cm)	
	pequeños	grandes	totales		derecho	izquierdo
100 - 200	14,48 b	12,58 b	27,02 b	13,93 a	2,57 a	2,65 a
200 - 300	20,30 b	13,24 b	33,53 b	14,27 a	2,85 a	2,82 a
más de 300	29,37 a	17,17 a	46,54 a	15,28 a	2,96 a	2,91 a

Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente entre sí por la prueba de Tukey a 5 %

folículos se activan y se transforman en primarios y secundarios, hasta este momento los folículos no tienen antro (etapa preantral) y su desarrollo es independiente de las gonadotropinas. Luego, con la formación del antro pasan a denominarse folículos terciarios y su desarrollo es dependiente de las gonadotropinas (etapa antral).

La dinámica folicular de las vacas ocurre en dos o tres ondas de crecimiento folicular durante el ciclo estral, iniciando con un conjunto de folículos reclutados a partir del grupo de folículos antrales más pequeños (2 a 4 mm), que han recibido una señal que les induce a crecer y desarrollarse en vez de sufrir regresión (Borges *et al.* 2001).

Cada onda folicular se divide en: reclutamiento, selección, desviación y dominancia. Durante el reclutamiento, una cohorte de folículos antrales es estimulado por el aumento transitorio de la hormona folículo estimulante. En la vaca, inicia el reclutamiento de un grupo de 5 a 10 folículos que posteriormente son sometidos a un proceso de selección, que tiene como resultado la dominancia de un único folículo y la regresión de los folículos restantes (Aerts y Bols 2010).

Ireland, JL *et al.* (2008), sostienen que la variación en el conteo de folículos antrales durante las olas foliculares está asociada a las alteraciones en las concentraciones circulantes de HAM. En tal sentido, Rojas *et al.* (2014) indican que esta hormona actúa inhibiendo el reclutamiento inicial de los folículos primordiales a primarios o disminuyendo el efecto de la hormona folículo estimulante sobre el crecimiento de folículos preantrales y antrales pequeños, con el fin de limitar el número de folículos antrales, regulando el número de folículos preovulatorios o asegurando la maduración de un solo ovulo.

Relación entre niveles de la hormona antimülleriana y número de folículos

La Figura 2 muestra el comportamiento del número de folículos en función de los niveles de la hormona antimülleriana. De manera general, se obtuvo un ajuste de tipo cuadrático que resultó significativo; constándose una relación causa-efecto entre las variables estudiadas.

El análisis de regresión entre los niveles de HAM y el número de folículos pequeños mostró diferencias significativas, presentando un ajuste cuadrático descrito por la ecuación 1.

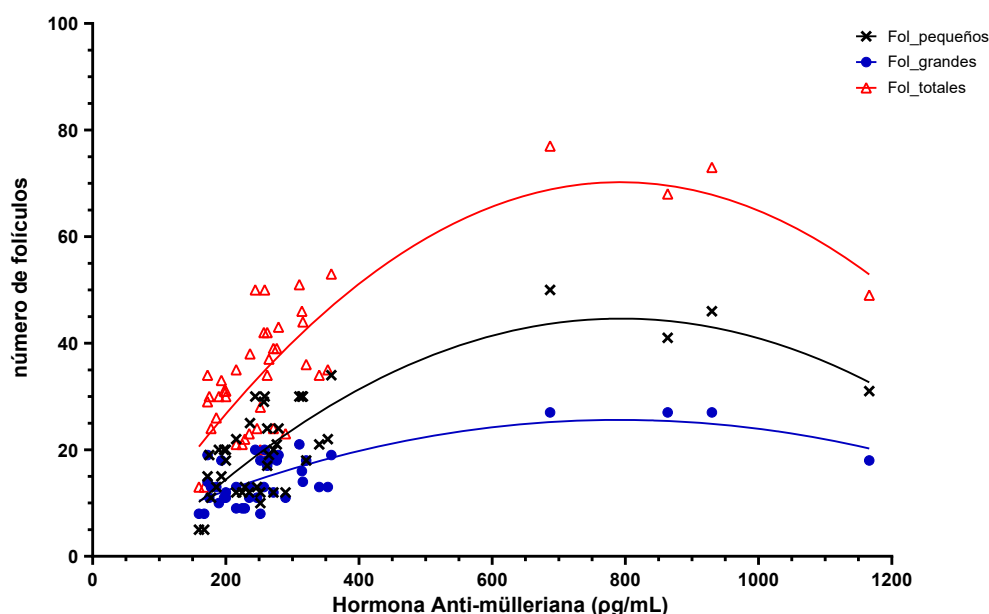


Figura 2. Relación entre niveles de la Hormona Anti-mülleriana hembras Brahman y el número de folículos pequeños, grandes y totales.

$$\hat{y} = -0,00009X^2 + 0,1362 - 9,40 \text{ Ec. 1}$$

con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,66. En el caso del número de folículos grandes se ajustó la ecuación 2.

$$\hat{y} = -0,00004X^2 + 0,0603X - 1,77 \text{ Ec. 2}$$

y el coeficiente de determinación (R^2) fue 0,51; finalmente para el número total de folículos se presentó un ajuste cuadrático definido por la ecuación 3.

$$\hat{y} = -0,0001X^2 + 0,1965X - 7,63 \text{ Ec. 3}$$

y su coeficiente de determinación (R^2) fue 0,67.

En las tres situaciones planteadas, la diferencia entre los valores observados y pronosticados fue significativa.

La tendencia observada ratifica que las hembras con mayor cantidad de folículos tienen mayores niveles de la hormona antimülleriana, hasta alcanzar un máximo que varía ligeramente dependiendo del tipo de folículo considerado, siendo que para los folículos pequeños el máximo se alcanzó con 757 (pg.mL⁻¹), para los folículos grandes el máximo correspondió a 754 (pg.mL⁻¹), mientras que para los folículos totales fue de 756 (pg.mL⁻¹), a partir de estos valores ocurre el descenso en la población de folículos.

En concordancia con los resultados obtenidos, diversos estudios señalan que la población de folículos antrales se correlaciona positivamente con la hormona antimülleriana (Baldrighi *et al.* 2014, Guerreiro *et al.* 2014). La expresión de HAM se observa en células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales en crecimiento (Rico *et al.* 2011), y se describe como un modulador prematuro del crecimiento folicular al controlar el agotamiento prematuro de la reserva folicular en los ovarios (Monniaux *et al.* 2012, Durlinger *et al.* 2002). La expresión de HAM intrafolicular aumenta hasta que el tamaño del folículo es de 5 mm en las vacas (Rico *et al.* 2011) y luego comienza a disminuir en los folículos antrales más grandes (Monniaux *et al.* 2008).

Similarmente, García-Guerra *et al.* (2017) señalan que, en las hembras, la producción de HAM se limita a las células granulosas de los folículos en crecimiento, siendo que el mayor aporte lo realizan los folículos preantrales grandes y

folículos antrales pequeños. En el ganado bovino, la HAM circulante está altamente correlacionada con conteo de folículos antrales y el número de ovocitos recuperados después de la captación del óvulo y la respuesta superestimuladora.

Rico *et al.* (2009), encontraron que las concentraciones de HAM fueron mayores en vacas con folículos antrales de 3 a 7 mm de diámetro, en comparación con aquellas con folículos grandes (más de 7 mm de diámetro), e infieren que los mayores niveles de HAM están asociados a la mayor proporción de folículos antrales pequeños y medianos que estaban activos en el momento de iniciarse la onda folicular.

Gobikrushanth *et al.* (2017), detectaron que para los niveles de la HAM se obtuvo mayor repetibilidad en relación al número de folículos antrales, este comportamiento sugiere que las concentraciones periféricas de HAM pueden ser un biomarcador más confiable que el conteo de folículos para evaluar la asociación con los resultados reproductivos; por otro lado, el estudio también señala la existencia de correlaciones moderadas e independientes en las etapas foliculares.

Por su parte, Koizumi y Kadokawa (2017) no detectaron ninguna relación entre la concentración plasmática de HAM y el número de folículos mayores de 5 mm, así como tampoco lograron detectar correlación entre el tamaño de los folículos más grandes, el cuerpo lúteo y la concentración plasmática de progesterona. Tal comportamiento se atribuyó a que gran parte de la HAM plasmática se originó a partir de células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales pequeños y no de los folículos antrales más grandes o del cuerpo lúteo (Bhide *et al.* 2016).

Varios estudios han demostrado que las concentraciones de HAM son variables entre los grupos genéticos y están fuertemente asociadas al número de folículos antrales. Guerreiro *et al.* (2014) reportaron que en novillas Nelore (24 - 26 meses de edad) las concentraciones promedio de HAM en suero alcanzaron un valor de 1,4 ng.mL⁻¹ y Pfeiffer *et al.* (2014) obtuvo concentraciones de HAM entre 0,042 y 0,054 ng.mL⁻¹ en Angus, Charolais y vaquillas cruzadas nulíparas, respectivamente. Las concentraciones de HAM y el número de

folículos fueron mayores en Gyr (0,6 ng/ml y 60,0 respectivamente) en comparación con Holstein (0,24 ng.mL⁻¹ y 35,9; respectivamente) y búfalos (0,18 ng.mL⁻¹ y 25,6 respectivamente) de la raza Murrah (Baldrighi *et al.* 2014).

En búfalos, Liang *et al.* (2016) demostraron que la concentración de HAM intrafolicular disminuye a medida que aumenta el tamaño folicular, y los folículos pequeños (3 a 5 mm) aportan la mayor parte de la HAM, de forma similar a otras especies. El contenido total de HAM por folículo disminuyó significativamente en los folículos medianos (5 a 8 mm) y se redujo aún más en los folículos grandes (mayor a 8 mm).

Las diferencias significativas detectadas en el análisis de varianza para el número de folículos pequeños, grandes y totales y la tendencia de aumento de sus valores a medida que se incrementan los niveles plasmáticos de HAM, constataadas por medio del análisis de regresión, ratifican la existencia de una relación causa-efecto entre los niveles de HAM y la población de folículos. Tal planteamiento consolida la evidencia obtenida inicialmente por el análisis de correlación positiva entre esas variables como fue indicado por (Ireland, JL *et al.* 2008, Rico *et al.* 2009, Baldrighi *et al.* 2014, Guerreiro *et al.* 2014, Gobikrushanth *et al.* 2017 y García-Guerra *et al.* 2017). Lo anterior corrobora que los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana se constituyen en un indicador confiable para predecir la reserva folicular en las hembras de la raza Brahman.

CONCLUSIONES

Se constató la tendencia de que las hembras con mayor cantidad de folículos pequeños, grandes y totales tienen mayores niveles de la hormona antimülleriana. Los mayores valores estuvieron vinculados al rango de más de 300 pg.mL⁻¹.

Se evidenció una mayor cantidad de folículos a medida que las hembras bovinas presentaron mayores niveles de HAM hasta alcanzar un máximo alrededor de 756 pg.mL⁻¹. A partir de ese nivel ocurrió un descenso en la población de folículos.

Los niveles plasmáticos de la hormona antimülleriana representaron un indicador confiable de la población de folículos y un biomarcador para predecir el potencial reproductivo de la hembra Brahman.

LITERATURA CITADA

- Aerts, JM; Bols, PE. 2010. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reproduction in Domestic Animals* 45:180-187.
- Baldrighi, JM; Sá Filho, MF; Batista, EO; Lopes, RN; Visintin, JA; Baruselli, PS; Assunção, ME. 2014. Anti-Müllerian hormone concentration and antral ovarian follicle population in murrah heifers compared to holstein and gyr kept under the same management. *Reproduction in Domestic Animals* 49:1015-1020.
- Ball B. 2011. Embryonic loss. *Equine reproduction*, Volume 2:2327-2338.
- Batista, EO; Guerreiro, BM; Freitas, BG; Silva, JC; Vieira, L; Ferreira, RM; Rezende, RG; Basso, AC; Lopes, RN; Rennó, FP; Souza, AH; Baruselli, PS. 2016. Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic animal endocrinology* 54:1-9.
- Bhide, P; Homburg, R. 2016. Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome. *Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology* 37:38-45.
- Borges, AM; Torres, CA; Ruas, JR; Jr Rocha, VR; Carvalho, GR. 2001. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 53(5):595-604.
- Broekmans, FJ; Visser, JA; Laven, JS; Broer, SL; Themmen, AP; Fauser, BC. 2008. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 19(9):340-347.
- Del Río Avilés, AD; Nieto Villanueva, E; Sánchez Castro, MÁ; Zamorano Algardar, R; Torres

- Simental, JF; Méndez Castillo, MG; Acosta Bauza, S; Torres Garaygordobil, A; Luna Nevárez, P. 2017. La hormona anti-mülleriana como un marcador endócrino asociado a la fertilidad postparto en Vacas Holstein. *La Sociedad Académica* 49:50-56.
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, M; González, L; Tablada, M; Robledo, V. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Durlinger, AL; Grujters, MJ; Kramer, P; Karels, B; Ingraham, HA; Nachtigal, MW; Uilenbroek, JT; Grootegoed, JA; Themmen, AP. 2002. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 143(3):1076-1084.
- García-Guerra, A; Motta, JC; Melo, LF; Kirkpatrick, BW; Wiltbank, MC. 2017. Ovulation rate, antral follicle count, and circulating anti-Müllerian hormone in Trio allele carriers, a novel high fecundity bovine genotype. *Theriogenology* 101:81-90.
- Gimenes, LU; Ferraz, ML; Fantinato-Neto, P; Chiaratti, MR; Mesquita, LG; Sá Filho, MF; Meirelles, FV; Trinca, LA; Rennó, FP; Watanabe, YF; Baruselli, PS. 2015. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. *Theriogenology* 83(3):385–393.
- Gobikrushanth, M; Dutra, PA; Bruinje, TC; Colazo, MG; Butler, ST; Ambrose, DJ. 2017. Repeatability of antral follicle counts and anti-Müllerian hormone and their associations determined at an unknown stage of follicular growth and an expected day of follicular wave emergence in dairy cows. *Theriogenology* 92:90–94.
- Guerreiro, BM; Batista, EO; Vieira, LM; Sá Filho, MF; Rodrigues, CA; Castro Netto, A; Silveira, CR; Bayeux, BM; Dias, EA; Monteiro, FM; Accorsi, M; Lopes, RN; Baruselli, PS. 2014. Plasma anti-müllerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic animal endocrinology* 49:96–104.
- Hernández, CJ. 2012. Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. Desarrollo foliular. Delegación Coyoacán México D.F. pp. 20-24.
- Ireland, JJ; Smith, GW; Scheetz, D; Jimenez-Krassel, F; Folger, JK; Ireland, JL; Mossa, F; Lonergan, P; Evans, AC. 2011. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 23(1):1-14.
- Ireland, JJ; Ward, F; Jimenez-Krassel, F; Ireland, JL; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC. 2007. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Human Reproduction* 22(6):1687-1695.
- Ireland, JJ; Zielak-Steciwo, AE; Jimenez-Krassel, F; Folger, J; Bettgowda, A; Scheetz, D; Walsh, S; Mossa, F; Knight, PG; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC. 2009. Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biology of Reproduction* 80(5):954-964.
- Ireland, JL; Scheetz, D; Jimenez-Krassel, F; Themmen, AP; Ward, F; Lonergan, P; Smith, GW; Perez, GI; Evans, AC; Ireland, JJ. 2008. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction* 79(6):1219-1225.
- Jimenez-Krassel, F; Scheetz, DM; Neuder, LM; Ireland, JL; Pursley, JR; Smith, GW; Tempelman, RJ; Ferris, T; Roudebush, WE; Mossa, F; Lonergan, P; Evans, AC; Ireland, JJ. 2015. Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated

- with productive herd life. *Journal of Dairy Science* 98(5):3036-3045.
- Koizumi, M; Kadokawa, H. 2017. Positive correlations of age and parity with plasma anti-Müllerian hormone concentrations in Japanese Black cows. *The Journal of Reproduction and Development* 63(2):205-209.
- Liang, A; Salzano, A; D'Esposito, M; Comin, A; Montillo, M; Yang, L; Campanile, G; Gasparrini, B. 2016. Anti-Müllerian hormone (AMH) concentration in follicular fluid and mRNA expression of AMH receptor type II and LH receptor in granulosa cells as predictive markers of good buffalo (*Bubalus bubalis*) donors. *Theriogenology*. 86(4):963-970.
- Monniaux, D; Barbey, S; Rico, C; Fabre, S; Gallard, Y; Larroque, H. 2010. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? *Reproduction, Fertility and Development* 22(7):1083-1091.
- Monniaux, D; Di Clemente, N; Touzé, JI; Belville, C; Rico, C; Bontoux, M; Picard, JY; Fabre, S. 2008. Intrafollicular steroids and Anti-Müllerian hormone during normal and cystic ovarian follicular development in the cow. *Biology of Reproduction* 79(2):387-396.
- Monniaux, D; Drouilhet, L; Rico, C; Estienne, A; Jarrier, P; Touzé, J; Sapa, J; Phocas, F; Dupont, J; Dalbiès-Tran, R; Fabre, S. 2012. Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reproduction, Fertility and Development* 25(1):1-16.
- Mossa, F; Jimenez-Krassel, F; Folger, JK; Ireland, JL; Smith, GW; Lonergan, P; Evans, AC; Ireland, JJ. 2010. Evidence that high variation in antral follicle count during follicular waves is linked to alterations in ovarian androgen production in cattle. *Reproduction* 140(5):713-720
- Pfeiffer, KE; Jury, LJ; Larson, JE. 2014. Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology* 46:58-64.
- Ribeiro, ES; Bisinotto, RS; Lima, FS; Greco, LF; Morrison, A; Kumar, A; Thatcher, WW; Santos, JE. 2014. Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of Dairy Science* 97(11):6888-6900
- Rico, C; Drouilhet, L; Salvetti, P; Dalbiès-Tran, R; Jarrier, P; Touzé, JL; Pillet, E; Ponsart, C; Fabre, S; Monniaux, D. 2012. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reproduction, Fertility and Development* 24(7):932-944.
- Rico, C; Fabre, S; Médigue, C; di Clemente, N; Clément, F; Bontoux, M; Touzé, JL; Dupont, M; Briant, E; Rémy, B; Beckers, JF; Monniaux, D. 2009. Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of Reproduction* 80(1):50-59.
- Rico, C; Médigue, C; Fabre, S; Jarrier, P; Bontoux, M; Clément, F; Monniaux, D. 2011. Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of Reproduction* 84(3):560-571.
- Rojas-García, PP; Recabarren, MP; Palma, S; Maliqueo, M; Carrasco, A; Sir-Petermann, T; Recabarren, SE. 2014. Morfometría ovárica y expresión del ARN mensajero de hormona antimülleriana (AMH), receptor de FSH (FSHR) y factor nuclear kappa B (NFkB) en folículos en crecimiento de borregas expuestas prenatalmente a testosterona. *Archivos de Medicina Veterinaria* 46(1):13-21.
- Santa Cruz, R; Cushman, RA; Viñoles, C. 2018. Antral follicular count is a tool that may allow the selection of more precocious Bradford heifers at weaning. *Theriogenology* 119:35-42.

Evaluación de la calidad sanitaria durante el procesamiento del jamón cocido, en una empresa del estado Carabobo, Venezuela

Adriana Mesa Fernández¹, Catalina Mesa Prince¹, Orialis Millán Hernández¹, Teresita Luigi Sandoval^{1,4*}, Luis Ramírez Mérida⁵, Legna Rojas^{2,3}

¹Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Bioanálisis. Venezuela. ²Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Venezuela. ³Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología, Centro de Biotecnología Aplicada. Venezuela. ⁴Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas, Centro de Investigaciones de Microbiología Ambiental (CIMA-UC). Venezuela. ⁵Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología, Departamento de Microbiología y Genética. Venezuela. *Correo Electrónico: teresitaluigi@hotmail.com

Resumen

La detección y control de microorganismos patógenos en alimentos es fundamental para evitar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Con el propósito de evaluar la calidad sanitaria del jamón cocido, con énfasis en la identificación y tipificación de colonias sospechosas de *Listeria* spp., en una empresa de embutidos del estado Carabobo, Venezuela, se recolectaron 20 muestras de 5 lotes de jamón cocido obtenidas en cuatro etapas del procesamiento industrial. Se emplearon métodos microbiológicos convencionales para la determinación de los microorganismos indicadores de calidad sanitaria y el aislamiento de *Listeria* spp., con base a los criterios microbiológicos recomendados por la norma COVENIN. La calidad sanitaria de los jamones fue aceptable, al cumplir con el límite establecido por la norma COVENIN 1602, no obstante, en dos de las cuatro etapas del procesamiento (materia prima y materia prima con adición de salmuera), el 15 % de las muestras resultaron identificadas como *Listeria welshimeri*. La presencia *L. welshimeri* en el jamón debe ser motivo de alerta para la industria, ya que la matriz alimentaria puede ofrecer un ambiente propicio para el desarrollo de otras especies del género especialmente *Listeria monocytogenes*, lo cual permite inferir que una falla en el procesamiento del jamón podría desencadenar un brote de Listeriosis en los consumidores.

Palabras clave: higiene de los alimentos, *Listeria* spp., inocuidad alimentaria, riesgos microbiológicos.

Assesment of the sanitary quality during processing of cooked ham in a company of Carabobo state, Venezuela

Abstract

The detection and control of pathogenic microorganisms in food is fundamental to avoid outbreaks of foodborne diseases (FBD). In order to evaluate the sanitary quality of cooked ham, with emphasis on the identification and typing suspicious colonies of *Listeria* spp., in a sausage company in Carabobo state, Venezuela, 20 samples were collected from 5 batches of cooked ham obtained in four stages of industrial processing. Conventional microbiological methods were used for the determination of the microorganisms indicating sanitary quality and the isolation of *Listeria* spp. based on the recommended microbiological criteria by COVENIN. The sanitary quality of the hams was acceptable, when complying with the limit established by the COVENIN 1602 standard, however, in two of the four processing stages (raw material and raw material with the addition of brine), 15 % of the samples resulted identified as *Listeria welshimeri*. The presence of *L. welshimeri* in ham should be a reason for alert for the industry, since the food matrix can offer an environment conducive to the development of other species of the genus especially *Listeria monocytogenes*, which allows inferring that a failure in the processing of the Ham could trigger an outbreak of Listeriosis in consumers.

Key words: food hygiene, *Listeria* spp., food safety, microbiological risk.

Recibido: 11/02/2019 - Aprobado: 06/11/2019

INTRODUCCIÓN

Debido a la globalización actual y al ritmo diario al cual está sometida la población, el consumo de alimentos procesados se ha convertido en una alternativa común en la alimentación humana, observándose en la actualidad un incremento en el consumo de los mismos (Benavides *et al.* 2017). Es por ello que dichos productos no solo deben ser elaborados en función de criterios de calidad tales como el aspecto, sabor y contenido nutricional, sino también deben cumplir con ciertos requisitos que garanticen la calidad sanitaria de los mismos, exigidos por las autoridades correspondientes, con la finalidad de proveer la seguridad al consumidor final (Zhang, H *et al.* 2016).

Los alimentos tienen un valor nutricional para quienes los consumen, aunque a menudo constituyen un medio de cultivo ideal para la multiplicación microbiana, pudiendo actuar como vehículo de transmisión de enfermedades. La detección y control de los microorganismos responsables de la contaminación de los alimentos, es fundamental para garantizar la inocuidad de los mismos y evitar el desarrollo de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Las ETA han sido definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como enfermedades de carácter infeccioso o tóxico causadas por el consumo de alimentos o agua contaminada (Posada *et al.* 2015). Los microorganismos causantes de ETA pueden estar presentes en cualquier etapa del proceso que involucra la manipulación de los alimentos, desde el productor hasta el consumidor final.

Entre los microorganismos aislados con más frecuencia como agentes causantes de ETA se encuentran, *Shigella* spp, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* O 157:H7 y *Listeria monocytogenes*. Este último, es una bacteria grampositiva, responsable de la "listeriosis", una toxoinfección alimentaria responsable de alrededor de 1460 hospitalizaciones y 260 muertes en promedio anual en EEUU (Scallan *et al.* 2011).

Listeria monocytogenes puede sobrevivir y crecer en condiciones adversas, incluyendo temperaturas

de refrigeración (2 a 4 °C), un rango de pH de 4 a 5 y altas concentraciones salinas (11,5 % de NaCl). Lo anterior, dificulta el control de la contaminación y convierte a este microorganismo en una amenaza para la salud pública y para la seguridad de la industria alimentaria (Prencipe *et al.* 2012).

Durante las últimas décadas, el sistema RASFF (Rapid Alert System Feed and Food, por sus siglas en inglés) de la Unión Europea, ha registrado un moderado incremento de las notificaciones para este patógeno en la carne y productos cárnicos sobre todo en aquellos caracterizados como alimentos de "consumo rápido" o RTE, por sus siglas en inglés (Ready To Eat), como el salami y productos cárnicos cocidos como el jamón. Estos productos, en su mayoría han recibido tratamiento industrializado, y pueden encontrarse contaminados debido a la ubicuidad de *Listeria*, la cual puede estar presente desde la materia prima, hasta el producto final (Martins *et al.* 2011, Guilbaud *et al.* 2015).

En Venezuela, la norma 1602 (COVENIN 1996), establece los criterios de calidad microbiológica para el jamón cocido, donde se incluye la detección de los microorganismos indicadores de calidad sanitaria como *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos, coliformes fecales, coliformes totales, levaduras, mohos, *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus*. Aun cuando existen evidencias de la asociación de los agentes bióticos con las ETA, lo cual ha promovido la publicación de normas con las exigencias de calidad microbiológica para los alimentos, poco se han desarrollado en Venezuela las líneas de investigación en el área de microbiología de alimentos relacionadas a *Listeria monocytogenes*. La mayoría han sido dirigidas a productos como quesos artesanales y vegetales mínimamente procesados. Lo anterior ha promovido ampliar la investigación hacia otros tipos de alimentos como el jamón cocido.

El consumo de éste último ha presentado fluctuaciones de acuerdo al comportamiento de la economía nacional (Ávila y Orosco 2013); en alcance a los datos compilados por la encuesta de seguimiento al consumo de alimentos del Instituto Nacional de Estadística (INE), entre el segundo semestre de 2012 hasta el segundo semestre

de 2013, se ha evidenciado una disminución del porcentaje de hogares venezolanos que adquieren jamón, de 67,94 a 64,92 % (INE 2014).

En cuanto a la producción, no se dispone de estadísticas oficiales recientes del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT). Sin embargo, Uzcátegui *et al.* (2016), señalan que la producción porcina ha presentado fluctuaciones debido a la alta dependencia de importaciones de recursos e insumos para el sistema.

A pesar de la disminución del consumo, el producto aun forma parte importante de la dieta de la población venezolana por lo que la evaluación de *Listeria monocytogenes* constituye un aporte fundamental para las empresas productoras de jamón en la región, ya que sentaría las bases para incorporar la investigación de patógenos en las diferentes etapas del procesamiento industrial, con fines de afianzar los estándares de calidad microbiológica en la industria alimentaria.

En alcance a lo expuesto, el objetivo de esta investigación fue determinar la calidad sanitaria del jamón cocido, con énfasis en la identificación y tipificación de *Listeria* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

El material experimental estuvo conformado por 20 muestras obtenidas de 5 lotes según recomendaciones de las normas 1602 (COVENIN 1996) y 3124 (COVENIN 2001), para el estudio de los criterios microbiológicos a nivel de planta y centros de distribución de la empresa. Las muestras fueron tomadas en cuatro etapas del procesamiento industrializado del jamón cocido, en una empresa de embutidos del estado Carabobo, Venezuela.

El muestreo se realizó al azar en las siguientes etapas: materia Prima (MP), materia prima con adición de salmuera (MP + Sal), producto recién cocido o sometido a cocción (PC) y producto terminado (PT). Se recolectó un grupo de muestras para cada uno de los 5 lotes evaluados, obteniéndose un total de 5 muestras conformadas por 4 submuestras cada una. Todas fueron

recolectadas en frascos de vidrio y tripas comerciales estériles, debidamente identificadas y transportadas dentro de recipientes isotermos. En el laboratorio, las muestras fueron procesadas inmediatamente para determinación de bacterias aerobias mesófilas (BAM), mohos, levaduras, coliformes totales y termotolerantes, como indicadores de calidad sanitaria del jamón cocido, así como la detección de *Listeria* spp.

Determinación de bacterias aerobias mesófilas (BAM)

El recuento de BAM se realizó según el procedimiento descrito por la norma 902 (COVENIN 1987), en el cual se utiliza siembra en placas con agar cuenta estándar BBL™ (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD USA), con posterior incubación a 37 °C por 48 h. Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en cuenta colonias, considerando para el recuento únicamente las placas en las cuales se cuantificaron entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias (UFC).

Determinación de mohos y levaduras

La determinación se realizó según la metodología estándar sugerida por la norma 1337 (COVENIN 1990), la cual utiliza la siembra en placas empleando como medio de cultivo agar Sabouraud Dextrosa (BBL™ Becton Dickinson and Company, Sparks, MD USA) con antibiótico (cloranfenicol 0,4 g.L⁻¹) y se empleó un esquema de incubación de 25 - 29 °C por 5 días. Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en un cuenta colonias, considerando solo las placas con recuentos entre 10 y 100 UFC.

Determinación de coliformes totales y termotolerantes (fecales)

Se empleó el método de recuento de bacterias coliformes en placas de Petri según la metodología recomendada por la norma 1086 (COVENIN 1984). En los 10 minutos siguientes a la preparación de las diluciones, se realizó la siembra en Agar Bilis Rojo Violeta (HIMEDIA®, Himedia laboratories, Mumbai, India) por duplicado, con posterior incubación a 37 °C y a 44 °C por 24 horas. Las colonias se enumeraron al término

del tiempo de incubación, en un cuenta colonias, considerando para el recuento únicamente las placas con un máximo de 150 colonias.

A pesar de que las normas mencionadas sugieren que se emplee el método de siembra en profundidad, en el presente estudio se utilizó la siembra en superficie debido a que es la metodología que se encuentra estandarizada en el laboratorio. De igual forma, se realizaron evaluaciones preliminares para comparar las dos técnicas y no se observaron diferencias importantes.

Para la siembra en superficie, se tomaron 100 μ L de cada dilución y se agregaron en placas de Petri que contenían el agar indicado solidificado. Luego, con la ayuda de una espátula de Drigalsky, la muestra se esparció de forma homogénea hasta que fue absorbida completamente por el agar.

Detección de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes fue aislada e identificada en las diferentes muestras según la norma 3718 (COVENIN 2001), empleando Agar Palcam (HIMEDIA®, Himedia laboratories, Mumbai, India). Las colonias típicas se reaislaron en placas de Petri con agar tripticasa soya (BBL™ Becton Dickinson and Company. Sparks, MD USA); se incubaron a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, las cepas fueron clasificadas y agrupadas por sus diferencias macro y microscópicas, y se confirmaron por pruebas bioquímicas específicas de cada especie.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Indicadores de calidad sanitaria del jamón cocido

Durante las dos primeras etapas del procesamiento se observó crecimiento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras mayor a 100 UFC.mL⁻¹ en todos los lotes analizados (Cuadro 1). Así mismo, se evidenció crecimiento de coliformes termotolerantes (fecales) menor a 100 UFC.mL⁻¹ en todas las muestras analizadas.

Los resultados obtenidos en este estudio son similares a los de Kimiran-Erdem *et al.* (2014) y Mousa *et al.* (2015) quienes refieren recuentos altos de aerobios mesófilos, coliformes y de microorganismos deteriorativos como mohos y levaduras en productos cárnicos; lo anterior es debido probablemente a la contaminación microbiológica presente en la carne utilizada para la elaboración del producto final (Hultman *et al.* 2015).

Según Jaja *et al.* (2018), la carga bacteriana de la carne cruda depende en gran medida de factores como la contaminación de las canales a lo largo de la cadena de sacrificio (piel y estiércol del animal), contaminación de equipos tales como máquinas y herramientas de corte, entorno antihigiénico, incumplimiento de los procesos adecuados de sacrificio y fallas en la higiene del personal; es importante resaltar que las fallas higiénicas durante el sacrificio promueven la contaminación de la carne y las instalaciones industriales con heces de animales. De este modo, aunque los músculos de animales sanos no contienen microorganismos, los tejidos

Cuadro 1. Indicadores de calidad sanitaria en muestras de jamón cocido provenientes de diferentes etapas del procesamiento en una empresa del estado Carabobo, Venezuela.

Etapa del procesamiento	Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM)	Coliformes Termotolerantes	Mohos y Levaduras
	Recuentos promedio (1,0 x 10 ⁴ UFC. mL ⁻¹)		
MP	149,28	< 0,01	26,70
MP + Sal	98,54	< 0,01	3,00
PC	< 0,01	< 0,01	< 0,01
PT	< 0,01	< 0,01	< 0,01

MP: Materia Prima, MP + Sal: Materia prima con adición de salmuera, PT: Producto Terminado.

de la carne pueden ser contaminados durante las diversas etapas de la matanza y el transporte, contribuyendo a la contaminación de la materia prima. Adicionalmente, el incumplimiento de las buenas prácticas de fabricación (BPF) e higiene permiten que la bacteria sea transportada a la industria por zapatos, ropa, equipos de transporte y personas (Rodrigues *et al.* 2017).

En este estudio se observa una carga de bacterias aerobias mesófilas visiblemente mayor en las etapas MP y MP + Sal, en comparación con los otros indicadores de calidad microbiana. Al respecto, Hultman *et al.* (2015), reportan que dentro de la planta de procesamiento de embutidos, los géneros bacterianos presentes en mayor proporción corresponden a microorganismos psicrófilos y mesófilos, lo cual coincide con las temperaturas óptimas entre 20 y 25 °C, típicas de bacterias tolerantes al frío promotoras de deterioro de alimentos. Estas bacterias son propias de ambientes de carnicería, almacenes de canales de res y productos de carne, por lo tanto, es probable que toleren condiciones como los procedimientos recurrentes de limpieza y desinfección que prevalecen en las plantas de procesamiento.

Es importante considerar la presencia de microorganismos en los equipos industriales (Guo *et al.* 2014), como las máquinas de procesamiento, especialmente aquellas con diseños complejos difíciles de limpiar (Gómez *et al.* 2015). En la empresa donde se realizó el estudio, se elaboran productos embutidos con carne de diversas especies tales como pollo, cerdo, pavo y res. Para el proceso de molienda utilizan molinos de diferente calibre, dependiendo del tipo de carne; con base en lo anterior, es probable que el uso del mismo molino para procesar diferentes tipos de carne, contribuya a la contaminación cruzada de los productos cárnicos utilizados (Khen *et al.* 2015).

La inferencia anterior se sustenta en el reporte sobre la implicación de las carnes molidas o productos preparados a partir de carne molida, en la transmisión de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en brotes informados en todo el mundo (Ferreira *et al.* 2014). Más recientemente se ha reportado que la molienda de carne es un paso crítico, ya que los

patógenos pueden transferirse de porciones de carne contaminadas a no contaminadas (Møller *et al.* 2016).

De lo anterior, se deriva que de las medidas tomadas para evitar la contaminación cruzada, la limpieza y desinfección de las máquinas y superficies en las plantas procesadoras, son de máxima importancia. De igual manera, es preferible el uso de máquinas con un diseño higiénico fáciles de desmontar y que permitan una limpieza adecuada (Gómez *et al.* 2015).

En las etapas posteriores del procesamiento (PC y PT), se observó una disminución de la carga microbiana de todos los indicadores de calidad sanitaria (Cuadro 1). Esto indica que los tratamientos químico y térmico aplicados a la materia prima, contribuyeron a la obtención de recuentos microbiológicos que garantizan la inocuidad del alimento y un producto terminado apto para el consumo (Dušková *et al.* 2016).

No obstante, es importante vigilar la calidad sanitaria de la materia prima (Ahmed *et al.* 2017), y cuidar las etapas posteriores al procesamiento térmico final, ya que el jamón puede estar expuesto a contaminación cruzada con bacterias deteriorantes formadoras de biopelículas como *Lactobacillus* spp., las cuales pueden encontrarse en las superficies de trabajo. Lo anterior, sumado a problemas con el mantenimiento de la cadena de frío durante la producción y comercialización pueden ocasionar no solo el deterioro del producto, sino también representar un riesgo para la inocuidad alimentaria (Stahl *et al.* 2015).

Determinación de *Listeria* spp.

Los resultados muestran la presencia de *Listeria* en 2 lotes, en las etapas de MP y MP + Sal (Cuadro 2). Es importante mencionar que las muestras que revelaron características de *Listeria* spp., sobre el medio Palcam, fueron consideradas como *Listeria* presuntiva, por lo que se reaislaron y se sometieron a pruebas bioquímicas confirmatorias, observándose que todas las muestras presentaron características coincidentes en un 100 % con las de *Listeria welshimeri*.

El jamón cocido es considerado un alimento de “consumo rápido” o RTE; por sus siglas en inglés

Cuadro 2. Presencia de *Listeria* presuntiva en muestras provenientes de 5 lotes y diferentes etapas del procesamiento industrializado de jamón cocido en una empresa del estado Carabobo, Venezuela.

Lote	Etapas del Procesamiento			
	MP	MP + Sal	PC	PT
1	<i>Listeria</i> presuntiva	Ausente	Ausente	Ausente
2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
4	<i>Listeria</i> presuntiva	<i>Listeria</i> presuntiva	Ausente	Ausente
5	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

MP: Materia Prima, MP + Sal: Materia prima con adición de salmuera, PC: Producto sometido a cocción, PT: Producto Terminado.

(Ready To Eat), con tendencia a ser consumido sin tratamiento térmico (Stahl *et al.* 2015, Ciekure *et al.* 2016), entonces la presencia de *Listeria* spp., en el producto constituye un riesgo para salud humana (en especial para adultos mayores, mujeres embarazadas, niños y adultos con sistemas inmunes debilitados).

Lo anterior resalta la necesidad del control de la higiene por parte de los fabricantes, no solo durante la producción y el almacenamiento (Ciekure *et al.* 2016), sino también en la calidad sanitaria de la materia prima. Se ha reportado que las cámaras frigoríficas o los lugares de almacenamiento de la carne cruda proveniente de los mataderos, constituyen áreas críticas desde donde *L. monocytogenes* se puede propagar a otras partes de la instalación de producción (Kurpas *et al.* 2018). Esto puede ser la causa del moderado incremento de notificaciones por *Listeria* en carne y en productos cárnicos listos para el consumo como el jamón (Rajkovic *et al.* 2017).

El aislamiento de *Listeria* presuntiva en el presente estudio, indicó la probable persistencia de cepas patógenas en los ambientes de procesamiento de carne (D'Ostunia *et al.* 2016). Lo anterior, confirma la necesidad de mejorar los procedimientos de monitoreo microbiológico de la planta procesadora, con el fin de garantizar la inocuidad del producto y de la salud pública. La estrategia de elección para optimizar el seguimiento microbiológico sería el establecimiento de un sistema de análisis de riesgos y puntos críticos de control (ARPPC).

Todas las muestras consideradas como *Listeria* presuntiva fueron identificadas como *Listeria welshimeri*, una especie no patógena de este género. No obstante, su presencia en instalaciones de procesamiento de alimentos debe ser vigilada con atención; al pertenecer al mismo género, *L. welshimeri* comparte características muy similares con *L. monocytogenes* (Zhang, Y *et al.* 2016), por lo que ocasionalmente puede enmascarar la presencia del patógeno y suponer un riesgo considerable para la inocuidad del alimento (Bolocan *et al.* 2016).

Se ha demostrado la persistencia de diferentes cepas en los entornos de procesamiento de alimentos, por lo que una falla durante el procesamiento podría desencadenar la proliferación no solo de *L. monocytogenes* sino de cualquier otro microorganismo patógeno (Ferreira *et al.* 2014, Leong *et al.* 2014).

El aislamiento de *L. welshimeri* en las muestras de MP y MP + Sal revelan la capacidad de sobrevivencia de la bacteria en ambientes con altas concentraciones de sal (11,5 % NaCl; Prencipe *et al.* 2012), aun cuando la sal es un agente estresante que reduce la velocidad de desarrollo bacteriano y contribuye a la destrucción o inhibición de este microorganismo. Al respecto, Metselaar *et al.* (2016), señalan que la resistencia al estrés de las cepas bacterianas dependen de condiciones ambientales, como la temperatura de crecimiento, la composición del medio (pH y concentración de sales) y la etapa

de crecimiento, por lo que alguna de estas variables o la combinación de las mismas podrían explicar la presencia de *Listeria* presuntiva en esta etapa del procesamiento (MP + Sal).

No se observó *Listeria* sp. en las etapas PC y PT (Cuadro 2), lo que confirma la sensibilidad de *Listeria* sp., a tratamientos térmicos. Se ha señalado que temperaturas entre 72 y 74 °C son suficientes para destruir al microorganismo. En este sentido, la presencia de este microorganismo en productos cocidos, sugiere la contaminación luego del tratamiento térmico (contaminación posproceso), por lo que resulta necesario enfocar el control microbiológico en aspectos como: aplicación estricta de las BPF, saneamiento, tecnologías de envasado estéril, tratamientos de posletalidad en el paquete y la reformulación de productos con agentes antimicrobianos (Martins y Germano 2011).

En el caso particular de productos cárnicos como el jamón cocido, pueden ser más vulnerables a la contaminación cruzada debido a los múltiples pasos en su preparación (Guo *et al.* 2014). La vía más probable es el contacto directo del producto terminado con equipos contaminados como cámaras de enfriamiento de salmuera, tolvas, cortadoras, peladoras, transportadores y máquinas de envasado (Valero *et al.* 2017, Kaddumukasa *et al.* 2019). La bacteria también se puede transportar en la ropa y botas de los trabajadores, lo que resulta en la contaminación de otras zonas de la planta.

La prevención de la contaminación o inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* en alimentos requiere de buenas prácticas de fabricación, programas apropiados de limpieza, saneamiento e higiene y control efectivo de la temperatura a lo largo de la cadena de producción, distribución y almacenamiento (Gómez *et al.* 2015).

En el presente estudio se destacaron dos aspectos fundamentales en la industria de alimentos, el primero orientado al aseguramiento de la calidad de la materia prima de la cual se parte; aspecto que puede controlarse a través de auditorías frecuentes que promoverán la disminución de los peligros biológicos y la alteración nutricional u organoléptica del producto final.

El segundo aspecto resaltado en este estudio, es la importancia y necesidad de establecer un sistema de ARPCC, para el monitoreo y regulación de los puntos críticos de control (PCC), principalmente el análisis microbiológico de los productos obtenidos en cada etapa del procesamiento industrial del jamón, así como el monitoreo y control de las superficies de contacto, por el riesgo de recontaminación

CONCLUSIONES

Los indicadores de calidad sanitaria de todas las muestras de producto terminado (PT) analizadas, se encontraron dentro del límite único de aceptación (100 %), según los parámetros de análisis microbiológico del jamón cocido, establecidos en la norma COVENIN 1602.

Se identificó *Listeria welshimeri* en muestras correspondientes a materia prima y materia prima con adición de salmuera, indicando que la matriz alimentaria estudiada ofrece un ambiente propicio para el desarrollo de otras especies del género, especialmente *Listeria monocytogenes*.

LITERATURA CITADA

- Ahmed, J; Mulla, M; Arfat, Y. 2017. Application of high-pressure processing and polylactide/cinnamon oil packaging on chicken sample for inactivation and inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium, and post-processing film properties. Food Control 78:160-168.
- Ávila, J; Orozco, I. 2013. Calidad microbiológica de productos cárnicos analizados en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Fundación CIEPE, Venezuela. Período 2008-2012. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 4(1):132-145.
- Benavides, M; Vizarreta, D; Maguiña, J. 2017. Evaluación de la composición nutricional de los menús expendidos en restaurantes: Necesidad de nueva información. Revista Chilena de Nutrición 44(3): 292-293.
- Bolocan, A; Nicolau, A; Álvarez, A; Borda, D; Oniciuc, E; Stessl, B; Gurdu, L; Wagner, M;

- Jordan, K. 2016. Dynamics of *Listeria monocytogenes* colonisation in a newly-opened meat processing facility. *Meat science* 113:26-34.
- Ciekure, E; Siksna, I; Valcina, O; Vīksna, L; Krūmina, A. 2016. Microbiological quality of ready to eat products and potential risk for consumers in Latvia. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences* 70 (4):245-251.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1987. Alimentos. Métodos para el recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de petri. Norma 902. 2º revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 8 dic. 8 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1984. Alimentos. Métodos para recuento de bacterias coliformes en placas de petri. Norma 1086. 1º revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 11 dic. 9 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1990. Alimentos. Métodos para recuento de hongos y levaduras. Norma 1337. 1º revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 1 ago. 10 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1996. Jamón Cocido. Norma 1602. 2º revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 5 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 2001. Alimentos. Aislamiento y detección de *Listeria monocytogenes* en alimentos. Norma 3718. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 19 dic. 18 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 2001. Fiambre. Norma 3124. 1º revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 25 jul. 8 p.
- D'Ostuni, V; Tristezza, M; De Giorgi, M; Rampino, P; Grieco, F; Perrotta, C. 2016. Occurrence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in meat processed products from industrial plants in Southern Italy. *Food Control* 62:104-109.
- Dušková, M; Kameník, J; Lačanin, I; Šedo, O; Zdráhal, Z. 2016. Lactic acid bacteria in cooked hams - Sources of contamination and chances of survival in the product. *Food Control* 61:1-5.
- Ferreira, V; Wiedmann, M; Teixeira, P; Stasiewicz, MJ. 2014. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. *Journal of Food Protection* 77(1):150-170.
- Gómez, D; Iguácel, L; Rota, M; Carramiñana, J; Ariño, A; Yangüela, J. 2015. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products and Meat Processing Plants in Spain. *Foods* 4(3):271-282.
- Guilbaud, M; Piveteau, P; Desvaux, M; Brisse, S; Briandet, R. 2015. Exploring the diversity of *Listeria monocytogenes* biofilm architecture by high-throughput confocal laser scanning microscopy and the predominance of the honeycomb-like morphotype. *Applied and Environmental Microbiology* 81(5):1813-1819.
- Guo, M; Jin, T; Wang, L; Scullen, O; Sommers, C. 2014. Antimicrobial films and coatings for inactivation of *Listeria innocua* on ready-to-eat deli turkey meat. *Food control* 40: 64-70.
- Hultman, J; Rahkila, R; Ali, J; Rousu, J; Björkroth, K. 2015. Meat processing plant microbiome and contamination patterns of cold-tolerant bacteria causing food safety and spoilage risks in the manufacture of vacuum-packaged cooked sausages. *Applied and Environmental Microbiology* 81(20):7088-7097.
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 2014. Encuesta de seguimiento al consumo de alimentos. Cuadro 1. Venezuela. Hogares con adquisiciones, según producto, primer semestre 2012 al segundo semestre 2013 (en línea). Caracas, Venezuela, MPPP. Consultado feb. 2019. Disponible en <https://bit.ly/2z6vlqR>
- Jaja, I; Green, E; Muchenje, V. 2018. Aerobic Mesophilic, Coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* Counts of Raw Meat from the Formal and Informal Meat Sectors in South Africa. *International Journal Environmental Research and Public Health* 15(4):806- 819.

- Kaddumukasa, P; Imathiu, S; Mathara, J; Nakavuma, J. 2019. Bacterial Contamination of Selected Fruits, Fresh Juice Contact Surfaces and Processor's Hands: Potential Risk for Consumers' Health in Uganda. *Journal of Food Science and Nutrition Research* 2(3):199-213.
- Khen, B; Lynch, O; Carroll, J; McDowell, D; Duffy, G. 2015. Occurrence, antibiotic resistance and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* in the beef chain in the Republic of Ireland. *Zoonoses. Public. Health* 62(1):11-17.
- Kimiran-Erdem, A; Saglam, D; Didem, O; Ozcelik, E. 2014. Microbiological quality of minced meat samples marketed in Istanbul. *YVU Veteriner Fakultesi Dergisi* 25(3): 67-70.
- Kurpas, M; Wieczorek, K; Osek, J. 2018. Ready-to-eat meat products as a source of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Veterinary Research* 61(1):49-55.
- Leong, D; Alvarez, A; Jordan, K. 2014. Monitoring occurrence and persistence of *Listeria monocytogenes* in foods and food processing environments in the Republic of Ireland. *Frontiers in Microbiology* 5:420-436.
- Martins, E; Germano, P. 2011. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping. *Food Control* 22(2):297-302.
- Metselaar, K; Abee, T; Zwietering, M; den Besten, H. 2016. Modeling and validation of the ecological behavior of wild-type *Listeria monocytogenes* and stress-resistant variants. *Applied and Environmental Microbiology* 82(17):5389-5401.
- Møller, C; Sant'Ana, A; Hansen, S; Nauta, M; Silva, L; Alvarenga, V; Maffei, D; Silva, FF; Lopes, JT; Franco, BD; Aabo, S; Hansen, TB. 2016. Evaluation of a cross contamination model describing transfer of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* during grinding of pork and beef. *International Journal of Food Microbiology* 226:42-52.
- Mousa, M; Rizk, M; Makled, E. 2015. Microbial Profile of Fresh Beef Meat. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* 46(1):146-154.
- Posada, P; Rodriguez, I; Ferrer, Y. 2015. Comportamiento temporal y espacial de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Ciego de Ávila. *MediCiego* 21(1):1-8.
- Prencipe, V; Rizzi, V; Acciari, V; Iannetti, L; Giovannini, A; Serraino, A; Calderone, D; Rossi, A; Morelli, D; Marino, L; Migliorati, G; Caporale, V. 2012. *Listeria monocytogenes* prevalence, contamination levels and strains characterization throughout the Parma ham processing chain. *Food Control* 25(1):150-158.
- Rajkovic, A; Tomasevic, I; De Meulenaer, B; Devlieghere, F. 2017. The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A on sliced fermented salami and its chemical quality. *Food Control* 73(Part B):829-837.
- Rodrigues, CS; de Sá, CVGC; de Melo, CB. 2017. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. *Ciência Rural* 47(2):1-8.
- Scallan, E; Hoekstra, R; Angulo, F; Tauxe, R; Widdowson, M; Roy, S; Griffin, P. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerging Infectious Diseases* 17(1):7-15.
- Stahl, V; Ndoeye, F; El Jabri, M; Le Page, J; Hezard, B; Lintz, A; Thuault, D. 2015. Safety and quality assessment of ready-to-eat pork products in the cold chain. *Journal of Food Engineering* 148:43-52.
- Uzcátegui, R; Farfán, C; Gudiño, Y; Salamanca, J. 2016. Coeficientes técnicos y estructura de costo de una granja porcina sitio I ubicada en el municipio Mariño del estado Aragua, Venezuela. *Revista Científica* 26(1):55-62.
- Valero, A; Ortiz, J; Fongaro, G; Hernández, M; Rodríguez-Lázaro, D. 2017. Definition of sampling procedures for collective-eating

establishments based on the distribution of environmental microbiological contamination on food handlers, utensils and surfaces. Food control 77:8-16.

Zhang, H; Wu, J; Guo, X. 2016. Effects of anti-microbial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. Food Science and Human Wellness 5(1):39-48.

Zhang, Y; Liu, X; Wang, Y; Zhao, F; Sun, Z; Liao, X. 2016. Quality comparison of carrot juices processed by high-pressure processing and high-temperature short-time processing. Innovative Food Science & Emerging Technologies 33:135-144.

Nota Técnica

Caracterización preliminar de la pesca artesanal de arrastre camaronero en el occidente de Venezuela

Juan J. Garcés Medina¹, Ángel A. Díaz Lugo², Luis del Valle González²

¹Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura (INSOPESCA), Muelle Pesquero Las Piedras. Punto Fijo, Falcón, Venezuela.

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Campo Experimental Las Piedras, Muelle Pesquero Las Piedras. Punto Fijo, Falcón, Venezuela. *Correo electrónico: luisdelgonza2311@gmail.com

RESUMEN

La pesca artesanal de arrastre camaronero en el estado Falcón, Venezuela es de practica reciente y no cuenta con antecedentes de evaluación. Este tipo de pesca se realiza con un arte de pesca denominado red chica. La pesquería artesanal de arrastre camaronero ha generado conflictos de interferencia pesquera. La investigación se realizó mediante encuestas semi-estructuradas, que recopilaban información de 39 variables sobre caracterización pesquera y aspectos socioeconómicos. Las ganancias generadas por la pesca artesanal de arrastre, generan mucho interés por parte de los pescadores. Se infiere que la pesca artesanal de arrastre con red chica se encuentra en sus primeras etapas de desarrollo, y se considera además que este es el mejor momento para iniciar su regulación.

Palabras clave: pesca de arrastre, redes de arrastre, camarón, pesca artesanal, Golfo de Venezuela, pesca de mariscos.

Preliminary characterization of artisanal shrimp trawling fisheries in the western of Venezuela

ABSTRACT

Artisanal shrimp trawling fisheries in the Falcón state, Venezuela is recently practiced and has no evaluation history. This type of fishing is done with a fishing gear called small net. The artisanal shrimp trawl fishery has generated conflicts of fishing interference. The research was carried out by means of semi-structured surveys, which collected information on 39 variables on fishing characterization and socioeconomic aspects. The profits generated by artisanal trawl fishing generate a lot of interest on the part of the fishermen. It is inferred that artisanal trawling with small net is in its early stages of development, and it is also considered that this is the best time to start its regulation.

Key words: trawling, drift nets, shrimp, artisanal fisheries, Gulf of Venezuela, shellfish fisheries.

INTRODUCCIÓN

La pesca artesanal de arrastre camaronero en Venezuela está regulada desde el año 2016 mediante una serie de normas técnicas dictadas por el Ministerio para el Poder Popular de Pesca y Acuicultura (MPPPA 2016). Esta regulación fue dirigida a pescadores artesanales de comunidades pesqueras de Anzoátegui, Delta Amacuro, Miranda y Sucre, quienes realizan esta actividad con un arte denominado red chica.

Esta red de arrastre es similar a las industriales en cuanto a forma, pero difiere en el tamaño el cual se adecua a la embarcación que la utiliza. Se ha reportado que el uso de este tipo de red en Venezuela se inicia en los años 70 por parte de pescadores trinitarios, quienes las utilizaban en aguas someras frente al delta del río Orinoco (Altuve *et al.* 1995, Altuve 1997).

La normativa citada, no incluyó al estado Falcón debido a que no contaba con antecedentes de evaluación biológica, pesquera y económica de este tipo de actividad, por lo que se consideró la inexistencia de esta tradición en la región.

A pesar de que es realizada por algunas comunidades del estado Falcón, su uso es ilegal; específicamente el artículo 21 de la Providencia, prohíbe la actividad de pesca artesanal de arrastre camaronero con “red chica” en el resto del territorio nacional, con énfasis en aquellas zonas consideradas “frágiles” (MPPPA 2016).

Por otra parte, existen grupos de pescadores en el Occidente venezolano, específicamente en las comunidades de Amuay, Villa Marina, Punta Cardón, Las Piedras y Carirubana que no realizan la pesca artesanal de arrastre con red chica. Los mismos han manifestado que la pesca artesanal de arrastre promueve conflictos de interferencia pesquera por el área de pesca y recursos acompañantes del camarón. De igual forma, han expuesto los efectos destructivos de este tipo de pesca sobre el hábitat de sus recursos pesqueros (INSOPESCA 2012).

Lo anterior permite inferir la necesidad de información sobre la pesquería artesanal de arrastre camaronero desarrollada en el occidente venezolano, que permita deducir sus implicaciones

e inferir la necesidad de adopción de medidas de manejo. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue realizar la caracterización pesquera y socioeconómica de la pesca artesanal de arrastre camaronero desarrollada en la comunidad de Carirubana, estado Falcón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se realizó en la población pesquera de Carirubana, en el municipio Carirubana ubicado en la Península de Paraguaná del estado Falcón (Figura 1).

Las labores de pesca son realizadas en la zona marino costera del Golfo de Venezuela. Esta zona posee profundidades máximas de 50 metros, con promedios de 20 metros (Zeigler 1964). Se ha mencionado que el Golfo de Venezuela mantiene contacto directo con el Mar Caribe, Golfete de Coro y aguas del Lago de Maracaibo (Ginés *et al.* 1982), lo cual le confiere características fisicoquímicas peculiares.

Recopilación de los datos

Se evaluaron 39 variables divididas en dos grupos: variables de caracterización pesquera ($n = 20$) y variables de aspectos socioeconómicos ($n = 19$). Las mismas fueron recopiladas mediante

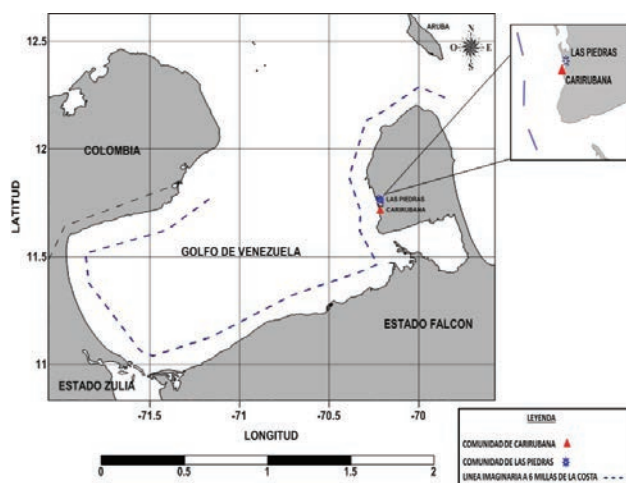


Figura 1. Ubicación geográfica de la comunidad de Carirubana, Falcón y la zona marina del occidente de Venezuela.

encuestas semi-estructuradas realizadas en las zonas de desembarque de la comunidad de Carirubana, durante los meses de octubre y diciembre de 2015. Las encuestas fueron aplicadas al 32 % de los pescadores que laboran en la pesca artesanal de arrastre (INSOPESCA 2015).

Como referencia monetaria se utilizó la moneda nacional Bolívar (Bs.) y su conversión a Dólares Americanos (US \$) como referencia internacional. Se utilizó el tipo de cambio promedio ponderado de referencia, el cual se ubicó en 199 Bs./US \$ entre octubre y diciembre de 2015 (MPPEFBP 2015).

Variables de caracterización pesquera

Se evaluaron las variables: tipo de embarcación, material de construcción, dimensión de la embarcación, unidades de arqueo bruto (UAB), año de construcción, autonomía, tipo de motor, capacidad de combustible, número de tripulantes, arte de pesca, dimensiones del arte de pesca, material de construcción del arte de pesca, duración de la faena, tiempo de calado del arte, número de lances por faena, otro arte de pesca utilizado, zonas de pesca frecuentadas, profundidad de las zonas de pesca, distancia de costa para la ejecución de la faena pesca y horario de pesca (diurna y nocturna).

Variables de caracterización socioeconómica

Se evaluaron las variables: edad, estado civil, lugar de residencia, grado de instrucción, personas dependientes, número de hijos, número de hijos que estudian, tipo de vivienda, tenencia de la vivienda, servicios básicos, organización comunitaria, costos por faena, estructura de costos del hogar, estructura de gastos/mensual del hogar y aspectos relacionados al apego a la actividad de pesca artesanal de arrastre (años en la actividad pesquera; años en la actividad pesquera con uso de la red chica; actividad pesquera anterior y años en la actividad pesquera anterior).

Análisis de los datos

Los datos recopilados fueron depurados y clasificados mediante la aplicación EXCEL 2007 de

Microsoft Office. Luego fueron analizados utilizando estadística descriptiva.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización Pesquera

Para la pesca artesanal de arrastre camaronero, los pescadores de la comunidad de Carirubana del estado Falcón, utilizan peñeros contruidos en madera (87 %), con una eslora promedio de 7,91 metros, oscilando entre 10 y 5 metros. La manga alcanzó un promedio de 2,21 metros y osciló entre 3,20 y 1,50 metros. Por su parte el puntal registró un promedio de 0,94 metros y osciló entre 2,30 y 0,60 metros. Las UAB alcanzaron un promedio de 3,50 y estuvo comprendida entre 7,44 y 1,15. La autonomía de los peñeros quedó determinada en 1 día. En relación a los años de construcción, los resultados indican que el 90 % de la flota tiene al menos 15 años de construcción (2000-2015), el resto supera los 20 años.

Se observó el uso de motores fuera de borda en las embarcaciones; el 88 % utiliza motores de 40 HP de potencia, 2 % de 48 HP y 10 % de 75 HP. La capacidad de combustible utilizada quedó determinada entre 360 y 120 litros, con un promedio general de 242 litros por faena de pesca, la relación gasolina / aceite quedó determinada de la siguiente manera: por cada 60 litros de gasolina utilizaron entre 1 y 1, 5 litros de aceite. Se observó un promedio de 3 personas por tripulación, oscilando entre 2 y 5 tripulantes.

El arte de pesca utilizado es la red de arrastre denominada chica (93 %), mientras que el resto combina esta, con cordeles y chinchorros. El Cuadro 1 muestra las dimensiones de la red de arrastre chica, donde se aprecia que la abertura de malla promedio es 1 pulgada. El material de construcción predominante es el monofilamento (84 %), el resto, es construido con multifilamento (16 %), comúnmente llamado trapo.

La red chica, utilizada por los pescadores que faenan en el Golfo de Venezuela difiere en las características de diseño y operacionales (esfuerzo) de la utilizada en el Golfo de Paria (Marval *et al.* 2010). A estas diferencias hay que

Cuadro 1. Dimensiones de red chica utilizada por la pesquería artesanal de arrastre de camarón del occidente de Venezuela (oct. - dic. 2015).

Variable	media	mínimo	máximo
Abertura de malla (pulgadas)	1	0,50	1,50
Relinga superior (m)	5,93	3,00	10,00
Relinga inferior (m)	5,80	1,00	10,00
Ancho del portalón (m)	0,44	0,30	2,00
Largo del portalón (m)	0,79	0,50	1,00
Largo del copo (m)	5,77	1,00	10,00

agregar la distribución y comportamiento de las especies en las zonas de pesca y la experiencia del pescador, variables que determinan en gran medida la eficiencia de la red chica utilizada en el Occidente de Venezuela.

La duración de la faena de pesca oscilo entre 8 y 13 horas totales, se observó la ejecución de un máximo de 2 arrastres por faena. El 74,3 % de las caladas tiene una duración de 5 horas promedio, y son realizadas de lunes a viernes, en horario nocturno. Se observó el inicio de faena a partir de las 5 de la tarde y finalización a las 6 de la mañana aproximadamente. La distancia de calado promedio de la red se ubicó a 3,37 millas náuticas de la costa, con registros de mínima y máxima de 1,5 y 6 millas de distancia de la costa respectivamente. La profundidad de calado osciló entre 25 brazadas (máximo) y 7 brazadas (mínimo).

La Figura 2 muestra las zonas de pesca utilizadas por esta pesquería de arrastre camaronero; abarca desde la comunidad de Punta Cardón hasta la comunidad de Villa Marina (2 millas aproximadamente). De acuerdo a lo indicado por los entrevistados, las zonas de pesca con mayor intensidad de uso son las adyacentes a las comunidades de Carirubana y Villa Marina (La Macolla).

La pesca de arrastre tiene una percepción negativa por parte de los pescadores artesanales que faenan en el Golfo de Venezuela (Andrade 2005, Pomares *et al* 2010, Díaz 2011, Díaz *et al.* 2013, Díaz *et al.* 2015) ya que históricamente ha existido interferencia por espacios y por la captura

de fauna acompañante. Lo anterior es reforzado por Marval *et al.* (2010), quien menciona que las redes de arrastre artesanal que se utilizan en la costa norte del Golfo de Paria para la pesca comercial del camarón blanco *Litopenaeus schmitti*, capturan un gran número de organismos sin tallas apropiadas para la comercialización, lo que promueve su descarte al mar por carecer de importancia.

El estado Falcón no fue considerado en la normativa que regula la pesca de arrastre artesanal con red de chica publicada en Gaceta Oficial (MPPPA 2016), por no contar con antecedentes

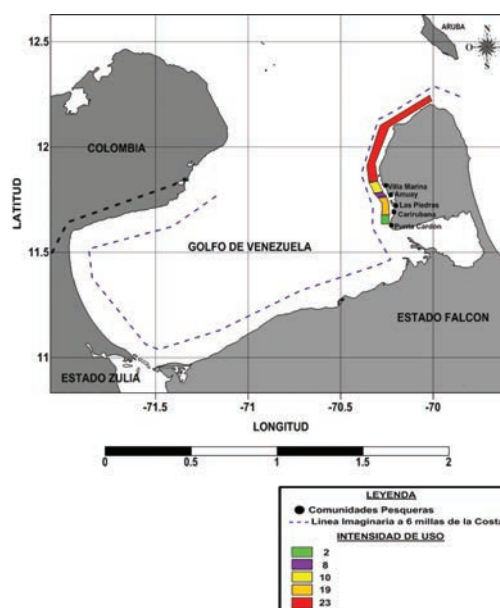


Figura 2. Zonas de faenas de pesca artesanal de arrastre camaronero en el estado Falcón, demarcando la intensidad de uso.

de evaluación biológica, pesquera y económica. De acuerdo a Willmann y García (1986), lo anterior no podría ser una razón para no abordar esta situación problemática, ya que según estos autores, las orientaciones aproximadas pero oportunas, son más valiosas que las orientaciones exactas y precisas pero adoptadas demasiado tarde.

Caracterización Socioeconómica

De acuerdo a los resultados de la encuesta, los pescadores dedicados a la pesca artesanal de arrastre camaronero se encuentran entre los 20 y 74 años, con un mayor número de personas entre los 41 y 50 años de edad (Figura 3). Los pescadores tienen en promedio 21 años dedicados a la pesca, con un valor máximo de 40 años y un valor mínimo de 1 año. En cuanto a los años de experiencia de los pescadores con la actividad de pesca artesanal de arrastre camaronero, se determinó un promedio de 3 años, con un valor máximo de 13 y un valor mínimo de 1 año.

La utilización de la red chica en la zona marina costera de la Península de Paraguaná es de aparición reciente; su uso se inició luego de la eliminación de la pesca industrial de arrastre (Presidencia de la República Bolivariana de Venezuela 2008). Así mismo, la presencia de

grandes poblaciones de 4 especies de camarón (*L. schmitti*, *Farfantepenaeus subtilis*, *F. notialis*, *F. brasiliensis*) en el Golfo de Venezuela (Marcano et al. 2001), su alto valor económico y la escasa vigilancia, podrían estimular la práctica de pesca artesanal de arrastre.

Los entrevistados señalaron que antes de realizar la pesca artesanal de arrastre, se dedicaban a otro tipo de pesca (Figura 4). Adicionalmente, el estudio permitió conocer los años de experiencia adquirida con anterioridad, con otros tipos de pesca (Figura 5).

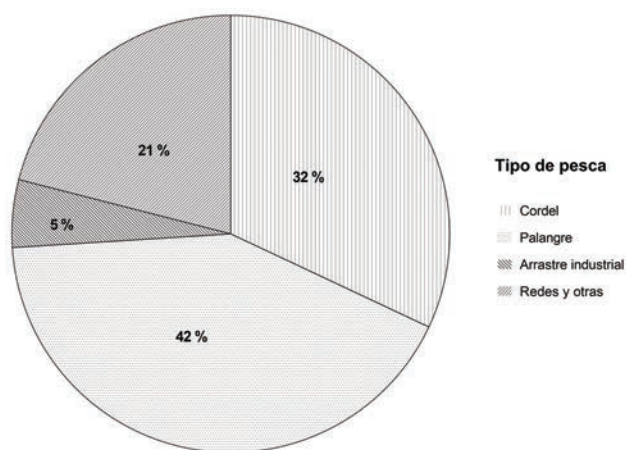


Figura 4. Tipo de pesca realizada antes de practicar la pesca artesanal de arrastre camaronero en el estado Falcón (oct. - dic. 2015).

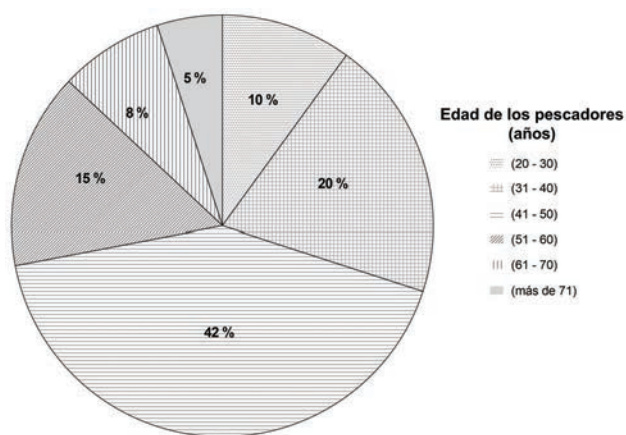


Figura 3. Edad de los pescadores dedicados a la pesquería artesanal de arrastre camaronero en el estado Falcón (oct. - dic. 2015).

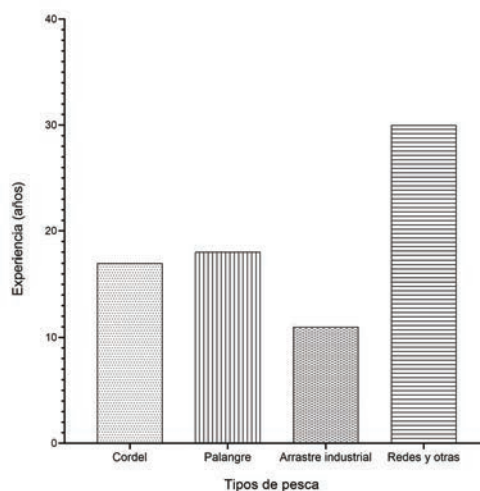


Figura 5. Años de experiencia previa antes de practicar la pesca artesanal de arrastre camaronero en el estado Falcón (oct. - dic. 2015).

El estudio también reveló que el 95 % de los pescadores reside en la comunidad de Carirubana, respecto al estado civil, 54 % manifestó que estaba "casado", el 44 % reportó "soltero" como estado civil y el 1 % de los pescadores se reportó como "divorciado".

En cuanto al grado de instrucción, se observó que el 17,9 % de los encuestados realizó estudios hasta un nivel de instrucción ubicado entre 1º y 6º grado de primaria, el 71,7 % realizó estudios de educación secundaria y solo el 10,2 % realizó algún tipo de estudio de educación superior. Se determinó que el promedio de hijos por entrevistado es 3, con un número máximo de 9 y un número mínimo de 1; el 60 % de los hijos son menores a 18 años.

La evaluación de los aspectos relacionados a la carga familiar, mostró que el 58 % de los entrevistados tienen entre 5 y 7 personas con dependencia directa del encuestado, 25 % de los participantes señaló que poseía una carga familiar entre 1 y 4 personas y el 17 % entre 8 y 10 personas dependientes.

El análisis sobre el tipo de viviendas reveló que el 100 % de los pescadores habitan en residencias tipo casa, con un carácter de tenencia que se describe a continuación: propias (61,9 %), habitan en el hogar de algún familiar (35,7 %), alquiladas (2,3 %). El 100 % de los encuestados afirmaron el uso de servicios básicos públicos. En cuanto a la organización pesquera, el 93 % del total de entrevistados aseguraron su participación en el Consejo de Pescadores y Pescadoras y Acuicultores (CONPPA) José Rojas Chemón, perteneciente a la comunidad de Carirubana. El 7 % restante no tiene ningún tipo de participación.

En relación a la distribución de las ganancias económicas producto de la pesca artesanal de arrastre, se observó lo siguiente: el 59,5 % de las unidades de producción, dividen las ganancias en 5 partes (1) motor, (1) embarcación y (3) marinos), otro 35,7 % divide las ganancias entre 4 partes (3) marinos y (1) propietario). En cuanto a los gastos generados para realizar una faena de pesca, se observó que los mismos varían entre 1.340 Bs. (6,73 \$) a 6.900 Bs. (34,67 \$), con un promedio de 4.497 Bs. (22,60 \$). De estos,

el mayor porcentaje de gastos se registra en la comida, seguido por el combustible y los gastos varios (eje: bujía, batería, entre otros; Figura 6).

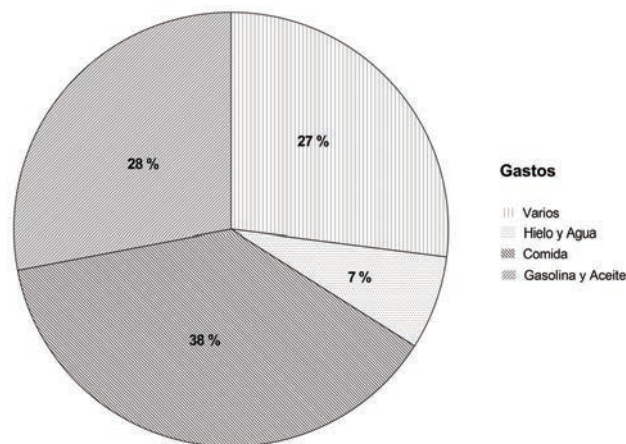


Figura 6. Gastos asociados a las faenas de pesca de la pesquería artesanal de arrastre camaroneero del estado Falcón (oct. - dic. 2015).

Los entrevistados señalaron que el ingreso mensual bruto por tripulante o cada parte de dinero producto de la pesca artesanal de arrastre, oscila entre 5.000 Bs. (25,13 \$) a 160.000 Bs. (804,02 \$) con un promedio de 52.010 Bs. (262,36 \$). Mientras que la estructura de gasto mensual del hogar del pescador es de 39.036 Bs. (196,16 \$) en promedio y oscila entre 5.178 Bs. (26,02 \$) hasta 80.900 Bs. (406,53 \$).

Las ganancias generadas del producto de la pesca artesanal de arrastre, son muy atractivas para los pescadores. Para el año 2015 el ingreso mensual integral para un trabajador en Venezuela correspondía a 16.399 Bs. (82,40 \$), de acuerdo al decreto 2.056 (Presidencia de la República Bolivariana de Venezuela 2015), lo que representaba un valor muy inferior a los ingresos promedios reportados por este estudio. Esta situación permite inferir que en este tipo de pesca, se observará un incremento del número de embarcaciones, lo que ocasionara un aumento de conflictos de interferencia pesquera.

El Cuadro 2 muestra los ingresos y gastos totales por mes, para realizar las faenas de pesca, en

Cuadro 2. Ingresos y gastos mensuales por la pesquería artesanal de arrastre camaronero del estado Falcón (oct. - dic. 2015).

Variable	media	mínimo	máximo
Ingresos mes (Bs./US \$)	349.990 / 1.759	51.800 / 260	938.000 / 4.714
Gastos mes (Bs./ US \$)	89.940 / 452	26.800 / 135	138.000/ 693

una embarcación promedio dedicada a la pesca artesanal de arrastre.

Los resultados de este estudio pueden considerarse como la primera contribución al conocimiento de la pesca artesanal de arrastre de camarón con red chica, en la zona marino costera del Golfo de Venezuela.

Es importante la formulación de medidas de manejo adaptadas, como la restricción de nuevos ingresos de buques a la flota, delimitación del área de operaciones de pesca, establecimiento de horarios y turnos de pesca, definición de las características de los artes de pesca, limitación del número de motores y el número de artes por embarcación, entre otras que permitan ordenar la pesquería en base a criterios precautorios.

Lo anterior debe sustentarse en estudios biológicos y pesqueros de las especies objetivo, la caracterización ecológica de las áreas de pesca y de indicadores socioeconómicos que permitan prever las implicaciones de posibles opciones de manejo. Estos estudios deben incluir la composición por especie, abundancia, relación captura objetivo/captura no objetivo, estructura de talla, grado de madurez sexual, distribución espacio-temporal de la fauna acompañante, selectividad de artes de pesca, pruebas de dispositivos excluidores de fauna acompañante, entre otros.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten inferir que esta pesquería se encuentra en sus primeras etapas de desarrollo, lo que constituye un momento idóneo para su regulación.

Los factores principales que estimulan el uso de la red chica son escasa vigilancia e ingresos atractivos, por ello, de no tomar las medidas en el corto plazo, se promovería el crecimiento de

la flota de modo indiscriminado, más allá de la zona circunscrita a la comunidad de Carirubana. Esta situación altamente probable ocasionará conflictos de interferencia pesquera y generará descartes que pueden poner en riesgo la estabilidad poblacional de especies presentes en el Golfo de Venezuela.

LITERATURA CITADA

- Altuve, DE; Alió, JJ; Marcano, LA. 1995. Preliminary results on the artisanal fishery of penaeid shrimps on the northwestern coast of the Gulf of Paria, Venezuela. FAO Fisheries Report Number 526 (Supl.):179-188.
- Altuve, D. 1997. Aspectos poblacionales y pesqueros del Camarón Blanco, *Penaeus schmitti* (Burkenroad, 1936) (Crustacea: Decapoda), de la pesca artesanal en la costa norte del Golfo de Paria, Sucre, Venezuela. Tesis de maestría. Cumaná, Venezuela, Universidad de Oriente. 138 p.
- Andrade, G. 2005. Análisis bioeconómico de la pesquería secuencial del camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*) y su aplicación para el manejo del recurso en el occidente de Venezuela. Tesis de doctorado. Mérida, México, CINVESTAV. 161 p.
- Díaz, A. 2011. Aspectos ecológico-pesqueros asociados con la pesquería del camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad 1936) en la comunidad de Río Seco, estado Falcón. Tesis de maestría. Maracaibo, Venezuela, Universidad del Zulia. 58 p.
- Díaz, A; Ferrer, O; Álvarez, R; González, L; Méndez, J; Corona, M. 2013. Catch per unit effort-environmental variables relations in the fishery of white shrimp (*Litopenaeus*

- schmitti*) from the Gulf of Venezuela (en línea). Agricultural Sciences 4(6A):83-90. Consultado 10 dic. 2018. Disponible en <https://bit.ly/2LmP4uz>
- Díaz, A; Álvarez, R; Méndez, J; González, L; Chocrón, M; Guanipa, M. 2015. Análisis de la comunidad de peces asociada a la pesca artesanal de camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*), Golfo de Venezuela. Zootecnia Tropical 33(1):7-21.
- Ginés, H; Monente, J; Lozano, A; Breman, E; Voltolin, D; Prinoz, D; González, L; Jiménez, C; Brownell, W; Pastor, G; Gutiérrez, P; Guedez, T; Mago, T. 1982. Carta Pesquera de Venezuela II. Áreas Central y Occidental. Monografía n°. 27. Caracas, Venezuela, Fundación La Salle de Ciencias Naturales. 227 p.
- INSOPESCA (Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura). 2012. La pesca de arrastre artesanal y la problemática de interferencia pesquera. Falcón, Venezuela. MPPPA. 16 p. Documento técnico.
- INSOPESCA (Instituto Socialista de la Pesca y Acuicultura). 2015. Censo pesquero de la comunidad de Carirubana, Municipio Carirubana, Península de Paraguaná, estado Falcón. Falcón, Venezuela. MPPPA. 21 p. Documento técnico.
- Marcano, L; Alió, J; Novoa, D; Altuve, D; Andrade, G; Álvarez, R. 2001. Revisión de la pesca de arrastre en Venezuela. In Tropical shrimp fisheries and their impact on living resources. Roma, Italia, FAO. 378 p. (FAO Fisheries Circular n°. 974).
- Marval, A; Quilarte, E; Altuve, D; Vizcaino, G; Gil, H; Maza, J. 2010. Índices ecológicos de especies ícticas capturada por la pesca artesanal de arrastre camaronera en el Golfo de Paria. In Conference of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute (62, 2010, Cumana, Venezuela). Proceedings. Cumana, Venezuela, GCFI. p. 121.
- Presidencia de la República Bolivariana de Venezuela. 2015. Decreto n° 2056, establecimiento del salario mínimo mensual en el territorio de la República Bolivariana de Venezuela. Gaceta Oficial n° 40.769 de la República Bolivariana de Venezuela. 19 oct.
- MPPEFBP (Ministerio del Poder Popular de economía, finanzas y banca pública). 2015. Convenio cambiario n° 33, Normas para las operaciones de divisas en el sistema financiero nacional. Gaceta oficial extraordinaria n° 6.171 de la República Bolivariana de Venezuela. 10 feb.
- Presidencia de la República Bolivariana de Venezuela. 2008. Decreto 5.930, con Rango, Valor y Fuerza de Ley de Pesca y Acuicultura. Gaceta oficial extraordinaria n° 5.877 de la República Bolivariana de Venezuela. 14 mar.
- MPPPA (Ministerio del Poder Popular de Pesca y Acuicultura). 2016. Providencia administrativa n. 013-2016, Normas técnicas de ordenamiento para regular la pesca artesanal de arrastre camaronero con el arte denominado "RED CHICA" en la República Bolivariana de Venezuela. Gaceta Oficial 40.933 de la República Bolivariana de Venezuela. 28 jun.
- Pomares, O; González, L; Álvarez, R; Barreto, T; Smith, J; García, A. 2010. ¿Por qué la pesquería de arrastre se hizo insostenible en Venezuela? Estudio de caso: Pesquería de arrastre del Golfo de Venezuela (1956 - 2008). In Conference of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute (62, 2010, Cumana, Venezuela). Proceedings. Cumana, Venezuela, GCFI. p. 106.
- Willmann, R; García, S. 1986. Modelo bioeconómico para el análisis de pesquerías secuenciales artesanales e industriales de camarón tropical. Roma, Italia, FAO. 47 p. (Documento Técnico de Pesca, n°. 270).
- Zeigler, J. 1964. The hidrography and sediments of the Gulf of Venezuela. Limnology and Oceanography 9(3):397-411.

INSTRUCCIONES AL AUTOR

REVISTAS CIENTÍFICAS DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

Las revistas científicas del INIA, *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical*, se fundaron con el propósito de fomentar y mantener el intercambio de información entre los investigadores. Se divulgan resultados de la investigación e innovación en el campo de las ciencias agrícolas animales y vegetales, tanto por el INIA como por otras instituciones, nacionales e internacionales.

Agronomía Tropical inicia su publicación en el año 1951, mientras que *Zootecnia Tropical*, está vigente desde el año 1983. Ambas publican trabajos originales que presentan nuevos conceptos o tecnologías en el área agrícola.

Agronomía Tropical aborda las áreas temáticas: recursos fitogenéticos, protección vegetal, economía agrícola, edafología, biotecnología agrícola vegetal, tecnología de alimentos, ingeniería agrícola y sistemas de producción agrícola vegetal.

Zootecnia Tropical se enfoca en las áreas de producción, salud, genética y reproducción animal de especies de interés zootécnico, tecnología de alimentos de origen animal, pastos, forrajes, acuicultura marítima y continental, entre otros temas de interés.

TIPO DE CONTRIBUCIONES

Las revistas *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical* publican cuatro categorías de contribuciones: artículos científicos, notas técnicas, artículo de revisión y trabajos especiales. Los artículos científicos y notas técnicas pueden tener un enfoque cuantitativo o cualitativo.

Artículo científico. Documento no mayor a 25 páginas, donde se presentan resultados originales e inéditos. También serán aceptados datos o resultados presentados en resúmenes de congresos o seminarios, a condición de que el artículo completo no aparezca en las memorias del mismo.

Nota técnica. Documento de corta extensión con un máximo de 10 páginas, que describe técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, especies nuevas o resultados parciales de un trabajo de interés. El texto tendrá las mismas secciones del artículo científico.

Artículo de revisión y trabajo especial. Documento que presenta reportes y estadísticas de un área temática actualizada de interés colectivo, de orden científico-técnico, con relevancia nacional o internacional en el cual el autor presenta un análisis crítico sobre un tema prioritario o emergente. Este será solicitado por el Comité Editorial a especialistas de trayectoria profesional y experiencia demostrada. Será sometido a las normas de revisión para un artículo científico y su extensión no debe ser mayor a 25 páginas, incluyendo cuadros y figuras.

REMISIÓN DE ARTÍCULOS

La revista *Zootecnia Tropical* recibirá las contribuciones de los autores a través de los formularios presentados en el portal OJS de la revista. Las contribuciones podrán ser presentadas en español, inglés o portugués, acompañadas de una Carta de Originalidad, firmada por todos los autores.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Autoría. Se incluirán como autores a las personas que hayan realizado contribuciones en la formulación del ensayo, diseño experimental, obtención de data cruda, aplicación del método estadístico, análisis de datos, interpretación de resultados, así como redacción del manuscrito o investigación bibliográfica.

Originalidad. Los trabajos sometidos para arbitraje y probable publicación deben ser inéditos, por lo tanto, se presentará una carta de fe donde el (los) autor(es) manifiestan que el mismo no ha sido enviado a otra(s) revista(s).

Integridad. La alteración de resultados y el plagio (alusión de resultados de otros investigadores sin dar crédito con la cita bibliográfica correspondiente) se considera inadmisibles y no ético.

Conflicto de intereses. Los autores presentarán por escrito, no mantener vínculos de interés comercial o personal en la investigación que dio origen al manuscrito sometido.

PROCESO EDITORIAL

Los trabajos recibidos serán evaluados inicialmente por el Comité Editorial, aquellos trabajos que superen la evaluación preliminar serán arbitrados por tres especialistas en el área de conocimiento, mediante el método de "doble ciego". Una vez que el autor reciba las observaciones de los evaluadores, tiene un plazo de 30 días para incorporar las modificaciones sugeridas en el texto y remitir la versión corregida a la revista.

Transcurridos 30 días sin recibir respuesta de los autores, el Comité Editorial retirará el trabajo. Es importante destacar que el arbitraje es una orientación para aceptar o rechazar el documento y el Comité Editorial se reserva el derecho de seleccionar los artículos que cumplan con los criterios de calidad y pertinencia establecidos por la revista.

El Comité Editorial tiene la potestad de ajustar el artículo para mantener la uniformidad de estilo de la revista, después de la edición y corrección de estilo, los autores recibirán la prueba de galera, la cual debe ser cuidadosamente revisada y devuelta al editor en un término máximo de una semana. Los trabajos que no superen la evaluación preliminar o el proceso de arbitraje serán devueltos a los autores, con notificación de no publicable en la revista. Las apelaciones deben presentarse ante el Editor Jefe, quien revisará la apelación conjuntamente con el Comité Editorial y emitirá un dictamen en un plazo de dos semanas.

FORMATO.

Los borradores deben ser escritos utilizando los procesadores de textos, como Libre Office Writer o Microsoft Office Word®. Las páginas serán numeradas consecutivamente en el lado inferior derecho, al igual que cada línea del texto, con inicio desde el título; fuente Arial tamaño 12; interlineado 1,5; márgenes a 2,5 cm por los cuatro lados.

En relación con los encabezamientos, el título de la contribución es el único de primer orden, se escribirá centrado en negrilla con la primera letra en mayúscula. Los títulos principales de sección (segundo orden): Resumen, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Agradecimientos y Literatura citada, se indicarán centrados en negrilla y mayúsculas. El título de tercer orden, alineado a la izquierda, en negrilla y sólo la letra inicial en mayúscula; el texto continuará debajo del título. El título de cuarto orden, alineado a la izquierda, en negrilla seguido de un punto y sólo la letra inicial en mayúscula, el texto continuará en la misma línea.

Los cuadros se presentarán en el mismo archivo del texto, acompañados del respectivo título, ubicado en la parte superior, el cual debe ser concreto y expresar el contenido del mismo, en letra Arial tamaño 11; identificados progresivamente con números arábigos, con orden de aparición inmediatamente después del párrafo donde se menciona por primera vez. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. El encabezado de las columnas debe ser conciso e indicar claramente las unidades en que se expresa el contenido. El significado de las abreviaturas utilizadas se desarrollará como pie de cuadro. Cuando se presenten resultados numéricos, deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Los cuadros serán elaborados utilizando aplicaciones tales como Libre Office

Writer, Microsoft Office Word®, Libre Office Calc o Microsoft Office Excel®; y no ser presentados en forma de imagen escaneada.

Las figuras se refieren a cualquier ilustración que se incluya en el trabajo como: gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas u otras representaciones, indicadas consecutivamente en el texto. El título se debe colocar en la parte inferior, en letra Arial tamaño 11. Las fotografías se deben presentar en formato JPEG, y los gráficos, mapas, dibujos otras representaciones se presentarán en formato PNG. Además de los cuadros y figuras insertados en el texto, deben enviarse los archivos originales en el formato en el que fueron elaborados. Todos los cuadros y figuras deben estar indicados en el texto. La resolución mínima para todas las figuras es 300 ppp.

Título. Se presentará en español, inglés o portugués, con su respectiva traducción, cónsono con el idioma del manuscrito. Identifica y describe el contenido del trabajo, sin abreviaturas, con un máximo de 20 palabras. Los nombres científicos se incluirán solo para especies poco comunes o cuando sea indispensable.

Autor(es) y afiliación (es). Nombres y apellidos completos en minúsculas a excepción de las iniciales. Cuando los autores publican con dos apellidos, deben estar separados con un espacio, salvo aquellos apellidos extranjeros o que por tradición utilicen el guion. Se acompañarán con números en superíndices para identificar la institución a la que pertenece(n) el(los) autor(es) y correos electrónicos. Se incluirá el nombre completo de la institución y sus siglas entre paréntesis, ciudad y país. El autor de correspondencia se identificará con un asterisco.

Resumen, Abstract o Resúmen. Párrafo entre 200 y 250 palabras, claro y comprensible. Los estudios con enfoque cuantitativo deben indicar brevemente: problema y justificación, objetivo(s), métodos experimentales, resultados y conclusiones, sin exceder el uso de valores numéricos. Para estudios con enfoque cualitativo se deben indicar: objeto de estudio, propósito, metodología, resultados y aproximaciones. El idioma del resumen será como se indica a continuación:

Idioma del trabajo	Idioma del resumen
Español	Español e Inglés
Inglés	Inglés y Español
Portugués	Portugués, Inglés y Español

Palabras clave. Se recomiendan términos simples o compuestos (máximo seis), que permitan identificar el contenido del artículo y que no hayan sido usados en el título. Para seleccionar las palabras clave se sugiere consultar y usar los descriptores del tesoro multilingüe de agricultura (AGROVOC), creado por la FAO u otro similar. Se deben incluir los nombres científicos de los organismos biológicos como palabras clave. Disponible en: <http://aims.fao.org/es/agrovoc>

Introducción. Constituye una breve referencia de los antecedentes que motivaron la realización de trabajo; igualmente pueden incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del trabajo. También incluirá el objetivo del mismo.

Materiales y Métodos o Metodología. Esta sección debe ser clara y precisa, de manera suficiente para permitir la repetitividad del ensayo. Para estudios con enfoque cuantitativo, seguir un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos utilizados tienen que ser citados como referencias bibliográficas, describiendo solo las modificaciones o lo novedoso. Las investigaciones de campo deberán incluir una breve descripción agroclimática de la localidad donde se efectuó el trabajo. Cuando las contribuciones tengan un enfoque cualitativo se debe indicar el marco teórico que describe brevemente conceptos y modelos

que orientaron la investigación; así como métodos, técnicas y procedimientos de acopio de la información, al igual que de procesamiento y validación de datos.

Resultados y discusión o Resultados y hallazgos. El contenido debe ser coherente con los objetivos señalados en la introducción. Es necesario detallar los resultados en orden lógico y de forma objetiva y secuencial. La información cuantitativa se podrá presentar en cuadros y figuras. La literatura citada no debe exceder de tres autores por idea a discutir.

Conclusiones o Aproximaciones. Deben responder al problema de la contribución. Indicar, de manera breve y precisa, los hallazgos más relevantes de la investigación, es decir, aquellos que constituyan un aporte significativo para el avance del campo temático explorado, además de brindar orientación para futuras investigaciones. Las conclusiones o aproximaciones no deben ser ambiguas, ni basarse en suposiciones.

Agradecimientos. Se incluirán los reconocimientos a aquellas personas que hayan realizado contribuciones sustanciales al trabajo, como: técnicos, productores, comunidades y revisores, entre otros. Igualmente, para reconocer a las instituciones que financiaron la investigación parcial o totalmente. El párrafo de esta sección debe ser breve, hasta un máximo de 10 líneas.

Literatura citada. Debe ser actualizada, con excepción de trabajos clásicos que se requiera incluir. Se debe ajustar al documento "Redacción de referencias bibliográficas: normas técnicas para ciencias agroalimentarias/IICA, CATIE" (2016). 5a ed. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/6570/1/BVE18029707e.pdf>

A continuación, se presentan algunos ejemplos de las referencias más utilizadas:

Artículo en revista científica

Nery, FC; Paiva, R; Silva, DPC; Campos, ACAL; Chalfun-Júnior, A; Campos, JMS. 2011b. Nuclear DNA integrity of cryopreserved embryonic axes of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Acta Horticulturae* 908:139-142.

Artículo de una revista digital

Fajardo, L; Lovera, M; Arrindell, P; Aguilar, VH; Hasmy, Z; Cuenca, G. 2015. Morphotype-based characterization of arbuscular mycorrhizal fungal communities in a restored tropical dry forest, Margarita island-Venezuela (en línea). *Revista de Biología Tropical* 63(3):859-870. Consultado 24 jul. 2015. Disponible en <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/15940/20146>.

Libros

Balzarini, M; Di Rienzo, JA; Tablada, M; González, L; Bruno, C; Córdoba, M; Robledo, W; Casanoves, F. 2011. Introducción a la bioestadística: aplicaciones con InfoStat en agronomía. Córdoba, Argentina, Brujas. 383 p.

Capítulo de libro de un autor en su propia obra

Toledo, JM; Schultze-Kraft, R. 1985. Metodología para la Evaluación Agronómica de Pastos Tropicales. In *Manual para la Evaluación Agronómica*. Cali, Colombia, RIEPT- CIAT. p. 91-110.

Capítulo de libro cuyo autor no es el editor del documento

Panta, A; Zea, B; Sánchez, D; Tay, D; Roca, W. 2013. Crioconservación de recursos genéticos de tubérculos y raíces andinos en el Perú. In *González-Arnan, MT; Engelmann, F (eds.). Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe*. San José, Costa Rica, IICA. p. 175-196.

Para ampliar la información le recordamos consultar las normas de redacción de referencias bibliográficas del IICA-CATIE, 5ª edición.

CONSIDERACIONES DE ESTILO

- La redacción del manuscrito será en voz activa y se debe utilizar la forma impersonal o tercera persona del singular.
- Restringir el uso del gerundio, utilice esta forma verbal únicamente para demostrar dos acciones que se realizan a la vez.
- Las palabras cuadro y figura se escriben, en el texto, con la primera letra en mayúscula.
- Las siglas deben ser escritas en mayúscula y entre paréntesis en su primera aparición en el texto y antecedidas por el término completo al que se refiere, a excepción de las unidades de medida.
- Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, abstract o cuerpo del artículo. Esto siempre y cuando no le anteceda la palabra variedad o cultivar, en cuyo caso no se utilizarán.
- Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es conocido, deberá señalarse la familia.
- Los nombres de productos comerciales deben evitarse, utilizándose el nombre genérico o principio activo. En caso de ser estrictamente necesario, su uso debe acompañarse por el símbolo®.
- Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de estos, y solo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios (Celsius, Kelvin, Joule, entre otros). Las siglas tampoco tienen plural, esto se mostrará con las palabras acompañantes, ejemplo: los SNP.
- Los decimales se deben separar con coma (,) y las unidades de mil o millón se expresarán con punto (.).

Nomenclatura. Se recomienda el uso del Sistema Métrico Decimal (SI) para la expresión de las unidades. Para los trabajos, los autores utilizarán las convenciones del International Code of Botanical Nomenclature, el International Code of Nomenclature of Bacteria, y el International Code of Zoological Nomenclature. Para la nomenclatura química se utilizará la International Union of Pure and Applied Chemistry, así como la Commission on Biochemical Nomenclature.

Para la nomenclatura de genes y proteínas, se recomienda utilizar los símbolos internacionalmente aceptados; los símbolos específicos pueden ser obtenidos en la base de datos de genes de Pubmed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Las normas de nomenclatura para ganado y otras especies están disponibles en <http://www.genenames.org>, mientras que para ratones y ratas están disponibles en <http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>.

En cuanto a los polimorfismos nucleotídicos simples (SNP), deben ser identificados con su número de referencia único (rs) o el número de presentación (ss), como se indica en la base de datos pública dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

En referencia a la nomenclatura de las mutaciones y otras variaciones en la secuencia de ADN, favor visitar www.hgvs.org/ página oficial de la Genome Variation Society (HGVS).

A continuación, se presenta una lista de abreviaturas y símbolos para la expresión de términos y unidades de medida de uso común:

Término	Símbolo	Término	Símbolo
Metros sobre el nivel del mar	m.s.n.m.	Población total	N
Índice de conversión	IC	Probabilidad	P
Peso al nacer	PN	Coeficiente de variación	CV
Peso al destete	PD	Coeficiente de correlación	r
Bloques multinutricionales	BM	Coeficiente de determinación	R ²
Consumo de materia seca	CMS	Desviación estándar	DE
Energía digestible	ED	Error experimental	EE
Energía metabolizable	EM	Grados de libertad	GL
Fibra ácido detergente	FAD	Heredabilidad	h ²
Fibra de detergente neutra	FDN	Materia Orgánica	MO
Ganancia diaria de peso	GDP	Materia Seca	MS
Aminoácido	aa	Nitrógeno no proteico	NNP
Ad libitum	Ad lib	Proteína Cruda	PC
Ácido Graso Volátil	AGV	Cantidad de sustancia	mol
Partes por millón	ppm		

Unidad	Símbolo	Unidad	Símbolo
Gramo	g	Hora	h
Kilogramo	kg	Minuto	min
Gramos por kilogramo	g.kg ⁻¹	Segundo	s
Miligramos	mg	Porcentaje	%
Kilocalorías	kcal	Por mil	‰
Kilogramo por hectárea	kg.ha ⁻¹	Hectárea	ha
Kilómetro	km	Tonelada	t
Litro	L	Tonelada por hectárea	t.ha ⁻¹
Gramos por litro	g.L ⁻¹	Grados Celsius	°C
Mililitros	mL	Grados Fahrenheit	°F
Mililitros por litro	mL.L ⁻¹	Grados Kelvin	°K
Metro	m	Joule	J
Metro cuadrado	m ²	Milímetro	mm
Metro cúbico	m ³	Micrometro	µm
Decímetro	dm	Miliequivalente	meq
Centímetro	cm	Caloría	cal