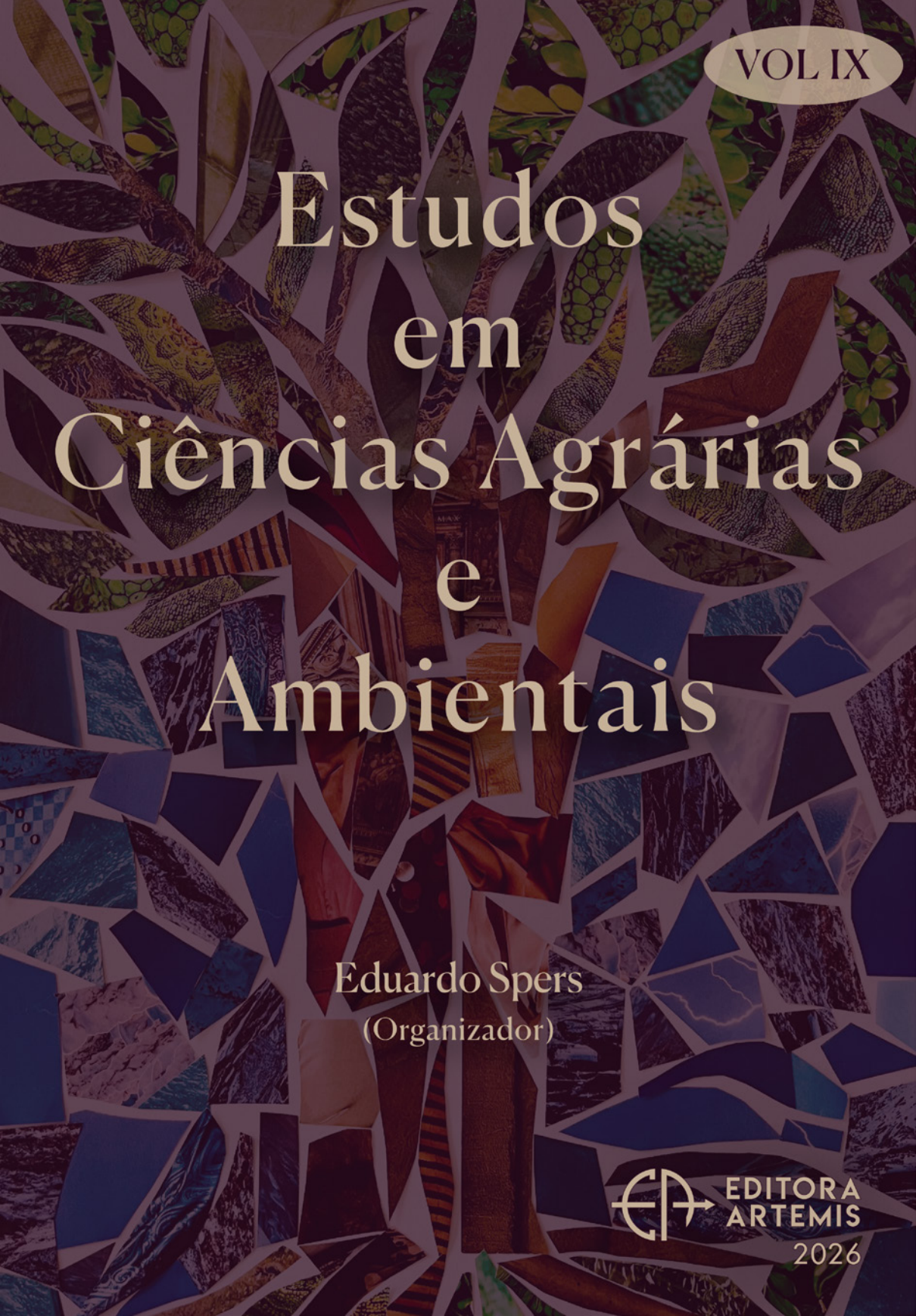




VOL IX

Estudos em Ciências Agrárias e Ambientais

Eduardo Spers
(Organizador)



EDITORA
ARTEMIS

2026

VOL IX

Estudos em Ciências Agrárias e Ambientais

Eduardo Spers
(Organizador)



EDITORA
ARTEMIS

2026



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores.

Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, **conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.**

Editora Chefe	Prof. ^a Dr. ^a Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Executiva	M. ^a Viviane Carvalho Mocellin
Direção de Arte	M. ^a Bruna Bejarano
Diagramação	Elisangela Abreu
Organizador	Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers
Imagem da Capa	Bruna Bejarano, Arquivo Pessoal
Bibliotecário	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.^a Dr.^a Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof. Dr. Agustín Olmos Cruz, *Universidad Autónoma del Estado de México*, México
Prof.^a Dr.^a Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano*, Peru
Prof.^a Dr.^a Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
Prof.^a Dr.^a Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof.^a Dr.^a Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^a Dr.^a Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato*, México
Prof.^a Dr.^a Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF, Brasil
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
Dr. Cristo Ernesto Yáñez León – New Jersey Institute of Technology, Newark, NJ, Estados Unidos
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid*, Espanha



Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão, Brasil

Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará, Brasil

Prof.^a Dr.^a Edith Luévano-Hipólito, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México

Prof.^a Dr.^a Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo (USP), Brasil

Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil

Prof.^a Dr.^a Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México

Prof.^a Dr.^a Emilias Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste*, Argentina

Prof.^a Dr.^a Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca*, Espanha

Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República*, Uruguay

Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara*, México

Prof. Dr. Fernando Hitt, *Université du Québec à Montréal*, Canadá

Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona*, Espanha

Prof.^a Dr.^a Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal

Prof.^a Dr.^a Galina Gumovskaya – Higher School of Economics, Moscow, Russia

Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil

Prof.^a Dr.^a Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis*, Argentina

Prof.^a Dr.^a Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina

Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal

Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina

Prof. Dr. Guillermo Julián González-Pérez, *Universidad de Guadalajara*, México

Prof. Dr. Håkan Karlsson, *University of Gothenburg*, Suécia

Prof.^a Dr.^a Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil

Prof.^a Dr.^a Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura*, Peru

Prof.^a Dr.^a Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina

Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío*, Chile

Prof.^a Dr.^a Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil

Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College*, Estados Unidos

Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha*, Espanha

Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal

Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil

Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, *Universidad Nacional Autónoma de México*, México

Prof. Dr. José Cortez Godínez, Universidad Autónoma de Baja California, México

Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Díaz, Instituto Politécnico Nacional, México

Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid*, Espanha

Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín*, Colômbia

Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, México

Prof. Dr. Juan Porras Pulido, *Universidad Nacional Autónoma de México*, México

Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil



Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil

Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil

Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil

Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, *Universidad Nacional Autónoma de México*, México

Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha

Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha

Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodriguez, *Universidad Santiago de Compostela*, Espanha

Prof. Dr. Manuel Simões, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Portugal

Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil

Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil

Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada*, Espanha

Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

Prof.ª Dr.ª María Alejandra Arecco, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina

Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I*, Espanha

Prof.ª Dr.ª Maria da Luz Vale Dias – Universidade de Coimbra, Portugal

Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil

Prof.ª Dr.ª MªGraça Pereira, Universidade do Minho, Portugal

Prof.ª Dr.ª Maria Gracinda Carvalho Teixeira, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

Prof.ª Dr.ª María Guadalupe Vega-López, *Universidad de Guadalajara*, México

Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal

Prof.ª Dr.ª Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba

Prof.ª Dr.ª Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil

Prof. Dr. Melchor Gómez Pérez, Universidad del Pais Vasco, Espanha

Prof.ª Dr.ª Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México

Prof.ª Dr.ª Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil

Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru

Prof.ª Dr.ª Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil

Prof.ª Dr.ª Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil

Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil

Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil

Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil

Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil

Prof.ª Dr.ª Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina

Prof.ª Dr.ª Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil

Prof.ª Dr.ª Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University*, Russia

Prof.ª Dr.ª Susana Álvarez Otero – Universidad de Oviedo, Espanha

Prof.ª Dr.ª Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal

Prof.ª Dr.ª Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal

Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil

Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil

Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia

Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León*, Espanha

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

E82 Estudos em Ciências Agrárias e Ambientais IX [livro eletrônico] / Organizador Eduardo Eugênio Spers. – 1. ed. – Curitiba, PR: Editora Artemis, 2026.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Edição bilíngue.

Inclui bibliografia.

ISBN 978-65-82858-34-5

DOI 10.37572/EdArt_250926345

1. Ciências agrárias. 2. Ciências ambientais. 3. Agricultura
– Pesquisa. I. Spers, Eduardo Eugênio.

CDD 630

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



PRÓLOGO

A produção agropecuária contemporânea depende de uma compreensão cada vez mais precisa das relações entre organismos, ambiente, manejo, nutrição e tecnologia. O desenvolvimento de sistemas produtivos mais eficientes exige não apenas aumentar rendimentos, mas compreender os mecanismos fisiológicos que condicionam a adaptação das plantas, aprofundar o conhecimento sobre os fatores relacionados à ocorrência de pragas e doenças, aprimorar a nutrição animal e incorporar práticas capazes de favorecer o bem-estar, a reprodução e a saúde dos animais.

O nono volume de ***Estudos em Ciências Agrárias e Ambientais*** reúne quatorze capítulos organizados em três eixos temáticos: **Produção vegetal, fisiologia e adaptação; Sanidade vegetal e manejo de pragas e doenças; e Produção, nutrição, bem-estar e saúde animal**. Essa organização acompanha diferentes dimensões da produção agropecuária, partindo das respostas fisiológicas e produtivas das plantas, passando pelos fatores que afetam sua sanidade e chegando aos processos relacionados à produção animal.

O primeiro eixo reúne investigações sobre produção vegetal, adaptação e respostas fisiológicas diante de diferentes condições de cultivo e fatores ambientais. A interação entre genótipos de milho e ambientes de produção evidencia a importância de compreender a estabilidade e a adaptabilidade dos materiais vegetais diante de diferentes condições de semeadura e disponibilidade hídrica. Outros estudos analisam os efeitos do estresse salino em oliveiras, as respostas fisiológicas de *Zinnia elegans* cultivada em sistema hidropônico e as alterações fenotípicas e fitoquímicas de *Agave salmiana* submetido ao estresse por zinco. O eixo contempla ainda a aplicação da técnica in vitro de duplo-haploide como estratégia para acelerar a obtenção de linhagens homozigóticas e apoiar o melhoramento de plantas cultivadas. Em conjunto, esses estudos evidenciam como fatores ambientais, nutricionais, fisiológicos e biotecnológicos podem contribuir para a compreensão e o aprimoramento da produção vegetal.

O segundo eixo concentra-se na sanidade vegetal e no manejo de pragas e doenças. O controle microbiológico da broca-do-café por meio de *Beauveria bassiana* exemplifica a aplicação de agentes biológicos no manejo fitossanitário. O estudo epidemiológico do manchado de cálice de jamaica investiga as relações entre patógenos, condições climáticas e severidade da doença, enquanto a análise da abundância de *Oebalus spp.* em cultivos de arroz relaciona dinâmica populacional, temperatura e monitoramento como suporte ao manejo integrado de pragas. Esses trabalhos evidenciam a importância de conhecer tanto os agentes causadores de danos quanto as condições ambientais que favorecem sua ocorrência.

O terceiro eixo amplia o olhar para a produção animal, reunindo estudos sobre nutrição, metabolismo, desempenho produtivo, bem-estar, reprodução e saúde. As pesquisas sobre absorção e retenção de fósforo em ovinos e sobre a utilização de fontes gluconeogênicas diante do estresse térmico abordam processos metabólicos associados à eficiência nutricional e à adaptação dos animais. A utilização de cúrcuma na alimentação de cuyes é investigada como alternativa para melhorar o desempenho produtivo, enquanto o estudo realizado com galinhas poedeiras compara sistemas de criação a partir de indicadores de bem-estar animal.

O eixo também incorpora abordagens relacionadas à biotecnologia reprodutiva e à medicina veterinária. A avaliação de um diluidor quimicamente definido, originalmente desenvolvido para sêmen equino, na conservação refrigerada de sêmen caprino evidencia o potencial das tecnologias reprodutivas para o aprimoramento dos programas de inseminação artificial e a conservação de recursos zoogenéticos. Já o estudo clínico e *post mortem* de *Coendou rufescens* amplia o escopo do volume ao campo da medicina de fauna silvestre, demonstrando a relevância do diagnóstico clínico e anatomopatológico também para espécies não domésticas.

Os capítulos que compõem este volume evidenciam a diversidade de fatores biológicos, ambientais e tecnológicos que interferem na produção vegetal e animal. Ao reunir pesquisas experimentais, revisões e estudos aplicados provenientes de diferentes contextos, Estudos em Ciências Agrárias e Ambientais IX oferece um panorama de diferentes frentes de investigação, desde as respostas fisiológicas das plantas e os desafios fitossanitários até a nutrição, o bem-estar, a reprodução e a saúde animal. Essa diversidade reafirma a importância da produção científica para a compreensão dos processos que sustentam os sistemas agropecuários e para o aprimoramento contínuo das práticas de produção, manejo e conservação.

Boa leitura!

Eduardo Eugênio Spers

SUMÁRIO

PRODUÇÃO VEGETAL, FISIOLOGIA E ADAPTAÇÃO

CAPÍTULO 1..... 1

INTERACCIÓN GENOTIPO - AMBIENTE EN MAÍZ EN EL VALLE DE TOLUCA, MÉXICO

Micaela de la O Olán
Alfredo Josué Gámez Vázquez
Miguel Angel Avila Perches
Francisco Paúl Gámez Vázquez
Mirna Hernández Pérez
Mirna Bobadilla-Meléndez
Juan Francisco Buenrostro Rodríguez
Rocio Edelmira Hernández Caldera



https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263451

CAPÍTULO 2..... 16

FOLIAR BEHAVIOR OF OLIVE TREES (*Olea europaea* L.) GRAFTED AND CUT UNDER THE EFFECT OF SALT STRESS

Dhia Gharabi
Maghni Benchohra
Muhammad Arif
Salih Karabörklüb
Teggar Naima
Naceur Benamor
Samira Kacha
Laidia Zerkaoui
Mohamed Abdelhaq Abbes
Boulénouar Houari
Malika Zoubeidi
Imane Derouiche



https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263452

CAPÍTULO 3..... 33

COMPONENTES FISIOLÓGICOS DE ZINNIA (*Zinnia elegans* L.) EN HIDROPONÍA BAJO EL MÉTODO KRATKY

Edgar Javier Morales Morales
Itzel Guadalupe Núñez Andrade

Gabriela Berenice Vilchis Granados

Edgar Jesús Morales Rosales

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263453

CAPÍTULO 4..... 43

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ESTRÉS POR ZINC EN EL PERFIL FENOTÍPICO Y FITOQUÍMICO DE AGAVE SALMIANA CULTIVADO EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL

Jorge Quiroz Casanova

Ian Abigail Estrada Castilla

Ivanna Guillen Barraza

Karla Lizbeth Chávez Rivera

César Armando Puente Garza

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263454

CAPÍTULO 5..... 56

MEJORANDO LAS PLANTAS CON LA TÉCNICA IN VITRO DE DOBLE HAPLOIDE (DH)

Lisi Cerna-Rebaza

Eswin Hernandez-Obregón

Luis Gonzales-Llontop

Luis Llenque-Díaz

Julio Chico Ruiz

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263455

SANIDADE VEGETAL E MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS

CAPÍTULO 6..... 85

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA BROCA DE CAFÉ (*Hypothenemus hampei* (FERRARI) CON *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN

Antonio Gutiérrez-Martínez

Diana Jaren Cruz González

Jesús Antonio Gutiérrez Utrilla

Ramiro Eleazar Ruiz Nájera

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263456

CAPÍTULO 7..... 105

EPIDEMIOLOGÍA DEL MANCHADO DE CÁLIZ DE JAMAICA EN GUERRERO

David Heriberto Noriega Cantú

Roció Toledo Aguilar

José Luis Arispe Vázquez

Romualdo Vásquez Ortiz

Régulo Jiménez Guillen

Rafael Ariza Flores

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263457

CAPÍTULO 8..... 114

ESTIMACIÓN DE LA ABUNDANCIA DE *Oebalus* spp. (Hemiptera: Pentatomidae) EN CULTIVOS COMERCIALES DE ARROZ DEL LITORAL ECUATORIANO

María Esmeralda Cuzco Cruz

William Eribert Vasquez Ledesma

Luis Damiani Sánchez Campoverde

Eulices Orlando Mendoza Carriel

María Leticia Vivas Vivas

Amalia Marisol Vera Oyague

Nicolás Alberto Vasconcellos Fernández

Fabian Alberto Gordillo Manssur

María Gabriela Delgado Macías

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263458

PRODUÇÃO, NUTRIÇÃO, BEM-ESTAR E SAÚDE ANIMAL

CAPÍTULO 9..... 131

ABSORCIÓN Y RETENCIÓN DE FÓSFORO EN CORDEROS SUPLEMENTADOS CON FÓSFORO Y COLECALCIFEROL

Ignacio Mejía Haro

Dennis R. Brink

Iván Mejía Devora

 https://doi.org/10.37572/EdArt_2509263459

CAPÍTULO 10.....143

FUENTES GLUCONEOGENICAS PARA CONTRARRESTAR LOS EFECTOS DEL ESTRÉS TÉRMICO EN EL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO EN OVINOS DE PELO

Cinthia Daniela Noriega-Espinoza

Jehieli Hanani Montes-Hernández

Emma Victoria Sánchez-Rivera

Jesús David Urías-Estrada

Elizama Ponce-Barraza

Ana Mireya Romo-Valdez

Jesús José Portillo-Loera

Javier Alonso Romo-Rubio

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25092634510

CAPÍTULO 11.....158

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE CÚRCUMA (*Curcuma longa*) EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO DE CUYES (*Cavia porcellus*)

Verónica de los Ángeles Bónifaz Ramos

Ketty Beatriz Murillo Cano

John Javier Arellano Gómez

Yesenia Ivonne Malta García

Silvia Verónica Tinoco Cabrera

María José Salinas Hinojosa

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25092634511

CAPÍTULO 12174

BIENESTAR ANIMAL EN GALLINAS PONEDORAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN PISO Y PASTOREO EN EL MAGDALENA MEDIO SANTANDEREANO

Yazmin Andrea Calvo Rodríguez

Darwin Antonio García Rojas

Elkin Orlando Romero Cárdenas

Neidy Canchila Roa

Ricci Terraza Martínez

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25092634512

CAPÍTULO 13.....187

EVALUATION OF A CHEMICALLY DEFINED EQUINE SEMEN EXTENDER FOR
PROLONGED REFRIGERATED PRESERVATION OF BUCK SEMEN

Elvira Matilla-Pinto

Andreia Agostinho

Gema Vara

Isaac Torrado

Olvido Blanco

Andrés Domingo

Carolina Silva

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25092634513

CAPÍTULO 14.....215

PRESENTACIÓN CLÍNICA Y POST MORTEM DE *COENDOU RUFESCENS* CON
PERITONITIS SÉPTICA Y LESIONES MULTIORGÁNICAS

Oscar Daniel Zapata-Zapata

Juliana Jaramillo-Cárdenas

Camilo Muñoz-Collazos

Jesús David Echeverri-López

Viviana Elena Castillo-Vanegas

Laura María Laverde-Trujillo

 https://doi.org/10.37572/EdArt_25092634514

SOBRE O ORGANIZADOR..... 227

ÍNDICE REMISSIVO228

CAPÍTULO 1

INTERACCIÓN GENOTIPO - AMBIENTE EN MAÍZ EN EL VALLE DE TOLUCA, MÉXICO

Data de submissão: 25/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Micaela de la O Olán

Doctora en Recursos Genéticos y
Productividad-Genética por el
Colegio de Postgraduados
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Valle de México
Km 13.5 Carretera Los Reyes-Texcoco
Coatlinchán, Texcoco, Estado de México
CP. 56250
<https://orcid.org/0000-0003-1406-7487>

Alfredo Josué Gámez Vázquez

Doctor en Fitomejoramiento por la
Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío
Carretera Celaya
San Miguel de Allende, km 6.5
Celaya Guanajuato, México. CP. 38110
<https://orcid.org/0000-0002-2453-0570>

Miguel Angel Avila Perches

Doctor en Fitomejoramiento por la
Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío
Carretera Celaya
San Miguel de Allende, km 6.5
Celaya Guanajuato, México. CP. 38110
<https://orcid.org/0000-0001-6050-9990>

Francisco Paúl Gámez Vázquez

Maestría en Agronegocios en
Colegio de Postgraduados
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío
Carretera Celaya
San Miguel de Allende, km 6.5
Celaya Guanajuato, México. CP. 38110
<https://orcid.org/0000-0003-2159-0954>

Mirna Hernández Pérez

Doctora en Mejoramiento Genético por la
Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Rosario Izapa
Carretera Tapachula-Cacahoatán, Km.18
Tuxtla Chico, Chiapas, México. CP. 30870
<https://orcid.org/0009-0007-8989-4504>

Mirna Bobadilla-Meléndez

Doctora en Fitopatología por el
Colegio de Postgraduados
Campus Montecillo
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío
Carretera Celaya
San Miguel de Allende, km 6.5
Celaya, Guanajuato, México. CP. 38110
<https://orcid.org/0009-0004-8069-8396>

Juan Francisco Buenrostro Rodríguez

Doctor en Producción Agroalimentaria en
Tecnológico Nacional de México
Roque Centro Internacional de
Mejoramiento de Maíz y Trigo
Carretera Celaya – Juventino Rosas
Km 8. CP38110
<https://orcid.org/0000-0001-5077-5953>

Rocio Edelmira Hernández Caldera¹

Doctora en Recursos Genéticos y
Productividad-Producción de Semillas
por el Colegio de Postgraduados
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío
Carretera Celaya
San Miguel de Allende, km 6.5
Celaya, Guanajuato, México. CP. 38110
<https://orcid.org/0000-0002-4045-5291>

RESUMEN: Las siembras en el Valle de Toluca se caracterizan por ser de punta de riego, temporal y humedad residual, se hacen a una profundidad de 15 a 20 cm, lo que exige a los genotipos un elevado vigor para germinar, emerger y mantener el crecimiento de plantas en tanto se establecen las precipitaciones, regularmente en el mes de mayo. El objetivo del trabajo fue evaluar la interacción genotipo ambiente a través de cuatro fechas de siembra en 14 genotipos de maíz y definir la interdependencia de las variables evaluadas. Se establecieron las fechas de siembra y genotipos en un diseño de bloques completos al azar y se realizaron análisis varianza combinados a través de ambientes, análisis de componentes principales, de interacción genotipo ambiente con el modelo SREG, y análisis por factores. Se observaron los mayores rendimientos en punta de riego (6.7 t ha^{-1}), y temporal (6.0 t ha^{-1}). Se observó que el rendimiento presentó estrecha interdependencia

¹ Autora de correspondencia

con el número de granos por hilera, mazorcas sanas, porcentaje de grano, longitud de mazorca, número de mazorcas sanas y número de plantas cosechadas. H-52, su cruza simple hembra (M43 x M44) y M60 x M61, presentaron los mayores rendimientos (10.9, 9.1 y 9.0 t ha⁻¹, respectivamente), además de ser los genotipos que presentaron la mayor adaptabilidad y superar al criollo, que presentó un rendimiento de 7.7 t ha⁻¹. El genotipo con menor rendimiento y adaptación fue el Sintético de Bajío.

PALABRAS CLAVE: *Zea Mays* L.; componentes principales, rendimiento de grano, SREG.

ANALYSIS OF THE GENOTYPE X ENVIRONMENT INTERACTION OF FOURTEEN MAIZE GENOTYPES

ABSTRACT: Sowings in the Toluca Valley are characterized by being on tip irrigation, seasonal and residual moisture, they are done at a depth of 15 to 20 cm, which requires the genotypes to have high vigor to germinate, emerge and maintain plant growth while the rainfall is established, regularly in the month of May. The objective of the work was to evaluate the genotype-environment interaction through four sowing dates in 14 maize genotypes, and to define the interdependence of the variables evaluated. The genotypes were evaluated using a randomized complete block design, and combined analysis of variance across environments, principal component analysis, genotype-by-environment interaction analysis using the SREG model, and by factor analysis were performed. Planting dates and genotypes were established in a randomized complete block design and combined analyses of variance across environments, principal component analysis, genotype-environment interaction analysis with the SREG model, and factor analysis were performed. The highest yields were observed under irrigation (6.7 t ha⁻¹) and rainfed conditions (6.0 t ha⁻¹). Yield was found to be closely interdependent with number of kernels per row, healthy ears, grain percentage, ear length, number of healthy ears and number of plants harvested. Among evaluated genotypes, H-52, its female single cross (M43 x M44), and M60 x M61 showed the highest yields (10.9, 9.1, and 9.0 t ha⁻¹, respectively); furthermore exhibited the greatest adaptability, as they were the highest-yielding genotypes across four planting dates and outperformed the local variety, which yielded 7.7 t ha⁻¹. The genotype with lowest yield and adaptation was Bajío Synthetic variety.

KEYWORDS: *Zea mays* L.; principal components, grain yield, SREG.

1. INTRODUCCIÓN

México presenta una gran diversidad climática, debido a su orografía y ubicación geográfica, razón por la cual presenta la mayor diversidad biológica en el cultivo de maíz, por lo que el estudio de la interacción genotipo - ambiente (IGA) cobra relevancia en el cultivo. El Valle de Toluca se ubica a una altitud de 2650 m, abarca parte de los municipios de Almoloya de Juárez, Calimaya, Chapultepec, Lerma, Metepec, Mexicaltzingo, Ocoyoacac, Otzolotepec, San Antonio la Isla, San Mateo Atenco, Rayón, Temoaya, Tenango del Valle, Toluca, Xonacatlán y Zinacantepec (Valdez y Flores et al., 2024). En esta región existen aproximadamente 121,921 ha con mediano y alto potencial de rendimiento para

producir maíz (González *et al.*, 1990). El clima es determinante en la producción agrícola, ya que las bajas temperaturas presentes todo el año, están en el rango de 13 a 15 °C y la precipitación anual es de 980 mm (CONAGUA, 2024). En las fases iniciales de desarrollo el ambiente se torna especialmente crítico, cuando la temperatura base del cultivo es de 8 °C (Ruiz *et al.*, 2013) y las siembras se hacen en fechas tempranas; debido a la presencia frecuente de heladas tardías, que inhiben el desarrollo normal del cultivo e incluso afectan en promedio más de 3,500 ha anualmente (Jasso-Miranda *et al.*, 2022). Al nivel estatal se siniestran 31,900 ha anualmente en todo el estado, principalmente por déficit hídrico durante la sequía intraestival (SIACON, 2022).

Las siembras de maíz en el Valle de Toluca se realizan en condiciones de punta de riego, temporal y humedad residual; a una profundidad de 15 a 20 cm, lo que exige un gran vigor germinativo de la semilla, para soportar bajas temperaturas, la profundidad de siembra y el déficit hídrico, previos al inicio de las lluvias de mayo. Para resolver esta problemática, el programa de mejoramiento genético del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) formó híbridos y variedades sintéticas. Estos genotipos mejorados buscan mayor adaptabilidad, sanidad, resistencia al acame y rendimientos superiores al de los criollos locales; que garantizan un adecuado establecimiento de plantas y rendimientos competitivos en la región. El uso de cultivares mejorados en zonas específicas, ha sido la tecnología más redituable; además de amigable con el ambiente y la salud humana. En esta búsqueda por seleccionar los mejores cultivares a través de múltiples ambientes, se ha acelerado la evolución natural, que permite identificar y seleccionar aquellos con rendimientos altos y predecibles o estables (Annicchiarico, 2002). Sin embargo, la respuesta diferencial de los genotipos a las condiciones ambientales da lugar a la interacción genotipo x ambiente (IGA), que limita la precisión en la estimación del rendimiento y dificulta la identificación de genotipos aptos para ambientes específicos (Crossa *et al.*, 1990). Aunque un cambio en la respuesta de los genotipos, debida a los ambientes, no necesariamente implica una respuesta de interacción de los genotipos con el ambiente (Abdullah *et al.*, 2026). Por lo que se propone el uso de análisis multivariados para superar la limitación de los promedios simples y mejorar la precisión en la identificación de materiales sobresalientes y estables.

Para el análisis de la IGA se han desarrollado diversos métodos que permiten caracterizar los genotipos con base en su estabilidad o baja interacción, uno de los más conocidos y utilizados es el SREG (Ponce-Encinas *et al.*, 2022), que es útil para la agrupación de genotipos a través de ambientes. Este método considera la estandarización del rendimiento de cada genotipo y dentro de cada ambiente; además, permite la

representación simultánea de la variabilidad de genotipos y ambientes, basada en el análisis de componentes principales (Rodríguez-Pérez et al., 2002; Yan y Tinker, 2006).

Por lo que, identificar las variables de mayor importancia, que logran marcar una diferencia entre los genotipos bajo el proceso de selección, actualmente, permitirá clasificar por una mayor eficiencia a cada genotipo en el proceso de mejoramiento genético.

El Análisis de Componentes Principales (ACP) que, con base en variables de campo, invernadero y laboratorio, da lugar a nuevas variables que no correlacionan entre ellas, permite cuantificar la varianza explicable de todo el experimento (Jolliffe y Cadima, 2016). Por lo que permite identificar las variables que mayor varianza aportan, así como posibles patrones de respuesta entre los genotipos y ambientes (Johnson, 1998 y Lattin et al., 2003).

Por lo anterior y con base en los avances del programa de mejoramiento genético de maíz para Valles Altos, que plantea obtener genotipos adaptados a una diversidad de condiciones ambientales, propiciado por el amplio rango de fechas de siembra, que se dan comúnmente en la región y su relación con el rendimiento de grano, se plantea a través de la IGA, identificar genotipos de maíz que aumenten su rendimiento de grano, conforme mejoran las condiciones del cultivo en el Valle de Toluca.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. AMBIENTES DE EVALUACIÓN Y MANEJO AGRONÓMICO

La evaluación en campo de los genotipos (Cuadro 1), se realizó en la localidad de Metepec a 2,650 m de altitud, en el Estado de México, ubicada en el Valle de Toluca, donde se sembraron cuatro experimentos bajo condiciones de campo, los dos primeros se establecieron el 02 de abril de 2023 bajo condiciones de punta de riego (PR) y humedad residual (HR) y los restantes el 28 de abril y el 10 de mayo del mismo año, bajo condiciones de temporal estricto (Temporal 1 y Temporal 2, respectivamente).

Las dos primeras fechas de siembra, son las que principalmente utilizan los productores de la región, con la finalidad de aprovechar un mayor ciclo de cultivo y obtener así mejores rendimientos; sin embargo, el riesgo por bajas temperaturas es alto en la primera fecha de siembra, lo que además es crítico, cuando en condiciones de humedad residual no existe un nivel hídrico adecuado del suelo.

La siembra se realizó de forma manual, a una profundidad de siembra de 15 a 20 cm. La dosis de fertilización fue 140-70-30; para el control de maleza se utilizaron 1.5 kg ha⁻¹ de Picloram más Nicosulfurón a los 20 días después de la siembra (DDS), y a los 50 DDS se hizo un deshierbe manual.

2.2. GENOTIPOS EVALUADOS

Se utilizaron cuatro líneas, progenitoras de los híbridos H-52 (M-43 y M-44) y H-68 (M-60 y M-61) desarrolladas por el INIFAP, en el Valle de Toluca – Atlacomulco, Estado de México, para condiciones de temperaturas bajas. Se incluyeron 13 genotipos, tres testigos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Genealogía y clasificación del material genético en estudio, por su adaptación a bajas temperaturas.

Número	Genealogía	Origen	Clasificación
1	M43	Metepec – 2022	Tolerante
2	M44	Metepec – 2022	Susceptible
3	(M43 x M44)	Metepec – 2022	Tolerante
4	(M43 x M44) F2	Metepec – 2022	Tolerante
5	(M43 x M44) x M43	Metepec – 2022	Tolerante
6	(M43 x M44) x M44	Metepec – 2022	Tolerante
7	M60	Metepec – 2022	Tolerante
8	M61	Metepec – 2022	Susceptible
9	(M60 x M61)	Metepec – 2022	Tolerante
10	(M60 x M61) F2	Metepec – 2022	Tolerante
11	(M60 x M61) x M60	Metepec – 2022	Tolerante
12	(M60 x M61) x M61	Metepec – 2022	Tolerante
13	H-52	Metepec – 2022	Tolerante
14	VS-46 (Testigo)	Metepec – 2022	Tolerante
15	Criollo (Testigo)	Metepec – 2022	Tolerante
16	Sintético de Bajío	Tepalcingo 2021-2022	Susceptible

2.3. VARIABLES EVALUADAS

Los caracteres evaluados fueron: 1) Días a floración masculina o Antesis (DA), se estimó mediante observaciones visuales periódicas, se determinó como fecha de floración cuando un 50 % de las plantas estaban liberando polen; 2) Días a floración femenina (DFF). Se consideró como fecha de floración cuando el 50 % de las plantas presentaban los estigmas expuestos; 3) Número de plantas (NPT). Se obtuvo al contar el número total de plantas establecidas por unidad experimental, 4) Plantas jorras (NPJ) se contabilizaron las plantas de que no producen mazorca; 5) Plantas con hijos (NPH) se consideraron las plantas que presentan “hijuelos”; 6) Mazorcas sanas (NMS) se obtuvo al contar el número de mazorcas que no presentan daño por plagas y enfermedades, 7) Mazorcas podridas (NMP): el daño por pudrición de mazorca se evaluó utilizando una escala de severidad de seis clases; donde: 0= sana, 1= 1-10 %, 2= 11-25 %, 3= 26-

50 %, 4= 51-75 %, 5= 76-100 % de pudrición; 8) Mazorcas moloncas (NMM) se obtuvo con el conteo del número de mazorcas pequeñas, mal formadas y con llenado de grano incompleto de cada parcela útil; 9) Rendimiento (R). Se expresó en $t\ ha^{-1}$ de grano cuyo porcentaje de humedad se uniformizó al 14 %; 10) Porcentaje de grano (%G), se obtuvo del cociente entre el peso del grano y el peso de cinco mazorcas, expresado como porcentaje de cinco mazorcas de tamaño medio de cada una de las repeticiones; 11) Longitud de mazorca (LM), se midió en centímetros desde la base hasta el ápice y se tomó de una muestra de cinco mazorcas de tamaño medio tomadas ex profeso para medir los componentes del rendimiento; 12) Diámetro de mazorca (DM): se midió con vernier digital cuya precisión es de 0.01 mm. Se tomó la medida en la parte media de cinco mazorcas de tamaño promedio de cada repetición; 13) Número de hileras por mazorca (NHM) se obtuvo de cinco mazorcas de cada una de las repeticiones. 14) Número de granos por hilera (NGH). Se contaron los granos por hilera de cinco mazorcas y se promedió. 15) Granos por mazorca (GM), se obtuvo como el producto del número de granos por hilera por el número de hileras en cinco mazorcas de tamaño promedio en cada parcela útil. 16). % de humedad del grano (%HG) se determinó con un medidor de humedad para granos Agromix.

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En cada fecha de siembra los experimentos se establecieron bajo un diseño de bloques completos al azar, donde la unidad experimental fue de dos surcos de 5 m y 0.8 m de distancia entre surcos, con una densidad de población de 65,000 plantas ha^{-1} . Se establecieron tres bloques completos por fecha de siembra. Se realizaron: a) análisis de varianza combinado a través de ambientes (McIntosh, 1983), b) análisis de componentes principales (Johnson, 1988) para explorar la variación de los genotipos y fechas de siembra, así como los posibles patrones de respuesta de estos, corroborar su previa clasificación como tolerantes o susceptibles a bajas temperaturas (Aguilar y Avila, 2002; Avila, 2002; Gámez, *et al.*, 2002), e identificar las variables de mayor importancia y c) análisis de interacción genotipo x ambiente para identificar los genotipos sobresalientes por fecha y condición de siembra. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistical Analysis System (SAS, 2022). Para identificar la interacción de los genotipos en rendimiento, se empleó el modelo SREG a través del programa GEA-R (Pacheco-Gil *et al.*, 2015), con base en Yan y Kang (2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANÁLISIS DE VARIANZA

Entre los análisis de varianza se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre los ambientes (A) de evaluación para la expresión de las variables días a antesis (DA), días a floración femenina (DFF), número total de plantas (NTP), plantas con hijos (NPH) y porcentaje de humedad del grano (%HG) (Cuadro 1). De la misma forma, los genotipos (G) fueron determinantes en la expresión del NPJ ($P \leq 0.05$) y de los DA, a DFF, NTP y NPH, así como en porcentaje de grano (%G) y humedad (%HG) al ($P \leq 0.01$). Para la IGA de DA, DFF NPT y %H se observaron diferencias significativas al $P \leq 0.01$, el resto de las variables no presentaron diferencias estadísticas significativas.

Entre las fuentes de variación de mayor importantes para este estudio con base en la magnitud de los cuadrados medios, fueron los G, seguida de los A y de la IGA. De la varianza total la aportación de los factores A, G y G*A para las expresiones fueron DA (3, 77 y 20 %), DFF (49, 50, y 1 %), NPT (28, 43 y 29 %), NPJ (28,45, y 29), NPH (69, 26, y 5 %), %G (34, 61 y 5 %) y %H (74, 23 y 3 %): generalmente, rasgos fenológicos como floraciones muestran un fuerte control genético; sin embargo, resultados contrastantes fueron obtenidos al evaluar híbrido y variedades de maíces de doble propósito en diferentes localidades (Torrero - Garza et al., 2025). A diferencia de NPJ y %G son sensibles a estrés ambiental y de manejo. El número total de plantas jorras e hijuelos por planta, donde las variaciones observadas no permitieron una distribución normal, probablemente debido a la dependencia de estos caracteres del ambiente y de un rango demasiado amplio en la variación de estos, para su expresión.

En un segundo término, la variación generada por los A de evaluación fue superior a la generada por los G y la IGA, en la expresión de las variables NTP y NPH, así como en la %HG. La interacción significativa indica que los G no se comportaron de igual manera ante las variaciones ambientales de las diferentes localidades y, por ende, existen buenos materiales para unos A pero que no responden bien en otros (Lozano-Ramírez, 2015).

Respecto al rendimiento de grano (RG) y parte de las variables que lo explican (Cuadro 2), se observaron entre los análisis de varianza, diferencias estadísticas entre los A solamente para la expresión de las variables RG y NMP con $P \leq 0.05$ en ambos casos. Entre genotipos se observaron diferencias estadísticas con $P \leq 0.01$, para la expresión de todas las variables; es decir: RG, NMS, NMM y NMP, NHM y de NGH, además de la LM y DM. Por lo que nuevamente entre estas variables la fuente de variación debida a G fue la de mayor importancia, es decir, la constitución genética definió la mayor variación en su expresión.

Los genotipos generaron 76 % de la variación total en RG, 53 % en el NMM, 79 % en el NMH, 69 % en el NGH, y 58 % en la LM y DM. La IGA ocupó el tercer lugar en importancia con respecto a la variación total explicable, pero el segundo lugar en el NMM, y en el NHM. Resultados contrastantes fueron obtenidos al evaluar RG, NH, LM, y DM en híbridos y variedades de maíz en diferentes localidades (Hernández-Pérez et al., 2025).

3.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (CP) PARA GENOTIPOS

Los dos primeros componentes principales, explicaron el 78.7 % de la variabilidad total. Con base en el valor absoluto de los vectores propios de determinó que las variables de mayor importancia por la varianza explicada en el CP1, fueron DA (-0.3414), %G (0.3410), NPT (0.3408), DFF (-0.3374) y NMS (0.3286) variables que definen la precocidad, la sincronía reproductiva y adaptación (Hernández-Trejo et al., 2023); mientras en el CP2 destacaron la LM (5471), NMM (-0.4328), NGH (0.4219) y RG (0.3436).

Se observaron tres patrones de respuesta entre genotipos, el de materiales sobresalientes en rendimiento y sus componentes, además de ser más precoces (Criollo, M43 x M44, M60 x M61 y H-52), características que pueden emplearse como criterios de selección (Takele, 2000). El segundo patrón de respuesta lo conformaron las retrocruzas de los dos híbridos simples, cuyo comportamiento de los genotipos fue un promedio en la expresión de todas las variables y finalmente se conformó un tercer grupo, integrado por los materiales menos adaptados a la región (Figura 1).

Cuadro 1. Análisis de varianza combinado de variables agronómicas de desarrollo fenológico de maíz en el Valle de Toluca, Metepec 2023.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios						
		Antesis	Floración femenina	Plantas			Grano (%)	Humedad (%)
				Total	Jorras	Hijos		
Ambientes (A)	3	3.0 **	810.7 **	4251.2 **	1.6	219.9 **	0.015	407.1 **
Genotipos (G)	15	82.3 **	831.2 **	1513.4 **	2.5 *	82.3 **	0.027 **	128.8 **
IGA	45	21.6 **	22.9 **	114.7 **	1.7	17.4	0.002	17.2 **
Promedio		99.5	103.9	39.6	1.3	7.1	0.83	13.7

GL: Grados de libertad; * y **: Diferencias estadísticas con $P \leq 0.01$ y 0.05 , respectivamente.

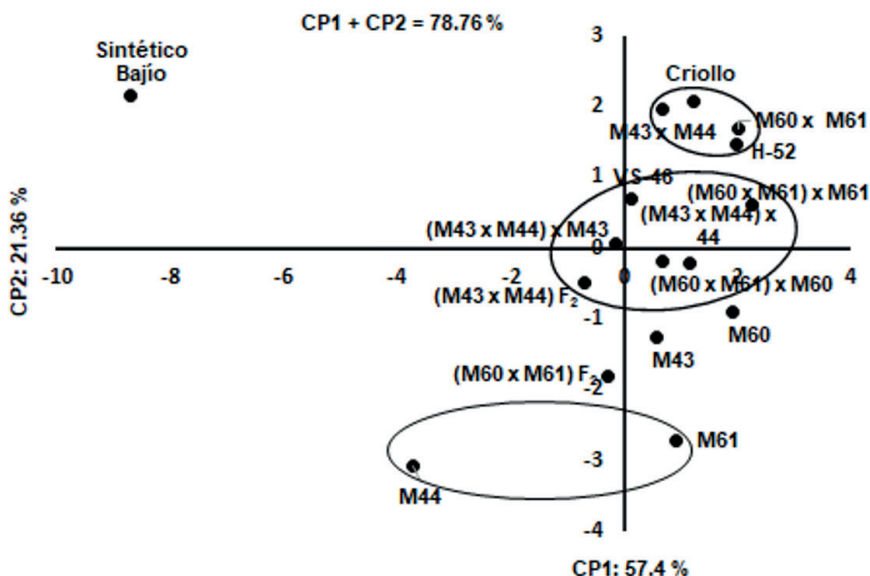
Cuadro 2. Análisis de varianza combinado de rendimiento y sus componentes en madurez de maíz en el Valle de Toluca.

Fuentes de variación	GL	Cuadrados medios							
		Rendimiento	Mazorcas			Hileras mazorca	Granos hilera	Mazorca	
			Sanas	Moloncas	Podridas			Longitud	Diámetro
Ambientes (A)	3	27416375 *	1768 **	6.7	47.9 *	2.4	39.6	11.4	29.5
Genotipos (G)	15	95974388 **	3162 **	16.7 **	23.6 **	18.8 **	113.2 **	19.0 **	76.2 **
G*A	45	2952488 **	240 **	7.9	5.6	2.6	12.1	2.1	24.8 *
Promedio		5867.2	49.4	4.8	3.1	16.1	25.7	13.8	46.8

GL: Grados de libertad; * y **: Diferencias estadísticas con $P \leq 0.01$ y 0.05 , respectivamente.

En la Figura 1, se observa que entre los materiales clasificados como susceptibles o sin adaptación al Valle de Toluca, estuvieron las líneas machos M44 y M61, ambos presentaron el menor R entre todos los genotipos, y el Sintético de Bajío, fue el menos adaptado, ya que presentó el menor %G en la mazorca, la mayor cantidad DA y DFF, además de la menor cantidad de NMS. Entre los genotipos sobresalientes por RG, con base en una mayor LM, mayor NGH y menor cantidad de NMM, fueron el Criollo local, las cruza simples M43 x M44, M60 x M61, el híbrido de cruza triple H-52 y las retrocruzas de ambas cruza simples; todos ubicados en el primer cuadrante donde, además, presentaron el mayor %G en la mazorca, el menor número de DA y DFF, además de una mayor cantidad en el NMZ.

Figura 1. Plano cartesiano con la dispersión de los genotipos evaluados de maíz en el Valle de Toluca.



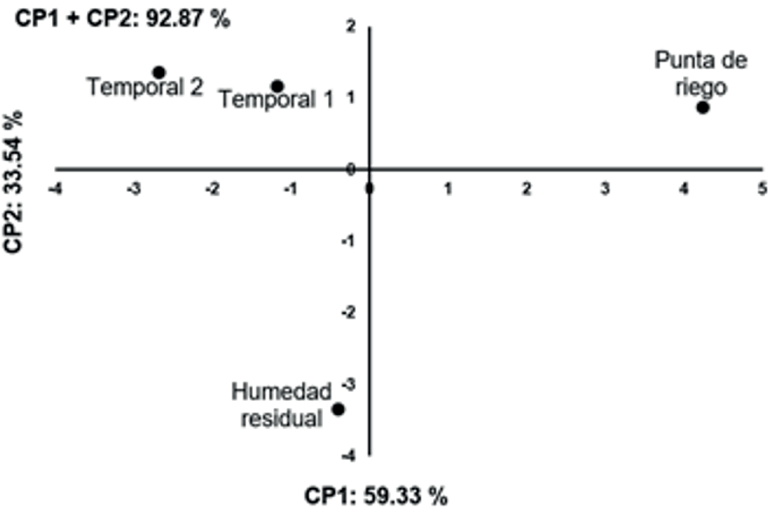
3.3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES PARA AMBIENTES

Los dos primeros componentes principales explicaron el 92.87 % de la variabilidad total de los datos originales, de tal manera que el CP1 explicó el 59.3 % y el CP2 el 33.5 %. Las variables de mayor importancia en el CP1 fueron LM (0.3322) y %G (0.3292) y en el CP2 fueron NMM (0.4040), NMS (0.3862) y NPT (0.3712).

En la Figura 2, se observa la dispersión de las cuatro condiciones de humedad a la siembra, las que conformaron tres patrones de respuesta diferentes. El de punta de riego, que se caracterizó por presentar la mayor LM y %G y con un RG similar a las dos siembras de temporal, cuya característica principal fue una mayor presencia de NMM,

NMS y NPT. La siembra del experimento con humedad residual, fue el ambiente menos favorecido, debido la ausencia de humedad al momento de la siembra, sin la seguridad del establecimiento de la precipitación pluvial; por lo que probablemente, los genotipos presentaron el menor RG, la menor cantidad de NPT a la cosecha y la menor cantidad de NMS.

Figura 2. Plano cartesiano con la dispersión de los tipos de siembra de maíz, evaluadas en el Valle de Toluca.



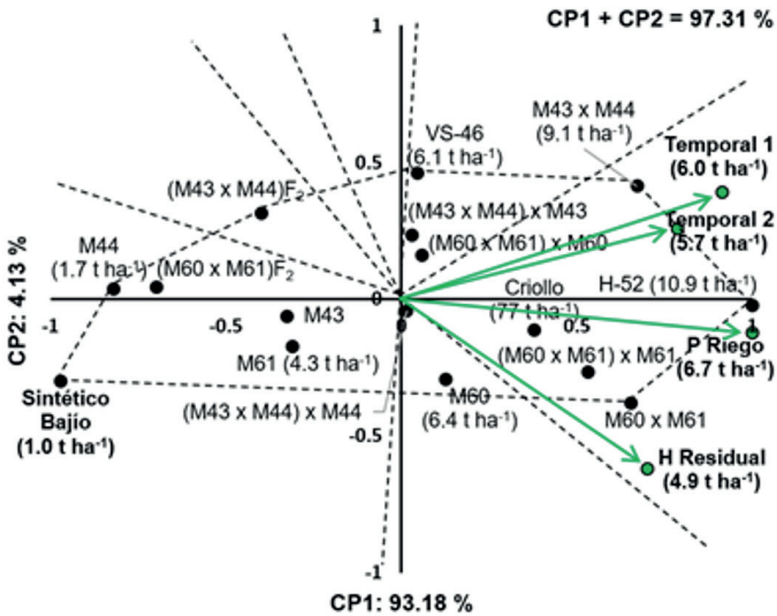
3.4. ANÁLISIS DE INTERACCIÓN GENOTIPO - AMBIENTE DEL RENDIMIENTO

Con este análisis se identificó a las siembras del 02 de abril bajo condiciones de punta de riego y del 28 del mismo mes como temporal 1, como las que favorecieron la mayor interacción genotipo x ambiente, y a las fechas de humedad residual (2 de abril) y temporal 2, como las que menor expresión de la IGA favorecieron, esto con base en la magnitud de la varianza generada por dichos ambientes.

Como resultado del análisis se observa que la cruz triple H-52 superó en rendimiento (10.9 t ha^{-1}) al resto de los genotipos de maíz y en todas las condiciones de siembra; es decir, fue el de mayor adaptabilidad seguida por las cruza simples M43 x M44 (9.1 t ha^{-1}) y M60 x M61 (9.2 t ha^{-1}), así como de la retrocruza de esta última con M61 (8.5 t ha^{-1}) y por el criollo local (7.7 t ha^{-1}). La variedad VS-46, obtuvo 6.1 t ha^{-1} y presentó un comportamiento similar al promedio de todos los genotipos, al igual que las retrocruzas de ambas cruza simples (M43 x M44 y M60 x M61) hacia sus líneas hembra (M43 y M61). Es de destacar el rendimiento de la línea hembra M60 (6.4 t ha^{-1}), que superó al

promedio de todos los genotipos (5.8 t ha^{-1}). La línea M44 y el Sintético de Bajío, tuvieron baja adaptabilidad al obtener los menores rendimientos en todos los ambientes, aunque M61 también presentó poca adaptación, porque su rendimiento fue de 4.3 t ha^{-1} , similar a M43, línea hembra de la primera cruce simple clasificada como tolerante o adaptada a las condiciones ambientales de la región.

Figura 3. Análisis de la interacción genotipo x ambiente para rendimiento de maíz de 16 genotipos evaluados en cuatro ambientes del Valle de Toluca, Estado de México, 2023.



4. CONCLUSIONES

Las siembras en punta de riego y temporal, favorecieron la expresión de la interacción de los genotipos y la de humedad residual fue la que menos favoreció la interacción genotipo x ambiente. Entre los genotipos el híbrido H-52 fue el de mayor rendimiento y adaptabilidad en las siembras de punta de riego, temporal y humedad residual. Los genotipos de mayor rendimiento fueron las cruces simples, el híbrido triple H-52, así como el criollo local, seguidos por la variedad sintética VS-46 y en seguida las líneas hembras de las cruces simples. Las variables de mayor importancia entre los genotipos y ambientes, asociadas al rendimiento fueron el porcentaje de grano en la mazorca, la longitud de mazorca, el número de granos por hilera, el número de mazorcas sanas y número de plantas totales a la cosecha.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, A., Anas M., Wahab A. U., Taimur M., Afridi M. S., Khan K., Tariq K., Khan H. U. and Khalil I. H. (2026) Genetic diversity among wheat advanced lines using different stress indices. *Haya Saudi Journal of Life Sciences*, 11(2), 195–221. <https://doi.org/10.36348/sjls.2026.v11i02.008>
- Aguilar, F. P. y Avila P. M. A. (2002) Evaluación de variedades de maíz en diferentes intensidades de labranza. *Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coahuila*, pp: 289.
- Annicchiarico, P. (2002) Defining adaptation strategies and yield stability targets in breeding programs. In: Kang MS (ed.) *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*. Wallingford: CAB International pp 365–383.
- Avila P. M. A. (2002) Rendimiento y calidad de semilla de maíz en función de la fertilidad y la densidad de población. *Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coahuila*, pp: 221.
- CONAGUA, Comisión Nacional del Agua (2024) Normales Climatológicas por Estado. <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado?estado=mex>
- Crossa, J. H. G., Gauch, Jr. and Zobel R. W. (1990) Additive main effects and multiplicative interaction analysis of two international maize cultivar trials. *Crop Science*. 30:493-500. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000030003x>
- Gámez V. A. J., Ortiz T. C., Mejía A. C., Rivero G. F., Laguna C. A., Cruz E. M., Mora S. M., Colín B. S. O., Moreno A. A. y Orozco T. F. (2002) *Tecnología Agropecuaria y Forestal para el Estado de México*. Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coahuila, pp: 31.
- González, A. I. J., Turrent F. A. y Aveldaño S. R. (1990) Provincias agronómicas de las tierras de labor bajo temporal, en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. D.F. pp: 133.
- Hernández-Pérez, M., Avila-Perches M. A., Nava-Padilla R. J., Soto-Rocha J. M., Martínez-Gómez D., Gámez-Vázquez A. J. (2025) Rendimiento de maíz, interdependencia e interacción genotipo-ambiente en el sureste de México. *Revista Mexica de Ciencias Agrícolas*. 16(8): 1-10 e3778 <https://doi.org/10.29312/remexca.v16i8.3778>
- Hernández-Trejo, A., López-Santillán J. A., Estrada-Drouaillet B., Reséndiz-Ramírez Z., Coronada-Blanco J. M. and Malvar R. A. (2023) Aptitud combinatoria y efectos recíprocos de la precocidad en poblaciones nativas de maíz en Tamaulipas. *Revista Mexica de Ciencias Agrícolas*. 14(2):171-183 <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i2.2990>
- Jasso-Miranda, M., Soria R. J. y Némiga X. A. (2022) Loss of cultivated areas of rainfed corn due to frosts in Toluca valley. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 13(2): 207-222.
- Johnson, D. E. (1998) *Applied multivariate methods for data analysts*. 1st Ed. Duxbury Resource Center. 425 p.
- Lattin J., Carroll J. D. and Green P. E. (2003) *Analyzing multivariate data*. Brooks/Cole Thompson Learning Inc. 556 p.
- Jolliffe, I. T. and Cadima J. (2016) Principal component analysis: a review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 13;374(2065):20150202. <https://doi:10.1098/rsta.2015.0202>.

Lozano-Ramírez, A., Santacruz-Varela A., San-Vicente-García F., Crossa J., Burgueño J. y Molina Galán J. D. (2015) Modelación de la Interacción genotipo x ambiente en rendimiento de híbridos de maíz en ambientes múltiples. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 38 (4):337-347.

McIntosh M. S. (1983). Analysis of combined experiments. *Agronomy Journal* 75:153-155.

Pacheco-Gil, R.A., Vargas M., Alvarado G., Rodríguez F., Crossa J., and Burgueño J. (2015) GEA-R (Genotype x Environment Analysis with R for Windows) Version 4.1. CIMMYT Research Data & Software Repository Network. Available online at: <https://hdl.handle.net/11529/10203>.

Ponce-Encinas, M. C., López-Morales F., Chura-Chuquij, J., Hernández-Leal E., Aragón-García A. (2022) Interacción genotipo ambiente del rendimiento en híbridos de maíz amarillo mediante AMMI y SREG. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 13(7): 1247-1258. <https://10.29312/remexca.v13i7.3070>

Rodríguez Pérez, J.E., Sahagún Castellanos J. E., Villaseñor Mir H. E., Molina Galán J. D. y Martínez Garza A. (2002) Estabilidad de siete variedades comerciales de trigo (*Triticum aestivum* L.) de temporal. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25:143-151.

Ruiz, C. J. A., Medina G. G., González A. I. J., Flores L. H. E., Ramírez O. G., Ortiz T. C., Byerly M. K. F. y Martínez P. R. A. (2013) Requerimientos agroecológicos de cultivos. Segunda Edición. Libro Técnico Núm. 3. INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. 564 p.

SAS, Institute. (2022). SAS/STAT® User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

SIACON, Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (2022) Información agrícola municipal 2016-2021. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).

Takele, A. (2000). Seedling emergence and of growth of sorghum genotypes under variable soil moisture deficit. *Acta Agronomica Hungarica*, 48(1), 95-102. <https://doi.org/10.1556/AAgr.48.2000.1.10>

Torrero-Garza, Y., Guerrero-Rodríguez J. D., Herrera-Guzmán J. A., López P. A., López-Sánchez H., Enríquez-Quiroz F. J. (2025) Rendimiento de forraje y grano en tres etapas fenológicas de maíces de doble propósito. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 48(3): 223-231 <https://doi.org/10.35196/rfm.2025.3.223>

Valdez, C. S. A. y Flores V. A. (2024) Crecimiento urbano de la zona metropolitana del Valle de Toluca. Estudios para medir la habitabilidad urbana por medio de la vivienda. *Proyección, Estudios Geográficos y de Ordenamiento Territorial*. 18(36): 8-29. <https://doi.org/10.48162/rev.55.060>

Yan, W. and Kang M. S. (2002) GGE biplot analysis: A graphical tool for breeders, geneticists, and agronomists. 1st Ed. CRC Press, Boca Raton. 288.

Yan, W. and Tinker N. A. (2006) Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(3), 623-645. <https://doi.org/10.4141/P05-169>

CAPÍTULO 2

FOLIAR BEHAVIOR OF OLIVE TREES (*Olea europaea* L.) GRAFTED AND CUT UNDER THE EFFECT OF SALT STRESS

Data de submissão: 01/09/2026

Data de aceite: 14/09/2026

Dhia Gharabi

Laboratory of Molecular and Cellular Biology
Faculty of Nature and Life Sciences
Ibn Khaldoun University
Tiaret, Algeria
<https://orcid.org/0000-0002-0194-0091>

Maghni Benchohra

Faculty of Nature and Life Sciences
Ibn Khaldoun University
Tiaret, Algeria
<https://orcid.org/0000-0002-0980-5679>

Muhammad Arif

Department of Plant Protection
Faculty of Agriculture
Sakarya University of Applied Sciences
Sakarya, Turkey
<https://orcid.org/0000-0002-8631-4873>

Salih Karabörklüb

Department of Plant Protection
Faculty of Agriculture
Sakarya University of Applied Sciences
Sakarya, Turkey
<https://orcid.org/0000-0003-4737-853X>

Teggar Naima

<https://orcid.org/0000-0003-1784-4843>

Naceur Benamor

<https://orcid.org/0000-0001-5751-0181>

Samira Kacha

University Ibn Khaldoun
Tiaret, Algeria
<https://orcid.org/0009-0000-7225-7583>

Laidia Zerkaoui

Faculty of Nature and Life Sciences
Ibn Khaldoun University
Tiaret, Algeria

Mohamed Abdelhaq Abbes

<https://orcid.org/0000-0003-2943-5596>

Boulénouar Houari

Houari Boulénouar
<https://orcid.org/0000-0001-6976-0655>

Maliika Zoubéidi

Faculty of Nature and Life Sciences
Ibn Khaldoun University
Tiaret, Algeria

Imane Derouiche

Université IBN Khaldoun
Tiaret, Algeria
<https://orcid.org/0000-0002-5295-1241>

ABSTRACT: Olive (*Olea europaea* L.) is an important perennial crop in many agricultural regions of the Mediterranean countries but it is planted, often in salty soils. In this context, the objective of this work is to determine the effect of salinity on the morpho-physiological

behavior of young olive plants in cuttings and grafted plants, including two local varieties (Chemlal and Sigoise) and two introduced varieties (Manzanilla and Arbiquina). The experiment was conducted in a laboratory and greenhouse with a well-controlled condition. The experiment was arranged in a completely randomized design of two factors (salinity and varieties) with four replications and two treatments. Not treated plants (without NaCl application) were utilized as control. The plant material (young 2-year-old olive seedlings) was selected and brought from a crop nursery. The experimentation started by the irrigation of the control plant with a nutrient solution. About the salinity treatment, the tree seedlings received a nutrient solution fortified by the addition of 100mM of NaCl. Four repetitions are being done according to the field capacity. The study covered the variation of the relative water content in leaves as well as the leaf surface, stomata density, stomatal size and the wax rate on the upper foliar epidermis. According to the achieved results, the RWC leaf area and stomatal density of the treated plants decreased compared to the control. On the other hand, the wax level increases in the case of salt stress compared to the control, both for the grafted plants and for the plants not grafted.

KEYWORDS: salt stress; olive-tree; RWC; stomatal density; wax rate; varieties.

COMPORTAMENTO FOLIAR DE OLIVEIRAS (**Olea europaea** L.) ENXERTADAS E PROVENIENTES DE ESTACAS SOB STRESS SALINO

RESUMO: An oliveira (**Olea europaea** L.) é uma cultura perene importante em muitas regiões agrícolas dos países mediterrânicos, sendo frequentemente cultivada em solos salinos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é determinar o efeito da salinidade no comportamento morfofisiológico de plantas jovens de oliveira – tanto provenientes de estaca como enxertadas –, incluindo duas variedades locais (Chemlal e Sigoise) e duas variedades introduzidas (Manzanilla e Arbequina). A experiência foi conduzida em laboratório e em casa de vegetação, sob condições controladas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com dois fatores (salinidade e variedades), quatro repetições e dois tratamentos. As plantas não tratadas (sem aplicação de NaCl) foram utilizadas como controle. O material vegetal (mudas jovens de oliveira com dois anos de idade) foi selecionado e obtido num viveiro. A experiência iniciou-se com a irrigação das plantas controle utilizando uma solução nutritiva. Para o tratamento de salinidade, as plântulas receberam uma solução nutritiva enriquecida com a adição de 100 mM de NaCl. Foram realizadas quatro repetições, tendo a rega sido baseada na capacidade de campo. O estudo avaliou a variação do teor relativo de água (TRA) nas folhas, bem como a área foliar, a densidade estomática, o tamanho dos estomas e a quantidade de cera na epiderme foliar superior. Os resultados mostraram que o TRA, a área foliar e a densidade estomática das plantas tratadas diminuíram em comparação com o controle. Por outro lado, o teor de cera aumentou sob stress salino em relação ao controle, tanto nas plantas enxertadas como nas não enxertadas.

PALAVRAS-CHAVE: stress salino; oliveira; TRA; densidade estomática; teor de cera; variedades.

1. INTRODUCTION

The olive tree constitutes an economic and food source for the autochthonous inhabitants. The development of olive growing in Algeria was the subject of an extensive program to plant one million hectares of land in olive groves. Thus, new decisions are taken to improve the management of olive growing by extending it to land where intensification of production is possible. Olive (*Olea europaea* L.) is an important perennial crop in many agricultural regions of the Mediterranean countries. By adaptation to arid conditions, it has a positive impact on the environment and the economy of the region (Besnard et al., 2002). It contributes to reducing the soil erosion and the loss of the fertile soil (Álvarez et al., 2007). Otherwise, the recorded salinization of the arid and semi-arid ecosystems is the result of a high evaporation of water from the ground and insufficient and irregular rainfall (Mezni et al., 2002; Munns et al., 2006). This salinization stems also from an inadequately controlled irrigation (Bennaceur et al., 2001; Devkota et al., 2022). Salinity and drought additionally have been shown to affect plant growth, protein accumulation (Zhu, 2001; Balasubramaniam et al., 2023). Therefore, osmotic potential provides a better measure of the effect of salt on plant growth (Ben-Gal et al., 2009) and microbial activity (Chowdhury et al., 2011; Setia and Marschner, 2012) than the EC of a soil extract. The accumulation of salts in the root zone has adverse effects on plant growth (Belkhodja et Bidai, 2004). It is due to the low osmotic potential of the soil solution resulting in decreased availability of water to plants, but also due to the ion imbalance and ion toxicity (Pages et al., 2000; Lindsay et al., 2004; Bartels et Sunkar, 2005). Therefore, it must to understand the mechanisms developed by plants to adapt to changing environmental conditions to maintain their growth and productivity (Szabolcs, 1994; Trinchant et al., 2004). Indeed, according to the salinity in the media, glycophytes are exposed to changes in their morpho-physiological (Bennaceur et al., 2001) and biochemical behavior (Grennan, 2006). So, the plants must modify their growth and development to suit the prevailing environmental conditions.

Indeed, given the salt constraint, activity and morphology of the leaves play a role in plant resistance to stress. According to Garg et al. (2002), Moinuddin et al. (2005) and Hassani et al. (2008), the plant expressed itself by maintaining turgor by reducing transpiration. Therefore, this experiment was conducted to examine the influence of NaCl or the effect of salinity on morpho-physiology of the leaf for four varieties of olive trees derived from cuttings or grafted Including two local varieties (Chemlal and Sigoise) and two introduced varieties (Manzanilla and Arbiquina) (Gharabi et al., 2022). The analysis focused on changes in the relative water content of leaves, area, density of stomata, rate of wax and the internal structure. The induction of salt stress is achieved by adding a NaCl to the nutrient solution

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. THE EXPERIMENTAL DEVICE

The plantlets used in the experiment were 18-month-old obtained by cutting rooted under nebulization (crop nursery). The olive plants were placed into a vinyl polychloride (VPC) cylinders (sixty centimeters long and twenty centimeters diameter) filled with a mixture of soil made by sand, soil and an organic matter at proportions of four volumes from sand / one volume from soil / one volume from manure or an organic matter. The experiment was conducted in a greenhouse in the Ibn Khaldoun University of Tiaret (Algeria) with a daytime temperature of 18°C and nocturnal of 10°C, the relative humidity of the air was 70% and the photoperiod of 10-12 h.

The three factors experiment was laid out in Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replications (four blocks) were set up to study the different parameters that demonstrate the physiological effects of salt water on the olive plants tested. The experiment is carried out on four varieties, two of which are to produce table olives (Sigoise and Manzanilla) and two for olive oil production (Chemlal and Arbiquina). The cuttings of the local varieties (Sigoise and Chemlal) come from Algiers and the introduced plants (Manzanilla and Arbiquina) come from Spain.

The induction of the salt stress of the four varieties was achieved by adding NaCl to the nutrient solution. Each plantlet received a standardized and a balanced nutrient solution as Hoagland and Arnon (1938). Treated plants were watered with the nutrient solution and twice a week with 300ml of 100 mM NaCl solution. Control plants received only the nutrient solution. Analyzes and measurements were done after twelve (12) weeks of saline stress.

2.2. THE RELATIVE WATER CONTENT (RWC)

It was determined by method of Barrs and Weatherley, (1962) according by the formula of Clarck and McCaig (1982) and used by Rascio et al. (1988).

After excising the leaf, the initial fresh weight (ifw) was determinated. Then, the leaf introduced into a test tube containing of distilled water. The unit is placed at the darkness at 4 °C for 12 hours. The leaves were weighed again (weight in full turgidity, wft). The dry weight (dw) is obtained by drying in the oven during 48 hours at 80 °C. The relative content water of the leaves is estimated by the equation:

$$\text{RWC (\%)} = [\text{ifw} - \text{dw} / \text{wft} - \text{dw}] \times 100 \%$$

2.3. THE LEAF AREA

The leaf area is directly measured by electronic planimeter LICOR-3000A (Cheverry, 1995) with a resolution of 1 mm².

The Wax Rate. The excised sheet at its base is introduced into a washed and weighed test tube (P1) to which chloroform is added to extract the wax. The test tube with the wax and the chloroform is dried in an oven for 24 h at 45 °C and then weighed (P2). The wax ratio is determined according to the formula:

$$\text{Wax Rate in mg.cm}^{-2} = \text{P2-P1} / \text{SF}$$

2.4. DENSITY AND SIZE OF THE STOMATA

The stomata density, according to the method of Dohman et al. (1991) adopted by Denden and Lemeur (1999). The stomata density is evaluated on the lower and the upper surface in the central portion of the penultimate leaf that was dusted off and, after removing the epidermal hairs by applying an adhesive tape, thin layer of a clear nail varnish was applied. After two minutes, the varnish layer is removed with the stomata print by using another diaphanous adhesive tape, then spreading it on the microscope slide which has been beforehand washed and dried, and we observed it using an optical microscope to determine the number and the size of the stomata (length and width). The measurements are carried out using a ZEISS type microscope (with microscope and OPTIKA photo tube).

The structure of the leaf. Operated on limiting the water loss were assessed by performing an anatomic cut of the leaves and the histological study was carried out by the method of (Martoja et Martoja, 1968). Fragments with a length of two centimeters taken from young leaves were placed in a fixative based on alcohol, and formalin, and acetic acid for twenty-four hours. Then the samples were washed and dehydrated with increasing doses of the ethanol (70° and 100°). We went ahead with an impregnation of the samples: toluene then paraffin-toluene (V/V) during four hours at 60°C before including them in a pure and warm paraffin. The use of the microtome (type LEICA RM 2145) allowed to obtain lices of 12 µm thicknesses. They placed on to a slide in gelatin water then colored, fixed and using a microscope with an ocular micrometer ZEISS type.

2.5. STATISTICAL ANALYSIS

The obtained data were processed with *Statistica* 12.0, by analyzing the variance and the correlation matrix. The analysis of variance and the means were compared to the Tukey test at 5% probability level.

3. RESULTS

3.1. THE RELATIVE WATER CONTENT

Table 1. Analysis of the variance of the Relative Water Content (RWC) and the leaf area of stressed and unstressed olive trees.

Variable	Variety effect (F1)	Plant effect (F2)	Stress effect (F3)	F1*F2	F2*F3	F1*F3	F1*F2*F3
RWC	0.026	0.221	0.630	0.573	0.855	0.763	0.098
Leaf area	0.007	0.074	0.462	0.132	0.726	0.942	0.588

Our statistical results are significant for the varietal effect on the relative water content and nonsignificant for the effect of the plant type (the bit error rate threshold of 5%). Indeed, it shows that after six weeks of treatment with 100 mM.L-1 of NaCl, most of the genotypes studied did not show a significant decrease in the relative water content. The reduction of the RWC of all the tested plants fluctuates between 1% and 2% compared to the control (Fig. 1a).

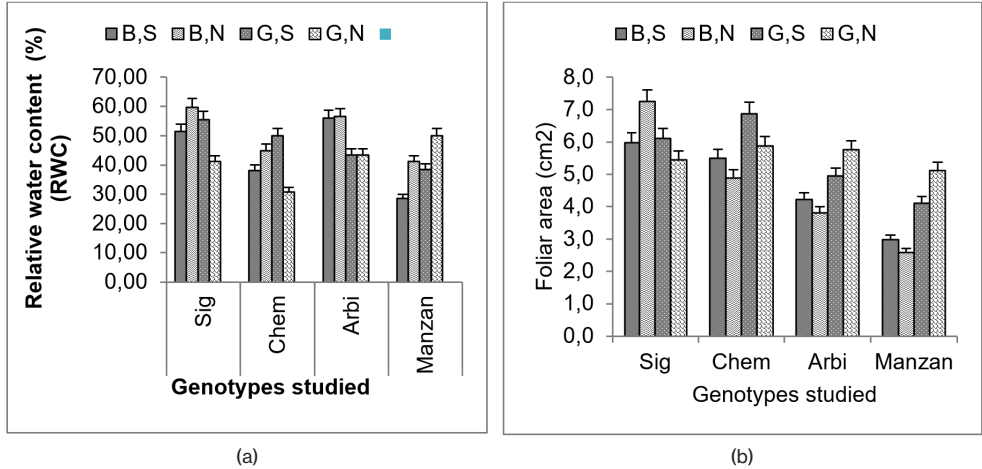
Thus, the varieties of olive trees studied (local and introduced) have retained a high RWC in the presence of salt stress, indicating that the olive tree is of the “stay green” type (Liu et al., 2024). The olive tree retains green leaves and photosynthetically active allowing having reasonable yields even in the presence of abiotic stresses. However, a high content can be found in local varieties of olive trees compared to introduced varieties. For the local plants treated with 100 mM NaCl and in absence of salinity, the sheet exhibited a RWC of 70% and 60% respectively for Chemlal and Sigoise, and 50% on average for the introduced varieties.

3.2. THE LEAF AREA

The same effect (Table 1) is observed when analyzing the variance of the leaf area. statistical calculations appear to be significant for the varietal effect on the leaf area and not significant for the effect of the plant type under the saline treatment effect and the

various interactions at the 5% error threshold. Saline stress affects the leaf area slightly ($p = 7.4\%$). Indeed, the foliar area recorded in the control plants is 49.34 cm² and then it drops to 27.19 cm² for the leaves of the plants treated with 100 mM.l⁻¹ NaCl, (Fig. 1b). Except for the effect of the plant type, the impact of salinity is very highly significant on the stomatal density ($p=0\%$), as well as the varietal effect and the various interactions, particularly at leaf level of the plants in 100 mM.l⁻¹NaCl, (Table 2).

Figure 1. Relative water content (RWC) (a) and the leaf area (cm²) (b) as measured from the penultimate leaf of the studied plantlets (SC: Stressed Cut, CC: Cutting Control, SG: Stressed Graft, GC: Grafted Control).



3.3. THE WAX RATE

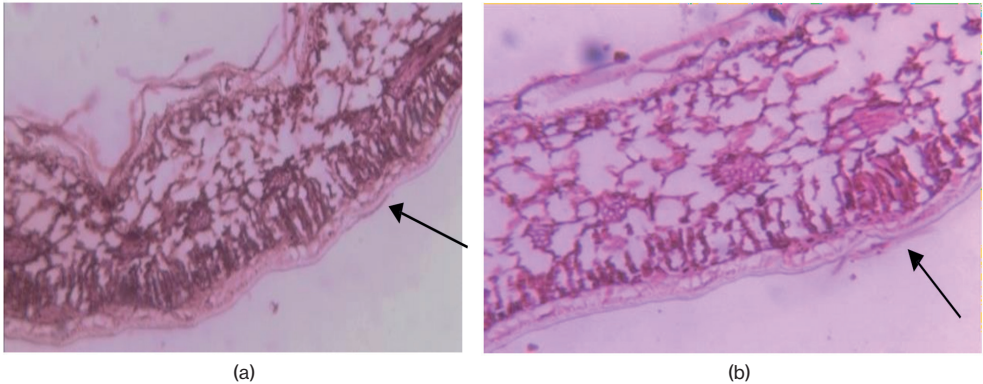
Table 2. Analysis of the variance of the wax rate of the stressed and unstressed olives genotypes.

Variable	Variety effect (F1)	Plant effect (F2)	Stress effect (F3)	F1*F2	F2*F3	F1*F3	F1*F2*F3
The wax rate	0.012**	0.000***	0.000***	0.000	0.000	0.001	0.004**

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05; insignificant: p>0.05

The analysis of wax variance shows a very highly significant influence for all factors tested at $p<0.05$, the varietal effect on stomatal density, “plant type” effect, Saline treatment effect and plant genotype-type interactions, genotype-stress, genotype-treatment and genotype-type plant-treatment (Table 2). The histograms displayed in Fig. 3a show that all the genotypes studied (local and introduced) developed a cuticle by the deposition of wax.

Figure 2. The foliar cuticle in olive tree “Sigoise” BS: Stressed Cut (a) and Stressed Graft (b) (photo by Gharabi, Hassani, 2015).



In addition, Hopkins, (2003), have established the relationship between transpiration and stomatal resistance in *Arabidopsis thaliana*, by increasing this resistance during salt stress to minimize water loss and sweating, (Cocozza et al., 2020), becomes more important in case of thin cuticle leaves. According to our results, the stressed genotypes have cuticles thicker than those under normal conditions; this can explain the resistance of our plants by keeping their leaves throughout the duration of the stress applied (Fig. 2).

3.4. THE STOMATA DENSITY

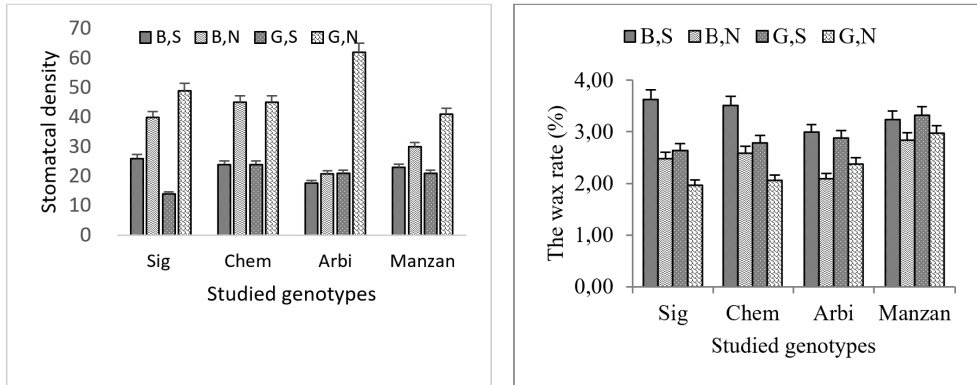
Table 3. Analysis of the variance of the stomatal density (cm2), the length and width of the stomata (µm) of stressed and unstressed olive trees.

Variable	Variety effect (F1)	Plant effect (F2)	Stress effect (F3)	F1*F2	F2*F3	F1*F3	F1*F2*F3
Stomatal Density	0.000	0.378	0.000	0.000	0.003	0.041	0.036
length of stomata	0.000	0.481	0.001	0.000	0.000	0.020	0.037
width of stomata	0.000	0.239	0.000	0.007	0.024	0.000	0.000

According to the obtained analysis (Table 2) the reaction of the plants followed the same tendency about the expression of this parameter. The Figure 3b shows a significant variation in the number of stomata. In fact, Sigoise cuttings have 40 stomata (control) versus 26 (stressed) stomata. The Chemlal presents 45 against 24, the Arbiquina 44 against 24, and the Manzanilla – 30 against 23 stomates/cm2. For the genotypes grafted on oleaster the fall is more important. According to Fig. 5, the values

were 49 (control) versus 14 for the Sigoise, 45 against 24 for Chemlal, 62 against 21 for Arbequina, and 48 against 21 stomata for the variety Manzanilla.

Figure 3. The wax rate of the upper surface of the leaves(a) and stomatal density (/mm²) of lower surface (b). (SC: Stressed Cut, CC: Cutting Control, SG: Stressed Graft, GC: Grafted Control).



Otherwise, the impact of salinity on the length of stomata, particularly on the leaves of plants treated with 100 mM.l⁻¹ NaCl except for the plant type, is highly significant ($p = 0\%$). It is the same for the varietal effect and the different interactions. The width of the stomata had the same fate (Table 3). Indeed, the values of these parameters, shows that the length and width of stomata in the leaves of plants treated with 100 mM.l⁻¹ NaCl react differently.

The results presented in this study reveal a clear and consistent effect of salinity on wax deposition on the upper leaf epidermis, but with a strikingly different response depending on the mode of propagation (cutting vs. grafting) and the variety considered. This duality in response is not only biologically intriguing but also provides valuable insights into the adaptive strategies deployed by the olive tree, a species renowned for its hardiness and resilience in Mediterranean environments.

In non-grafted plants (cuttings), salinity induced a systematic increase in wax deposition across all varieties, although the magnitude of this increase varied considerably. The local varieties, Sigoise (+95 units) and Chemlal (+80 units), exhibited the most pronounced increases, suggesting a stronger capacity for cuticular reinforcement in response to osmotic stress. By contrast, the introduced varieties, Arbequina (+10 units) and Manzanilla (+5 units), showed only marginal increases, indicating a more limited capacity for this particular adaptive response.

This marked accumulation of epicuticular wax in local varieties under salt stress is consistent with a well-documented adaptive mechanism in woody perennials: the

reinforcement of the cuticular barrier to limit non-stomatal water loss (Hopkins, 2003; Hassani et al., 2014). In arid and semi-arid environments, where water availability is scarce and evaporative demand is high, the deposition of wax on the leaf surface constitutes a physical shield that reduces cuticular transpiration and helps maintain leaf hydration. This is particularly relevant in our study, as the same stressed cuttings also maintained relatively high relative water content (RWC), suggesting that the increase in wax is part of a coordinated water-saving syndrome.

The fact that local varieties (Sigoise and Chemlal) showed the strongest wax increase is noteworthy. These varieties have been cultivated for generations in Algerian conditions and have likely undergone natural and human selection for traits conferring resilience to local environmental constraints. Their ability to rapidly deposit wax under salt stress may reflect a genetic predisposition for cuticular reinforcement, making them particularly well-suited for cultivation in marginal or saline soils.

In stark contrast, grafted plants exhibited a systematic and substantial decrease in wax deposition under salinity stress, across all varieties. The reductions were considerable: Sigoise: (–75), Chemlal: (–70), Arbequina: (–45), Manzanilla: (–35).

At first glance, this result may seem counterintuitive. If salt stress induces water deficit, why would the plant not reinforce its cuticle, as observed in cuttings? The answer, we argue, lies in the biological function of grafting and the physiological signals transmitted from the rootstock to the scion.

In grafted plants, the rootstock (oleaster, in this case) is the first organ to perceive the osmotic stress caused by salinity. Upon perception, the root system can generate long-distance signals – including abscisic acid (ABA), hydraulic signals, and ionic signals – that travel through the xylem to the shoot (Hassani et al., 2014; Liu et al., 2024). These signals can redirect the plant's metabolic priorities. Instead of investing energy in the biosynthesis of wax (a costly process involving fatty acid elongation and transport), the plant may shift towards more rapid and reversible mechanisms, such as:

Stomatal closure, which provides an immediate reduction in transpiration.

Osmotic adjustment through the accumulation of compatible solutes (e.g., proline, sugars), which helps maintain cellular turgor without requiring morphological changes.

In this context, the reduction in wax deposition in grafted plants may be interpreted not as a failure to adapt, but rather as a strategic reallocation of resources towards more dynamic, physiologically based mechanisms. This interpretation aligns with recent findings in other woody species, where grafting has been shown to modulate stress responses by altering hormone balance and gene expression profiles (Shahid et al., 2021; Coccozza et al., 2020).

A consistent pattern emerges when comparing the two groups of varieties. The local cultivars (Sigoise and Chemlal) exhibit greater amplitude of variation in wax deposition, regardless of the propagation method. Whether increasing wax in cuttings or decreasing it in grafted plants, the local varieties show stronger responses to salinity than the introduced ones. This suggests a higher phenotypic plasticity, which is a valuable trait in variable and unpredictable environments. It allows the plant to fine-tune its morphology and physiology to match the prevailing stress intensity.

In contrast, the introduced varieties (Arbequina and Manzanilla) show more moderate variations. This relative stability may indicate a different adaptive strategy, possibly based on constitutive tolerance mechanisms that require less morphological adjustment. However, it may also reflect a narrower genetic background or a lower capacity for rapid acclimation to the specific saline conditions of the Algerian semi-arid environment.

It is worth noting that Manzanilla showed the smallest variation in wax deposition in both cuttings (+5) and grafted plants (–35), suggesting a particularly stable cuticular phenotype. Whether this stability represents an advantage or a limitation depends on the severity and duration of the stress. In mild or episodic stress, such stability may suffice; in chronic stress, greater plasticity may be more advantageous.

One might ask: is it normal that grafted plants reduce wax deposition under salt stress, given the olive tree's reputation for hardiness? The answer is yes, and this is precisely what makes the olive tree such a resilient species.

Rusticity in olive does not mean invulnerability or a single universal response. Rather, it signifies a broad repertoire of adaptive mechanisms that can be deployed depending on the plant's physiological state, developmental stage, and environmental context. The olive tree does not rely on a single trait to tolerate salinity; it possesses a multi-layered defense system that includes:

- Morphological adjustments (leaf area reduction, cuticle thickening, stomatal regulation).

- Physiological adjustments (osmotic adjustment, ion compartmentalization).

- Biochemical adjustments (antioxidant enzyme activity, compatible solute accumulation).

The fact that grafted plants reduce wax deposition does not indicate vulnerability; it indicates that they have switched strategies. They rely more heavily on stomatal control and osmotic adjustment, while reducing investment in the cuticular barrier. This flexibility is a hallmark of a truly resilient species – one that can adjust its resource allocation to achieve the most cost-effective stress mitigation under given conditions (Liu et al., 2024).

Moreover, the choice of oleaster as rootstock may itself play a role in this shift. Wild olive relatives are often more tolerant to abiotic stresses and may transmit to the scion a set of stress-related signals that favour physiological over morphological responses. This opens interesting perspectives for breeding programs aiming to improve salinity tolerance through rootstock selection.

Taken together, our results demonstrate that the response of olive leaves to salinity is not uniform but depends critically on the mode of propagation and the genetic background of the variety. Cuttings respond by reinforcing their physical barrier (wax deposition), while grafted plants adopt a more physiological strategy, reducing wax investment in favour of other stress-mitigation mechanisms. This dual strategy is consistent with the known rusticity of the olive tree and highlights the adaptive plasticity that makes this species so successful in the challenging environments of the Mediterranean basin.

Future research should investigate the hormonal and molecular signals underlying these divergent responses, particularly the role of ABA and other stress-related phytohormones in mediating the rootstock–scion communication. Additionally, the long-term performance of these different strategies under field conditions, where salinity may be combined with other stresses (drought, heat), deserves further attention to guide breeding and agronomic decisions in the context of climate change.

Table 4. Correlation effect between salinity and the leaf physio-morphological parameters.

Variable	Variété	plant	Salinity	RWC	Leaf area	Number stomata	Wax rate
Variety	1.000						
Type de plant	0.000	1.000					
Salinity	0.000	0.000	1.000				
RWC	-0.249*	0.147	0.058	1.000			
Leaf area	-0.421*	0.211	0.086	0.268*	1.000		
Number stomata	-0.022	0.043	0.825***	-0.088	-0.011	1.000	
Wax rate	-0.178	0.269*	0.383*	0.033	0.169	-0.221	1.000

***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05; insignificant: p>0.05.

4. DISCUSSION

Our study focuses on the irrigation of native and introduced (Spanish) olive trees with salt water at the rate of 6g / l of soluble salts, i.e. approximately 100 mM.l-1 of NaCl for 6 weeks. It enabled us to determine certain characteristics of the morpho-physiological behavior of this species under the salt stress. The water state of the plant,

expressed by the relative water content, was sensitive to the applied treatments ($r = -0.2$). Indeed, salt stress causes a decrease in the values of the relative water content. This parameter, is one of the criteria for evaluating abiotic stress tolerance because it indicates the state of turgescence of the plant tissues and its ability to maintain a level of hydration of the tissues. The last could guarantee the continuity of its metabolism and the water state of a plant can be expressed by its RWC (Morant-Manceau et al, 2004; Mehani et al., 2012, Liu et al., 2024).

The results obtained during our study demonstrate that the RWC of all the stressed varieties changed with the salinity. However, the reduction was quite small compared to the control (between 1 and 2%). Local varieties retained a higher RWC than the introduced ones. We also noted that saline treatment did not cause a significant reduction in water content. The analysis of the relative water content is a good indicator of the water status of the plant.

On the other hand, salinity is a complex phenomenon that often leads to osmotic stress due to reduced amounts of water available at the root level, due to the reduced ability of plants to absorb water. The immediate response to salt stress is expressed by a reduction in leaf area as was noted by (Wang and Nil, 2000) and that decreased vegetative growth, expressed as leaf area reduction. Leaf area is generally the first response of glycophytic exposed to saline stress (Munns et al., 2006).

We observed that the decrease in the leaf area of all the genotypes studied shown only a slight drop which was between 1 and 2% compared to the control. This was confirmed by the results of the analysis of the correlation matrix between variety and leaf area ($p = -0.421$, see Table 4). For cuttings and grafted plants, it was found that grafted and stressed local ecotypes showed an increase in leaf area compared to the control, and cuttings and stress decreased leaf area compared to control (less 1.1 cm² at the control). Thus, decreasing of leaf area was considered as a form of adaptation to salt stress, by reducing water losses through perspiration, but it may also cause a decrease in yields due to the reduction of photosynthesis (Acevedo, 1991; Hassani et al., 2008).

The stomatal density of leaves of all stressed genotypes decreased compared to that of no salt (Fig. 4). Moreover, this decrease was greater in the ecotypes obtained from herbaceous cutting (it was 65% for Sigoise, 52.78% for Chemlal, 54.29% for Arbiquina, and 75% for Manzanilla) than those grafted (69% for Sigoise, 34.01% for Chemlal, 45.31% for Arbiquina, and 43.2% for Manzanilla). According to Guyot (1998), stomatal transpiration accounts for 90% of total sweating for 24 hours.

The opening and closing of the stomata are controlled by the turgidity of their guard cells, which depend on soil and air moisture, sheet temperature, incident radiation,

wind and concentration CO₂ in the air as well as in the chamber under stomatal conditions (Hassani et al., 2014). However, whenever the plant reduces its transpiration by closing the stomata, it causes the reduction of the production of dry matter following the reduction of the chlorophyll assimilation (Zhang and Shi, 2013).

Moreover, obtained results show a strong positive relationship between salt stress and stomatal density in the lower leaf epidermis. Indeed, the high correlation obtained between salinity and stomatal density ($r = 0.825$, $p < 0.001$) shows that the presence of NaCl leads to an increase in the number of stomata, which is not logical when we know that they are small stomata to reduce water losses and increase the RWC.

According to Erchidi et al. (2000), plants that live in dry environments have many stomata with small sizes and that the presence of small and large stomata allows a much more effective regulation of sweating than that of large and small stomata and the increase in the number of stomata per unit area could be one of the factors of resistance to water deficit if accompanied by a good physiological activity (Slama et al., 2005).

The increase in stomatal density can increase the net assimilation of CO₂ and decrease the loss of water. In fact, many small stomates are fast closing (Heller et al., 2004).

In addition, Hopkins (2003) established the relationship between transpiration and stomatal resistance in *Arabidopsis thaliana* by increasing this resistance during salt stress, to minimize water loss and sweating, becomes more important in the case of thin cuticle leaves.

According to our results, the stressed genotypes have cuticles thicker than those under normal conditions that can explain the resistance of our plants by keeping their leaves throughout the duration of the stress applied.

5. CONCLUSION

The morpho-physiological parameters of the leaf, retained in this study, would be closely involved in the regulation of the water state of the leaf tissues. Salt resistance is a polygenic character that can be controlled at different levels of organization, from the cell to the entire plant. However, the diversity of salt effects on plants offers a wide range of physiological and biochemical criteria that can be the basis for rapid testing for large-scale selection. Application of salt water resulted in a reduction in RWC (relative water content), but relatively higher compared to other plants subjected to the same salt stress. This characteristic can be attributed to the osmotic fit of the stressed plant. This control of the hydration reveals a good ability to adjust the osmotic potential in the olive tree in general and especially in the varieties studied. For this purpose, it can be deduced that the

varieties of olive trees studied have retained a high RWC in the presence of saline stress, indicating that this plant is of the “stay green” type, which keeps synthetically active green and photo leaves, have reasonable yields even in the presence of abiotic stress.

Under arid climates and in conditions of ionic stress accompanied by osmotic stress, the plant must maintain a dynamic balance between the opening and closing of the stomata. This activity allows it to increase the fixation of the carbon and a better transpiration thus avoiding the overheating of the plant. In Mediterranean regions, physiological drought (due to excess salinity), is often chronic, resulting in a decrease in photosynthesis. Our results showed that all the varieties studied under the effect of salinity, developed a thick cuticle compared to those under normal conditions, that decreasing leaf transpiration. This develops the resistance of the olive tree in general and especially the studied genotypes that keep their leaves during the applied stress. The results obtained in this study show that the olive tree is a salinity-resistant plant that is a characteristic of arid and semi-arid areas. Olive trees, then, is a promising alternative to improve the productivity of marginalized lands.

REFERENCES

- Álvarez, S., Soriano, M.A., Landa, B.B., Gómez, J.A. (2007). Soil properties in organic olive groves compared with that in natural areas in a mountainous landscape in southern Spain. *Soil Use and Management*, 23, 404-416. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2007.00104.x>
- Balasubramaniam, T., Logeswaran, J., Pandiaraj, K., & Veerasamy, R. (2023). Plants' response mechanisms to salinity stress: An update. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1016272. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1016272>
- Barrs, H.D. & Weatherley, P.E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 412-428. <https://doi.org/10.1071/B19620413>
- Bartels, D. & Sunkar, R. (2005). Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23-58. <https://doi.org/10.1080/07352680590910410>
- Belkhodja, M. & Bidai, Y. (2004). Réponse de la germination des graines d'*Atriplex halimus* L. sous stress salin. *Sécheresse*, 15(4), 331-335.
- Ben-Gal, A., Borochoy, H., Yermiyahu, U., Shan, I.U. (2009). Osmotic potential is a more appropriate property than EC for evaluating whole-plant response to salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 65, 232-237. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.09.006>
- Bennaceur, M., Rahmoun, C., Sdiri, H., Medahi, M., Selmi, M. (2002). Effect of salt stress on the germination, growth and yield of wheat. *Sécheresse*, 12(3), 167-174.
- Besnard, G., Khadari, B., Baradat, P., Bervillé, A. (2002). *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theoretical and Applied Genetics*, 104, 1353-1360. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0832-x>

Chowdhury, N., Marschner, P., Burns, R. (2011). Response of microbial activity and community structure to decreasing soil osmotic and matric potential. *Plant and Soil*, 344, 241-254. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0743-9>

Clarke, J.M. & McCaig, T.N. (1982). Excised-leaf water retention capability as an indicator of drought resistance of *Triticum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Science*, 62, 571-578. <https://doi.org/10.4141/cjps82-086>

Cocozza, C., Brilli, F., Pignattelli, S., Pollastri, S., Brunetti, C., Gonnelli, C., Tognetti, R., Centritto, M., & Loreto, F. (2020). The excess of phosphorus in soil reduces physiological performances over time but enhances prompt recovery of salt-stressed *Arundo donax* plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.04.011>

Denden, M. & Lemeur, R. (1999). Mesure de la transpiration par le modèle de Penman-Monteith. *Sécheresse*, 10, 39-44.

Devkota, K., Devkota, M., Rezaei, M., & Oosterbaan, R. (2022). Managing salinity for sustainable agricultural production in salt-affected soils of irrigated drylands. *Agricultural Systems*, 196, 103345. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103345>

Dohman, A.J., Gash, J.H.C., Roberts, J., James, W. (1991). Stomatal and surface conductance of tropical rainforest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 54, 303-318. [https://doi.org/10.1016/0168-1923\(91\)90011-E](https://doi.org/10.1016/0168-1923(91)90011-E)

Erchidi, A.E., Benbella, M., Talouizte, A. (2000). Relation entre des paramètres contrôlant les pertes en eau et le rendement grain chez neuf variétés de blé soumis au stress hydrique. *Cahiers Options Méditerranéennes, Série A*, 40, 279-282.

Garg, A.K., Kim, J., Owens, T., Ranwala, A., Choi, Y., Kochian, V., Wu, R.J. (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99, 15898-15903. <https://doi.org/10.1073/pnas.252637799>

Gharabi, D., Bellhabib, A., & Hassani, A. (2022). Morphological and biochemical behavior of the olive tree in semi-arid areas of Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 12(3). [https://doi.org/10.38150/sajeb.12\(3\).p398-406](https://doi.org/10.38150/sajeb.12(3).p398-406)

Grennan, A.K. (2006). High Impact Abiotic Stress in Rice. An “Omic” Approach. *Plant Physiology*, 140, 1139-1141. <https://doi.org/10.1104/pp.104.900188>

Hassani, A., Dellal, A., Belkhodja, M., & Kaid-Harch, M. (2008). Effet de la salinité sur l'eau et certains Osmolytes chez l'Orge (*Hordeum vulgare*). *European Journal of Scientific Research*, 23(1), 61-69.

Hassani, A., Gharabi, D., Kouadria, M., Bounaceur, F., Sehari, N., Belkhodja, M. (2014). Impact of salt stress on morphological and physical behavior of the foliar system by cultivating olive and wild olive trees. *International Journal of Plant & Soil Science*, 3(12), 1542-1551.

Heller, R., Esnault, R., Lance, C. (2004). *Physiologie végétale, Tome 1 – Nutrition*. Dunod, Paris.

Hoagland, D.R. & Arnon, D.I. (1938). The water culture method for growing plants without soil. *University of California, Agricultural Experimental Station Circular*, 347, 1-39.

Hopkins, W.G. (2003). *Physiologie végétale* (Traduction de la 2e édition américaine par S. R.). De Boeck, p. 66-81.

Lindsay, M.P., Lagudah, E., Munns, R. (2004). A locus for sodium exclusion (Nax1), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. *Functional Plant Biology*, 31, 1105-1114. <https://doi.org/10.1071/FP04111>

Liu, X., Elzenga, J. T. M., Venema, J. H., & Tiedge, K. J. (2024). Thriving in a salty future: morpho-anatomical, physiological and molecular adaptations to salt stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) and other crops. *Annals of Botany*, 134(7). <https://doi.org/10.1093/aob/mcae152>

Martoja, M. & Martoja, R. (1968). *Initiation aux techniques d'histologie*. Masson, Paris.

Mehani, M., Bissati, S., Djeroudi, Q. (2012). Effet de l'eau de mer sur deux paramètres hydriques de jeunes plants d'*Atriplex canescens*. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5, 840-845.

Moinuddin, A., Fischer, R., Savre, K., Reynolds, M.P. (2005). Osmotic Adjustment in Wheat in Relation to Grain Yield under Water Deficit Environments. *Agronomy Journal*, 97, 1062-1071. <https://doi.org/10.2134/agronj2004.0152>

Morant-Manceau, A., Pradier, E., Tremblin, G. (2004). Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 161, 25-33. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00963>

Munns, R., Richard, A.J., Lauchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1025-1043. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj100>

Pages, L., Asseng, S., Pellerin, S., Diggle, A. (2000). Modelling root system growth and architecture. In *Root Methods: A Handbook* (pp. 113-146). Springer, Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04188-8_4

Rascio, A., Cedola, M., Sorrentino, G., Wittmer, G. (1988). Pressure volume curves and drought resistance in two wheat genotypes. *Physiologia Plantarum*, 73, 122-127. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1988.tb09202.x>

Setia, R. & Marschner, P. (2012). Carbon mineralization in saline soils as affected by residue composition and water potential. *Biology and Fertility of Soils*, 48(4), 475-479. <https://doi.org/10.1007/s00374-011-0643-4>

Slama, A., Ben Salem, M., Ben Naceur, M., Zid, E. (2005). Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. *Sécheresse*, 16, 225-229.

Szabolcs, I. (1994). Soils and salinization. In *Handbook of Plant and Crop Stress* (pp. 3-11). M. Pessarakali (Ed.). Marcel Dekker, New York.

Trinchant, J.C., Boscari, A., Spennato, G., Van de Sype, G., Le Rudulier, D. (2004). Proline-Betaine Accumulation and Metabolism in Alfalfa Plants under NaCl Stress. Exploring Its Compartmentalization in Nodules. *Plant Physiology*, 135, 1583-1594. <https://doi.org/10.1104/pp.103.037556>

Wang, Y. & Nil, N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75, 623-627. <https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511297>

Zhang, J.L. & Shi, H. (2013). Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. *Photosynthesis Research*, 115, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9813-6>

Zhu, J.-K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*, 6(2), 66-71. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01838-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01838-0)

CAPÍTULO 3

COMPONENTES FISIOLÓGICOS DE ZINNIA (*Zinnia elegans* L.) EN HIDROPONÍA BAJO EL MÉTODO KRATKY

Data de submissão: 20/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Edgar Javier Morales Morales

Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Ciencias Agrícolas
Toluca, Estado de México. México
<https://orcid.org/0000-0002-0608-9689>

Itzel Guadalupe Núñez Andrade

Centro de Investigación y Asistencia en
Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco
subsede sureste
Merida, Yucatán, México
<https://orcid.org/0009-0004-6285-0112>

Gabriela Berenice Vilchis Granados

Universidad Autónoma del Estado de México
Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales
Toluca, Estado de México. México
<https://orcid.org/0000-0001-6571-0554>

Edgar Jesús Morales Rosales

Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Ciencias Agrícolas
Toluca, Estado de México. México
<https://orcid.org/0000-0003-2562-0049>

RESUMEN: El presente estudio evaluó la viabilidad agronómica de *Zinnia elegans* cultivada bajo el sistema hidropónico de

Kratky, buscando optimizar sus parámetros fisiológicos mediante la interacción de diferentes concentraciones nutrimentales y fitorreguladores. El experimento se estableció bajo condiciones de cielo abierto implementando un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial 3x2. Se evaluaron tres concentraciones de solución nutritiva Steiner (insaturada a 500 mg l⁻¹, estándar a 1000 mg l⁻¹ y sobresaturada a 1500 mg l⁻¹) y dos dosis de ácido giberélico (0 y 20 mg l⁻¹), generando un total de seis tratamientos. Los resultados fisiológicos evaluados a los 90 días demostraron que la concentración de la solución nutritiva es un factor crítico. Los tratamientos con solución insaturada provocaron deficiencias nutricionales severas, particularmente de nitrógeno, derivando en clorosis y senescencia prematura de las plántulas, las cuales no alcanzaron la madurez comercial. En contraste, las plantas sometidas a soluciones sobresaturadas mostraron un desarrollo deficiente atribuido a fitotoxicidad; el exceso salino inhibió la expansión radicular, redujo la altura y el área foliar, y prolongó la fase vegetativa, retrasando la formación de botones florales. El análisis de varianza y las pruebas de comparación de medias indicaron que el tratamiento de solución Steiner estándar complementado con 20 mg l⁻¹ de ácido giberélico arrojó los valores más altos en todas las variables productivas. Esta combinación maximizó la biomasa seca, el desarrollo vegetativo y aceleró significativamente la

inducción reproductiva. Se concluye que la producción de zinnias mediante el método Kratky es comercialmente viable y altamente eficiente, siendo indispensable mantener una nutrición estándar equilibrada y apoyarse en giberelinas para asegurar un óptimo rendimiento floral.

PALABRAS CLAVE: nutrición vegetal; solución steiner; ácido giberélico.

PHYSIOLOGICAL COMPONENTS OF ZINNIA (*Zinnia elegans* L.) IN HYDROPONICS USING THE KRATKY METHOD

ABSTRACT: This study evaluated the agronomic viability of *Zinnia elegans* grown using the Kratky hydroponic system, aiming to optimize physiological parameters through the interaction of varying nutrient concentrations and plant growth regulators. The experiment was conducted outdoors using a randomized complete block design with a 3x2 factorial arrangement. Three concentrations of Steiner nutrient solution (unsaturated at 500 mg l⁻¹, standard at 1000 mg l⁻¹, and supersaturated at 1500 mg l⁻¹) and two doses of gibberellic acid (0 and 20 mg l⁻¹) were evaluated, resulting in six treatments. Physiological results assessed at 90 days demonstrated that nutrient solution concentration is a critical factor. Treatments with the unsaturated solution caused severe nutritional deficiencies, mainly of nitrogen, leading to chlorosis and premature senescence of the seedlings, which failed to reach commercial maturity. In contrast, plants exposed to supersaturated solutions exhibited poor development attributed to phytotoxicity; excess salinity inhibited root expansion, reduced plant height and leaf area, and prolonged the vegetative phase, thereby delaying flower bud formation. Analysis of variance and mean comparison tests indicated that the standard Steiner solution supplemented with 20 mg l⁻¹ of gibberellic acid yielded the highest values across all production variables. This combination maximized dry biomass and vegetative development while significantly accelerating reproductive induction. It is concluded that zinnia production using the Kratky method is commercially viable and highly efficient, provided that balanced standard nutrition is maintained and gibberellins are utilized to ensure optimal floral yield.

KEYWORDS: plant nutrition; steiner solution; gibberellic acid.

1. INTRODUCCIÓN

El concepto de “producción de horticultura ornamental” ha cambiado a lo largo de los años; en primera instancia, su propósito era el de obtener plantas consideradas estéticamente bellas (SAGARPA, 2001), sin importar las trazas de agroquímicos o la contaminación residual al medio ambiente. Actualmente, las características orgánicas y agroecológicas son algunas de las más solicitadas por los consumidores en el mercado nacional e internacional (SADER, 2024).

En años recientes, se ha buscado innovar en las llamadas *tecnologías verdes*, consideradas menos invasivas al medio ambiente y que ofrecen, a su vez, productos de calidad que dejan una menor huella hídrica o de carbono; dentro de estas tecnologías se encuentran los sistemas hidropónicos, definidos como sistemas de cultivo sin suelo,

que a su vez pueden ser cerrados o circulantes, que ayudan en la reducción de agua y nutrientes utilizados (Salazar-Moreno et al., 2014). Algunas de las características de estos sistemas son: disminución del uso de soluciones nutritivas, eficiencia de espacios y menor tiempo en los procesos de producción.

Una de las técnicas hidropónicas más utilizadas es la denominada Kratky; de acuerdo con Urriola y colaboradores (2025), se trata de un sistema que utiliza un recipiente estático que se adiciona con agua y nutrientes sobre el cual se sustenta la planta debido a que sus raíces siempre están en contacto con la solución acuosa, sin la necesidad del uso de bombas de agua, bombas de aire ni electricidad. La solución nutritiva más utilizada en sistemas hidropónicos es la solución Steiner, por su contenido de nutrientes, por presentar equilibrio iónico y por su rápida asimilación (Buelna-Tarín et al., 2024).

Como causa de la actual crisis climática a la que se enfrenta el mundo, así como la reducción de zonas agrícolas derivado del incremento de la mancha urbana, se ha buscado la forma de mejorar las producciones de cultivos hortícolas, forrajeros y ornamentales. Al respecto de este punto, Ramírez-Hernández y Avitia Rodríguez (2017), señalan que el sector floricultor se encuentra en un punto de inflexión, a partir de la apertura de mercados potenciales y la generación de nuevos segmentos en mercados ya conocidos.

La floricultura está impulsada por las novedades, lo que exige la entrada constante de nuevos productos en el mercado; por ejemplo, *Zinnia elegans* resulta llamativa para su producción, tanto por sus colores llamativos, como por su largo ciclo de floración. También destaca su sensibilidad a las bajas temperaturas, su resistencia a la sequía y a la salinidad, y su fácil propagación (Sedaghathoor y Zakibakhsh-Mohammadi, 2019).

Por lo anterior, en la presente investigación, se estableció un experimento para la producción de plantas de zinnia bajo el sistema hidropónico de Kratky, utilizando como solución nutritiva base una solución Steiner.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo durante el año 2023 en el municipio de Metepec, Estado de México, bajo condiciones de cielo abierto; Metepec se ubica a 2600 m.s.n.m., tiene un clima templado subhúmedo de montaña con lluvias en verano. La temperatura promedio anual ronda los 13 °C a 15 °C, variando habitualmente entre 7 °C y 27 °C a lo largo del año y con precipitaciones anuales de entre 800 y 1,100 mm.

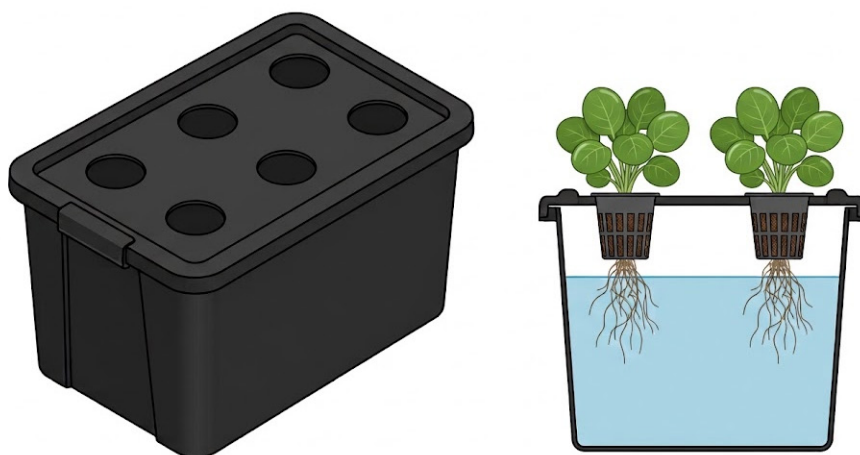
Tabla1. Formulaciones de los tratamientos experimentales.

Tratamiento	Solución Steiner (mg)	ácido Giberelico (mg)
1 Insaturado	500	20
2 Insaturado	500	0
3 Estándar	1000	20
4 Estándar	1000	0
5 Sobresaturado	1500	20
6 Sobresaturado	1500	0

Se estableció un experimento de bloques completos al azar con arreglo factorial de 3x2, con 2 niveles de uso de ácido giberélico (0 y 20 mg l⁻¹) y 3 niveles de concentración de solución Steiner (insaturada, normal y sobresaturada con 500, 1000 y 1500 mg l⁻¹ respectivamente), tendiendo 6 tratamientos y 3 repeticiones para cada tratamiento (Tabla 1), utilizando el sistema hidropónico kratky como base de producción. El experimento constó de 18 camas de siembra las cuales fueron elaboradas con cajas de plástico opaco capacidad de 72 litros; a cada una de las camas se realizaron orificios de 3 pulgadas de diámetro para permitir el soporte de las canastillas hidropónicas. Cada orificio tuvo una separación de 1.5 pulgadas (Figura 1).

Las semillas de zinnia fueron germinadas utilizando espuma agrícola hidropónica (peatfoam), y fueron trasplantadas a los sistemas hidropónicos una vez que las plántulas presentaban un par de hojas verdaderas completamente expuestas. El trasplante se hizo colocando una plántula en cada canastilla hidropónica. Se realizaron muestreos una vez que la planta alcanzó su madurez comercial (con las flores completamente expuestas), aproximadamente 90 días después de la siembra. Se analizaron los datos mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey de comparación de medias con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$).

Figura 1.- Esquema del modelo de sistema hidropónico kratky para el establecimiento del experimento. Elaboración propia.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la realización de este proyecto de investigación los tratamientos correspondientes a solución insaturada (500 mg l^{-1}) no llegaron a la etapa de madurez comercial, quedándose en el estado de plántulas y senesciendo posteriormente. Esto se puede deber al factor de la concentración de solución steiner en los tratamientos, ya que las plántulas no obtuvieron los nutrientes necesarios para poder tener un buen desarrollo. Por otro lado, los tratamientos estándar y sobresaturado si lograron llegar a la etapa adulta de la planta.

Figura 2a) desarrollo de zinnia en solución insaturada; 2b) desarrollo de zinnia en solución estándar; 2c) desarrollo de zinnia en solución sobresaturada (elaboración propia).



A) Insaturado



B) Estándar



C) Sobresaturado

Como se observa en la figura 2 a) las plántulas desarrolladas en solución insaturada no alcanzaron el desarrollo completo presentando clorosis en las hojas debido a la falta de nutrientes en la solución nutritiva, particularmente de N, por otro lado, en las figuras 2b y 2c, se observan plantas de zinnia con un correcto desarrollo fisiológico.

Tabla 2. Tabla de Tukey de comparación de medias de los factores de estudio. Letras diferentes en cada columna para cada factor de estudio indica diferencias estadísticas significativas. *** ($p \leq 0.05$). NS: no significativo.

Tratamiento (Solución Steiner / ácido giberelico)		Tamaño de raíz (cm)	Altura de planta (cm)	Número de botones	Area foliar (cm2)	índice de clorofila	Peso seco (g)
		***	***	***	***	ns	***
Estándar con giberelinas	500 mg / 20 mg	22.90a	35.50a	5.2a	320.34a	37.85a	4.19a
Estándar sin giberelinas	500 mg / 0 mg	24.80a	36.01a	1.1b	224.53b	35.31a	3.49b
Saturado con giberelinas	1000 mg / 20 mg	17.35b	15.95b	1.3b	137.59c	40.07a	3.62b
Saturado sin giberelinas	1000 mg / 0 mg	15.80b	15.50b	0.4b	114.33c	40.28a	1.62c

3.1. TAMAÑO DE RAÍZ

Desde un punto de vista fisiológico, la raíz representa por sí mismo el primer contacto que tendrá la planta para la nutrición vegetal. La zinnia presenta un sistema radicular fibroso y llega a tener un crecimiento de 13 cm hasta 50 cm en macetería, sin embargo, en cultivos de corte llegan a tener un crecimiento mayor con 70 cm.

El sistema hidropónico kratky influyó en el desarrollo radicular de los 4 tratamientos, ya que, pese a que todos tuvieron la misma cantidad de oxigenación, los tratamientos con solución estándar tuvieron que desarrollar más su sistema radicular, probablemente por una menor disponibilidad de nutrientes, respecto a los tratamientos sobresaturados; por otra parte, los tratamientos sobresaturados presentaron un menor desarrollo radicular debido a una mayor disponibilidad de solución nutritiva. En todos los casos, un menor desarrollo radicular bajo los sistemas hidropónicos respecto a métodos tradicionales es notable debido a la falta de anclaje de las plantas al medio.

3.2. ALTURA DE PLANTA

En general, las especies vegetales responden a la cantidad de agua aplicada, así como la nutrición adecuada, pero en el caso de las plantas ornamentales, incluidas las flores cortadas, no sólo la cantidad de tallos producidos, sino también la calidad final es fundamental para la comercialización del producto (Cabrera et al., 2017). En el caso

específico de las zinnias, la altura variará debido a que existen zinnias de macetería y de corte. Las zinnias enanas no exceden de los 15 cm mientras que las zinnias de corte pueden llegar hasta los 90 cm de altura.

Los tratamientos con mayor desarrollo fueron los que contenían solución estándar, mientras que los tratamientos con solución sobresaturada presentaron un menor crecimiento de planta (Tabla 2). Según López-Espinoza (2013), los tallos representan a la vez un importante consumidor de recursos minerales para sustentar la producción de tejidos vasculares y accesorios, la actividad del cambium, el crecimiento, y el almacenamiento de reservas.

La cantidad de nutrientes absorbidos por una planta se obtiene de la relación entre el peso seco de los tejidos y la concentración de nutrientes en los mismos. La fitotoxicidad es un término que se emplea para describir el grado de efecto tóxico producido por una mezcla de aspersión o compuesto determinado que causa desordenes fisiológicos en las plantas y que se traduce en alteraciones del aspecto, crecimiento, vigor, desarrollo y productividad de las plantas.

En este caso es posible que los resultados de los tratamientos saturados se deban a que la planta excedió la cantidad de nutrientes absorbidos hasta no desarrollar más el crecimiento vegetal; mientras que los tratamientos estándar no excedieron ese límite, y por ende, tuvieron un desarrollo mayor.

3.3. NÚMERO DE BOTONES FLORALES

El botón floral se refiere a los tejidos jóvenes que se convierten en flores e inflorescencias en las ramas de las plantas. Es el embrión de una flor que se desarrolla a partir de un punto de crecimiento en el tallo (Ríos- Florida et al., 2022). Actualmente uno de los principales parámetros que buscan los consumidores en plantas ornamentales florales como la zinnia es el número de botones florales, ya que esto será un indicio del número de flores que aparecerán en la planta adulta.

El tratamiento que mostró una mejor respuesta fue el que contenía solución estándar con ácido giberélico, mientras que el resto de los tratamientos no mostraron diferencias significativas (Tabla 2). El ácido giberélico es un fitorregulador de crecimiento que desempeña roles importantes en la germinación de semillas, elongación de tallos, y principalmente en la inducción de la floración (Peng et al., 2020).

Se puede afirmar que la aplicación de ácido giberélico en conjunto con una nutrición estándar dan los valores más altos respecto a la producción de botones florales. Los tratamientos con soluciones sobresaturadas inhiben el desarrollo de botones florales

probablemente debido a que, por el exceso de nutrimentos, se extiende el desarrollo vegetativo de las zinnias y, por lo tanto, se retrasa la fase reproductiva.

3.4. ÁREA FOLIAR

El área foliar (AF) es una variable importante en la mayoría de los estudios agrícolas y fisiológicos involucrados en el crecimiento vegetal, captación de luz, eficiencia fotosintética, respiración, transpiración y respuesta al riego y a la fertilización (Morales-Rosales et al., 2013).

El tratamiento con solución estándar y ácido giberélico presentó una mayor superficie de respuesta respecto a los demás tratamientos (Tabla 2). La aplicación de ácido giberélico no solo influyó en la promoción de botones florales, sino que, como se mencionó anteriormente, las giberelinas también promueven el desarrollo de tallos y hojas. Esto incide en una mayor producción de hojas respecto con el tratamiento de solución estándar sin aplicación de ácido giberélico. Por otra parte, los tratamientos con soluciones sobresaturadas presentaron una menor producción foliar probablemente debido a un efecto similar a lo ocurrido con la variable de altura de planta; un exceso de nutrimentos disminuye el desarrollo vegetativo en medida de un aumento en la disponibilidad de nutrimentos.

3.5. ÍNDICE DE CLOROFILA

Actualmente, los análisis de intensidad del verde de las hojas ha sido una técnica muy utilizada en la evaluación del contenido de nitrógeno en una planta por el hecho de existir correlación directa entre la intensidad del verde y el contenido de clorofilas con la concentración de nitrógeno en la hoja, pues el nitrógeno participa de la constitución de estas moléculas. El índice SPAD (Soil Plant Analysis Development) obtenido por el clorofilómetro portátil SPAD-502 es proporcional a la cantidad de clorofila presente en la hoja (Ribeiro de Cunha et al., 2016). Una mayor cantidad de verdor en las plantas representa un buen sistema fotosintético que permite a las plantas generar biomasa para continuar su crecimiento y desarrollo.

No obstante, en esta variable no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2). La aplicación de solución Steiner en cantidades estándar y sobresaturadas, proporcionan una buena disponibilidad de N a las plantas, que permitió una correcta absorción por parte de las plantas y una buena síntesis de moléculas de clorofila. Si bien el verdor fue ligeramente mayor en los tratamientos con solución sobresaturada, esta diferencia no es significativa estadísticamente, por lo que un

incremento de disponibilidad de nutrimentos no influye en la acumulación de clorofilas en hojas de zinnia.

3.6. PESO SECO

El peso seco en las plantas representa la cantidad total de materia orgánica y sólida acumulada tras eliminar por completo el agua de sus tejidos. Funciona como el indicador real de la biomasa producida, ya que el peso fresco cambia de forma constante según la cantidad de agua que absorbe la planta.

El tratamiento con solución estándar y ácido giberélico presentó los valores más altos en relación con el peso seco (Tabla 2). Esto es debido a una mayor producción de biomasa vegetal, como se observó en las variables de altura de planta y área foliar.

Similar a las demás variables, un incremento en la disponibilidad de nutrientes en zinnia incide en un menor crecimiento vegetativo y, por ende, en la producción de biomasa. Asimismo, el uso de giberelinas puede promover no solo la producción floral, sino también el desarrollo de tallos y hojas, por lo que se puede apreciar que los tratamientos sin aplicación de giberelinas tienen una menor superficie de respuesta respecto a los tratamientos que sí tuvieron aplicación.

4. CONCLUSIONES

De acuerdo con las pruebas fisiológicas realizadas en este trabajo de investigación, se puede afirmar que es posible y viable la producción de zinnias utilizando el método hidropónico de kratky, tanto para flores de corte como de macetería. La cantidad de solución nutritiva es un factor crítico en este sistema de producción. Cantidades insuficientes de solución provocan que cultivos como zinnias no desarrollen de forma correcta, provocando achaparramiento, clorosis y muerte de la planta. Por otra parte, soluciones saturadas de solución nutritiva pueden provocar indicios de fitotoxicidad, pues se ven disminuidos los parámetros fisiológicos de las zinnias. Por otra parte, el uso de giberelinas como fitoreguladores de crecimiento para inducción de floración puede acelerar el cambio de desarrollo vegetativo a desarrollo reproductivo de la planta, ayudando a acelerar la aparición de flores. No obstante, la relación que hay entre los fitoreguladores y la solución nutritiva también determina la velocidad de este cambio en el desarrollo y, por ende, la aparición de flores. En este sentido, el tratamiento de solución estándar y aplicación de ácido giberélico es el que presenta una mayor superficie de respuesta estadística en todas las variables, por lo cual, es el tratamiento recomendado para la producción de zinnia bajo el método de kratky.

BIBLIOGRAFÍA

Cabrera, R.I., A.R. Solís-Pérez & C.A. Gómez G. 2017. Aplicaciones de nutrición vegetal en cultivos de flor de corte. En: Flórez R., V.J. (Ed.). Consideraciones sobre producción, manejo y poscosecha de flores de corte con énfasis en rosa y clavel. Bogotá: Editorial Universidad Nacional de Colombia. pp. 33-47.

Buelna-Tarín, S., Romero-Félix, C. S., Bojórquez-Ramos, C., Lugo-García, G. A., & Sánchez-Soto, B. H. (2024). Bioestimulantes y solución Steiner en crecimiento y producción de *Capsicum annuum* L. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 15(5), <https://doi.org/10.29312/remexca.v15i5.3255>

Lopez-Espinoza, G. E. 2013. Fertilización nitrogenada y monitoreo del contenido de clorofila mediante el uso del ccm 200 plus en el cultivo de maíz en la comunidad de la Vega Marale, Francisco Morazán. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Agricultura. Ctamacas, Honduras. Disponible en: <https://amanglana.unag.edu.hn/jspui/bitstream/123456789/1143/1/GERSON%20ELI%20L%C3%93PEZ%20ESPINOZA.pdf>

Morales-Rosales E. J., Franco-Mora, O. & González-Huerta A. 2013. Snap bean production using sunflowers as living trellises in the central high valleys of Mexico. *Cien. Inv. Agr.* 38: 53-63.

Peng, X., Zhao, W., Wang, Y., Dai, K., Cen, Y., Liu, Z., & Zheng, Y. (2020). Enhancement of gibberellic acid production from *Fusarium fujikuroi* by mutation breeding and glycerol addition. *3 Biotech*, 10(312), 1-10. DOI:10.1007/s13205-020-02303-4

Ramírez Hernández, J. J. & Avitia Rodríguez, J. A. 2017. Floricultura Mexicana en el Siglo XXI: Su Desempeño en los Mercados Internacionales. *Revista de Economía. Universidad Autónoma de Yucatán*. 34(88). DOI: <https://doi.org/10.33937/reveco.2017.83>

Ribeiro da Cunha, A., Katz, L., De Pádua-Souza, A & Martínez Uribe, R. A. 2015. Índice SPAD en el crecimiento y desarrollo de plantas de *lisianthus* en función de diferentes dosis de nitrógeno en ambiente protegido. *Idesia (Arica)*. 33. 97-105. DOI: 10.4067/S0718-34292015000200012.

Rios-Florida, Lizeth Gabriela, De La Cruz-Guzmán, Gumercindo Honorato, Arriaga-Frías, Alberto, & Mandujano-Piña, Manuel. (2022). Efecto de paclobutrazol y *Glomus intraradices* en el cultivo de *Lilium cv. Armandale* y *Tesor*. *Siembra*, 9(2), DOI: <https://doi.org/10.29166/siembra.v9i2.3978>

SADER [Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural]. 2024. Informe de avances y resultados del programa sectorial de agricultura y desarrollo rural 2022-2024. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/829474/Informe_de_Avance_y_Resultados_2022_PAgricultura.pdf

SAGARPA [Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación]. 2001. Evaluación de la alianza para el campo 2001. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.mx/sites/default/files/sagarpa/document/2018/11/20/1548/20112018-2001-fa-mch-deho.pdf>

Salazar-Moreno R., Rojano Aguilar A., & Lopez-Cruz I.L. 2014 La eficiencia en el uso del agua en la agricultura controlada. *Tecnología y ciencias del agua*. 5(2). 177-183. Disponible en: <https://www.revistatyc.org.mx/index.php/tyca/article/view/472/pdf>

Sedaghatpour, S. & Zakibakhsh-Mohammadi, P. 2019. Efecto del momento de aplicación y de las cantidades de progesterona de mamíferos y ácido giberélico sobre el crecimiento de *Zinnia elegans*. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 25(1), 61-73. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.08.017>

Urriola, J., De León, O., & de Brea, E. R. (2025). Hidroponía: relevancia en la gestión y producción de alimentos como estrategia de agonegocio y desarrollo sostenible. *Revista Multidisciplinar Innova Scientia*, 1(1), 14-22. DOI: <https://doi.org/10.70625/rmis/209>

CAPÍTULO 4

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ESTRÉS POR ZINC EN EL PERFIL FENOTÍPICO Y FITOQUÍMICO DE AGAVE SALMIANA CULTIVADO EN SISTEMAS DE INMERSIÓN TEMPORAL¹

Data de submissão: 10/09/2026

Data de aceite: 21/09/2026

Jorge Quiroz Casanova

Tecnologico de Monterrey
Escuela de Ingeniería y Ciencias
Monterrey, Nuevo León, México
<https://orcid.org/0009-0007-7098-3312>

Ian Abigail Estrada Castilla

Tecnologico de Monterrey
Escuela de Ingeniería y Ciencias
Monterrey, Nuevo León, México

Ivanna Guillen Barraza

Tecnologico de Monterrey
Escuela de Ingeniería y Ciencias
Monterrey, Nuevo León, México

Karla Lizbeth Chávez Rivera

Tecnologico de Monterrey
Escuela de Ingeniería y Ciencias
Monterrey, Nuevo León, México
<https://orcid.org/0009-0006-5351-7742>

César Armando Puente Garza

Tecnologico de Monterrey
Escuela de Ingeniería y Ciencias
Monterrey, Nuevo León, México
<https://orcid.org/0000-0001-9911-2325>

¹ Este trabajo es producto de una estancia de investigación y supone un estudio exploratorio derivado del trabajo doctoral de Karla Lizbeth Chávez Rivera, bajo la asesoría del Dr. César Armando Puente Garza.

RESUMEN: Una estrategia importante para la conservación de las plantas del género *Agave* (Asparagaceae) reside en la diversificación de sus usos y su industria. Trabajos previos han posicionado a *A. salmiana* como una fuente prometedora de compuestos bioactivos de interés, como saponinas y flavonoles. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del estrés por zinc en el perfil fenotípico y fitoquímico de *A. salmiana* cultivado en sistemas de inmersión temporal. Para ello, se indujo estrés en las plantas por medio de diferentes concentraciones de ZnSO_4 en el medio de cultivo (0, 50, 100 y 200 mM) y distintos tiempos de inmersión (1 y 5 min) durante 21 días. Posteriormente se tomaron mediciones físicas de las plantas. Se estimó su contenido de clorofila por medio de análisis de imagen. Por último, se prepararon extractos de las plantas y se evaluó su actividad antioxidante por ORAC, así como su contenido de saponinas y flavonoides por HPLC-ELSD-DAD. El crecimiento y desarrollo de las plantas se vio fuertemente inhibido por las concentración de ZnSO_4 . Asimismo, el contenido de clorofila de las plantas se redujo casi a la mitad al verse expuesta al zinc. La actividad antioxidante mostró ser 1.1 veces superior en el tratamiento de mayor exposición a zinc (200 mM y 5 min) respecto al promedio. No se consiguió evidencia suficiente para demostrar un cambio significativo en el contenido de flavonoles entre tratamientos. Respecto a las saponinas, estas disminuyeron drásticamente su contenido en al menos 28.9

% en las plantas sometidas a estrés. Este estudio realizó anotaciones sobre el umbral de toxicidad del zinc en *A. salmiana*. A partir de esta referencia, se pueden buscar concentraciones menos agresivas para elicitación.

PALABRAS CLAVE: *Agave*; sistemas de inmersión temporal; metabolismo secundario; morfología, estrés abiótico.

EVALUATION OF THE EFFECT OF ZINC STRESS ON THE PHENOTYPIC AND PHYTOCHEMICAL PROFILE IN AGAVE SALMIANA CULTIVATED IN TEMPORARY IMMERSION SYSTEMS

ABSTRACT: An important strategy on conservation of *Agave* (Asparagaceae) plants resides on the diversification of its uses and its industry. Previous works have positioned *A. salmiana* as a promising source of bioactive compounds of interest, such as saponins and flavonols. This study aimed to evaluate the effect of zinc stress on the phenotypical and phytochemical profile of *A. salmiana* plants grown on temporary immersion systems. For that, stress was induced in plants through different ZnSO_4 concentrations in culture media (0, 50, 100, 200 mM) and distinct immersion times (1 and 5 min) for 21 days. After that, physical measurements of plants were taken. Their chlorophyll content was estimated by image analysis. Lastly, extracts of the plants were prepared and analyzed for antioxidant capacity by ORAC, as well as for their saponin and flavonol content by HPLC-ELSD-DAD. Growth and development of plants seemed to be severely inhibited due to ZnSO_4 concentration. Furthermore, chlorophyll content was reduced almost by half when plants were exposed to zinc. Antioxidant activity showed to be 1.1 times higher in the treatment with the most exposure (200 mM and 5 min) than the average. There was not enough evidence to demonstrate any significant change in flavonol content among treatments. Regarding saponins, their content diminished drastically by at least 28.9 % in stressed plants. This study made annotations about the toxicity threshold of zinc in *A. salmiana*. With this reference, now it is possible to look for less aggressive concentrations for elicitation.

KEYWORDS: *Agave*; temporary immersion systems; secondary metabolism; morphology; abiotic stress.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Agave* (Asparagaceae) engloba a más de 200 especies de plantas, llamadas indistintamente “magueyes”, que se caracterizan por sus hojas alargadas y puntiagudas, acomodadas en forma de roseta, y por sus adaptaciones a los climas áridos (Rowell, 2008). México es considerado centro de origen y domesticación de los magueyes y alberga cerca del 75 % de su diversidad en el mundo (García-Mendoza, 2002). A pesar de su cercanía con la historia y tradición del país, múltiples especies se encuentran amenazadas por su endemismo, su mal manejo agrícola y por la pérdida de usos y costumbres alrededor de la planta (Alducin-Martínez *et al.*, 2023; Robles y Cruz, 2023). La diversificación de la agroindustria de *Agave* ha sido un importante enfoque para

su conservación (Nava-Cruz *et al.*, 2014), buscando formas innovadoras de aprovechar cada especie y sus componentes.

Estudios previos han posicionado al maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) como una fuente prometedora de compuestos bioactivos de interés, especialmente saponinas y flavonoles. *A. salmiana* es una especie originaria de México con gran importancia cultural, económica y gastronómica (Higuera-Orbe *et al.*, 2025). Es la planta por excelencia empleada en la elaboración del pulque, una bebida ancestral resultante de la fermentación de la savia o aguamiel del tallo o piña del maguey (Rodríguez-Vera *et al.*, 2025). Fuera de su uso tradicional, se ha reportado que, cuando son cultivadas *in vitro*, las plantas de *A. salmiana* pueden acumular concentraciones de saponinas hasta 36 veces mayores que aquéllas crecidas *in situ*; de igual modo, presentan aumentos de fenólicos totales en al menos 30 % (Puente-Garza *et al.*, 2015). Otros trabajos se han centrado en aumentar o modular el contenido compuestos bioactivos en esta especie implementando elicitores abióticos en su crecimiento *in vitro*, tales como el estrés hídrico y el estrés salino (Puente-Garza *et al.*, 2017b; Puente-Garza *et al.*, 2021).

Existe evidencia para suponer que otras fuentes de estrés abiótico, como los metales pesados, podrían estimular en el metabolismo secundario de *A. salmiana*. El uso de zinc (Zn) como elicitador está ampliamente documentado en otras especies. En concentraciones regulares, el papel del Zn a nivel celular y fisiológico en las plantas es crítico. Funge como cofactor de múltiples enzimas en sus seis clasificaciones y como componente estructural de otras varias proteínas, estando por tanto involucrado en diversas rutas metabólicas y procesos biológicos como la transcripción, la traducción, la fotosíntesis y la respuesta a especies reactivas de oxígeno (ROS) (Stantotn *et al.*, 2022). Sin embargo, el exceso de Zn puede inducir de manera indirecta estrés oxidativo como secuela de la estimulación de enzimas productoras de ROS, la competencia con otros metales esenciales y la inhibición enzimática (Balafrej *et al.*, 2021). La elicitación se da al inducir de forma controlada estas forma de estrés y, como resultado, promover la acumulación de metabolitos secundarios de respuesta (Mubeen *et al.*, 2025). La presentación de Zn más estudiada en el ámbito son las nanopartículas de ZnO, que han demostrado provocar incrementos en la concentración de metabolitos secundarios de especies como *Lilium candelium* y *Trigonella foenum-graecum*, entre otras (Palka *et al.*, 2023; Tariverdizadeh *et al.*, 2021). Otras sales de Zn, como el sulfato de zinc (ZnSO_4), también han sido evaluadas como elicitores en especies poco emparentadas, lo que podría indicar de una respuesta generalizable. En cultivos en suspensión de *Capsicum annuum* se ha observado que la adición de ZnSO_4 al medio de cultivo en concentraciones

de 0.1-0.4 M puede incrementar significativamente el contenido total de fenólicos (İşlek *et al.*, 2020). De forma consistente, Tian *et al.* (2025) han reportado en mijo de dedo (*Eleusine coracana* L.) un aumento significativo en la acumulación de flavonoides y en la actividad antioxidante de las plantas sometidas a estrés con ZnSO_4 .

Adicionalmente, la implementación de sistemas de inmersión temporal (SIT) como formato de cultivo *in vitro* en *A. salmiana* permanece escasamente estudiada, y es aún más incierto su efecto sobre la acumulación de saponinas y flavonoides. Una revisión de De Carlo *et al.* (2021) agrupa trabajos en los que se comparó la producción de compuestos bioactivos en plantas medicinales entre SIT y otras modalidades de cultivo, como semisólido o en suspensión, mostrando una larga lista de especies para las cuales los SIT obtuvieron rendimientos significativa y sustancialmente mayores a sus contrapartes. Esto posiblemente se atribuye a su mejor transferencia de oxígeno, su bajo estrés de corte, su disponibilidad de nutrientes y a la disminución de la hiperhidricidad (De Carlo *et al.*, 2021). Las aplicaciones de los SIT en especies de *Agave* son escasas y se han limitado a la micropropagación, sin ahondar en su efecto sobre el perfil fitoquímico de la planta. Entre estos estudios, se han realizado anotaciones para *A. tequilana*, *A. marmorata*, *A. guiengola*, *A. potatorum* y *A. angustifolia* (Vázquez-Martínez *et al.*, 2021; Mancilla-Álvarez *et al.*, 2024; Chávez-Ortiz *et al.*, 2021; Moreno-Hernández *et al.*, 2024; Monja-Mio *et al.*, 2021).

Debido al gran potencial de *A. salmiana* como fuente de compuestos bioactivos de interés, y a la limitada información al respecto, el objetivo de este trabajo fue investigar nuevas formas de modular su concentración. Para ello, se evaluó el perfil fenotípico y fitoquímico de plantas cultivadas en SIT de *A. salmiana* bajo estrés por Zn, variando su exposición a través de la concentración de ZnSO_4 en el medio de cultivo y el tiempo de inmersión.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. PREPARACIÓN DE EXPLANTES

Se recolectaron semillas de una planta de *A. salmiana* de la Laguna de Sánchez, en Santiago, Nuevo León, México (25.346524, -100.285577), en febrero del 2024. Las semillas se almacenaron en un espacio seco y sin luz hasta su uso en agosto del 2025. Para su desinfección, fueron lavadas con agua bidestilada adicionada con Tween 20 ($0.4 \mu\text{L L}^{-1}$) por 5 min. Dentro de una campana de flujo laminar (SterilchemGARD, The Baker Company Inc.), se continuó con lavados de etanol al 70 % (v/v) por 5 min, hipoclorito de sodio (Cloralex[®], > 4 %) al 5 % (v/v) por 15 min y un último enjuague con agua destilada

estéril. Todos los lavados se realizaron con agitación manual y descartando el líquido de por medio.

Para su germinación, las semillas se transfirieron a una solución de peróxido de hidrógeno al 10 % (v/v), trabajando en condiciones de asepsia y oscuridad. Luego, se colocaron en una incubadora (Sheldon Manufacturing, Inc., Cornelius, OR) a 27 ± 1 °C y en completa oscuridad por 3 días. Transcurrido el tiempo, se seleccionaron las semillas que presentasen una radícula blanca, indicando germinación. Las semillas se sembraron individualmente en tubos de ensayo con 5 mL de medio de acondicionamiento. Dicho medio consistió en medio basal de Murashige y Skoog (1962) (4.4 g L^{-1} , PhytoTec) (MS) adicionado con sacarosa (30 g L^{-1}). El medio fue ajustado a $\text{pH } 5.8 \pm 0.05$ antes de añadir Phytigel™ (4 g L^{-1} , PhytoTec) como gelificante. Los tubos con medio fueron previamente esterilizados en una autoclave (Yamato) a 121 °C y 15 psi durante 15 min. Las semillas se llevaron a un cuarto de cultivo a 27 ± 1 °C con luz blanca y fotoperíodo 16:8 h de luz:oscuridad con intensidad de 6,600 Lux.

Después de cinco semanas, las plántulas se transfirieron a frascos con medio de acondicionamiento fresco. Se dejaron crecer bajo las mismas condiciones durante tres semanas más.

2.2. INDUCCIÓN DE ESTRÉS

Se preparó el medio de estrés, que constó de MS (4.4 g L^{-1}) y sacarosa (30 g L^{-1}) ajustado a un pH de 5.8 ± 0.05 , al que posteriormente se agregó ZnSO_4 en tres distintas concentraciones según el tratamiento: 50 mM ($T_{50\text{mM}}$), 100 mM ($T_{100\text{mM}}$) y 200 mM ($T_{200\text{mM}}$), más un control sin ZnSO_4 ($T_{0\text{mM}}$). Se colocaron 30 mL de medio de estrés en frascos de vidrio acoplados por un SIT de tipo BioCoupler™. Los SIT con medio fueron esterilizados en la autoclave bajo los parámetros ya descritos.

Para la siembra, se extrajeron las plántulas de *A. salmiana* del medio semisólido y se les realizaron incisiones en la base para remover sus raíces. Posteriormente se colocaron dentro del SIT. Se sembraron 3 SIT por cada tratamiento ($n = 3$), con cinco plántulas por SIT.

Los SIT se llevaron al cuarto de cultivo, bajo las condiciones de crecimiento ya descritas. Se realizaron inmersiones con una frecuencia de 24 h y con dos diferentes duraciones: 1 min ($T_{1\text{min}}$) y 5 min ($T_{5\text{min}}$). Durante la inmersión, se procuró que todas las plántulas estuviesen en contacto con el medio y que este último no empapase el filtro de aire del BioCoupler™. El estrés se mantuvo durante 21 días.

2.3. EVALUACIÓN FENOTÍPICA

Las plantas se retiraron de los SIT y se enjuagaron en agua destilada para remover restos de medio. Se dejaron secar y posteriormente se registraron el número de raíces primarias y de hojas, así como su longitud. También se midió la masa fresca de las plantas (OHAUS Pioneer). Todas las plantas fueron fotografiadas (Canon EOS) previo a almacenarse en un ultracongelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.4. CUANTIFICACIÓN DE CLOROFILA

Se estimó el contenido de clorofila en las plantas de acuerdo con el método no destructivo propuesto por Liang *et al.* (2017). Brevemente, se realizaron correcciones de color en las fotografías y se procesaron en el *software* ImageJ 1.50. Después se emplearon los *plugins* «RGB_measure» y «Chlorophyll_Imager», provistos por el mismo trabajo, para traducir los datos de color a contenido de clorofila. Los datos se registraron en ng mm^{-2} .

2.5. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Se secaron las plantas en un desecador durante 5 días. Posteriormente se llevaron a un horno de convección (Memmert) a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 h. Una vez retirada toda la humedad, se midió el peso seco (PS) de las plantas (OHAUS, Pioneer) y se molieron con un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino. En ausencia de luz, se pesaron 50 mg de muestra y se suspendieron en 500 μL de metanol al 80 % (v/v). Los extractos incubaron (Labnet, Vortemp 1550) a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 150 rpm durante 2 h. Acto seguido se centrifugaron (DLAB, D2012 Plus) a 3,000 rpm por 5 min y se recuperó su sobrenadante, que luego se llevó a secar en el mismo horno de convección a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Por último, se resuspendieron las pastillas en 1 mL de metanol al 50 % (v/v). Los extractos se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso.

2.6. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante (AOX) de los extractos se determinó por ensayo de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC, en inglés), utilizando trolox como estándar y solución *buffer* de fosfatos (PBS, en inglés) pH 7.4, 75 mM como blanco. Se colocaron 25 μL de muestra en una microplaca negra de 96 pozos. En un lector de microplatos (BioTek, Synergy HTX) se realizaron inyecciones de 150 μL de fluoresceína 4 μM con una incubación de 30 min. Después se inyectaron 25 μL de diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) 153 mM y se midió la fluorescencia individual de

los pozos cada 2 min durante 1 h. La reacción se mantuvo a 37 °C y se empleó PBS pH 7.4, 75 mM como solvente en todas las soluciones. Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de trolox (ET) por gPS.

2.7. CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS Y FLAVONOLES

El contenido de saponinas y flavonoles de los extractos se cuantificó por HPLC (Agilent Technologies) acoplada a un detector de arreglo de diodos (DAD) y a un detector de dispersión de luz evaporativa (ELSD), empleando una columna Zorbax Eclipse XDB-C18, 4.6 $\times$ 150 mm (5 μm) (Agilent Technologies). El programa consistió en una fase móvil A (agua adicionada con 0.1 % (v/v) de ácido fórmico) y una fase B (acetonitrilo adicionado con 0.1 % (v/v) de ácido fórmico). El volumen de inyección de muestra fue de 10 μL . Las saponinas se obtuvieron como equivalentes de protodioscina (EP) (Sigma-Aldrich). Para los flavonoles, se recolectaron datos a 340 nm empleando quercetina y kaemferol como estándares (Sigma-Aldrich). Las muestras de extracto fueron filtradas con un filtro de jeringa de 0.22 μm (LEACSA) previo a su inyección.

2.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El experimento consistió en un diseño factorial 4 $\times$ 2 con interacciones, por triplicado. Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey con confianza del 95 % ($p < 0.05$) en Minitab® 21.4. Los cromatogramas fueron procesados y analizados en RStudio versión 4.5.1 utilizando la paquetería *chromatographR* versión 0.7.5.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. MEDICIONES FENOTÍPICAS

La concentración de ZnSO_4 mostró tener un efecto significativo en la masa seca de las plantas, su porcentaje de humedad, su número de raíces y hojas y su longitud promedio de hoja (**Tabla 1**). Los resultados indicaron, de forma general, un detrimento en el crecimiento y desarrollo de las plantas ante la presencia de Zn. Algunos de los indicadores típicos de intoxicación por Zn en las plantas incluyen la inhibición del desarrollo radicular y del crecimiento (Balafrej *et al.*, 2020). Adicionalmente, el estrés por metales pesados está asociado con la disminución del contenido de agua en las plantas, en parte por las afectaciones al crecimiento, pero también por el desequilibrio osmótico (Rucinska-Sobkowiak, 2016). Por tanto, es presumible que las concentraciones empleadas rebasaron el umbral de elicitación hasta provocar toxicidad severa.

Por su parte, el tiempo de inmersión provocó diferencias significativas en el porcentaje de humedad, en el número de hojas y en la longitud promedio de hoja. Mientras que el tiempo de inmersión de 1 min mostró plantas mejor desarrolladas en cuanto a humedad y número de hojas, presentó hojas de menor tamaño respecto al tiempo de inmersión de 5 min. Otros trabajos con SIT han reportado mejor desempeño en plantas de *A. salmiana* con inmersiones de 5 min cada 12 h (Ontiveros-Villa, 2013) y en *A. marmorata* 2 min cada 8 h (Moreno-Hernández *et al.*, 2024). Sin embargo, el foco de estos trabajos radicaba en la generación de brotes y no se contemplaba ninguna inducción de estrés.

Tabla 1. Resultados fenológicos de las plántulas de *A. salmiana* tras 21 días de estrés.

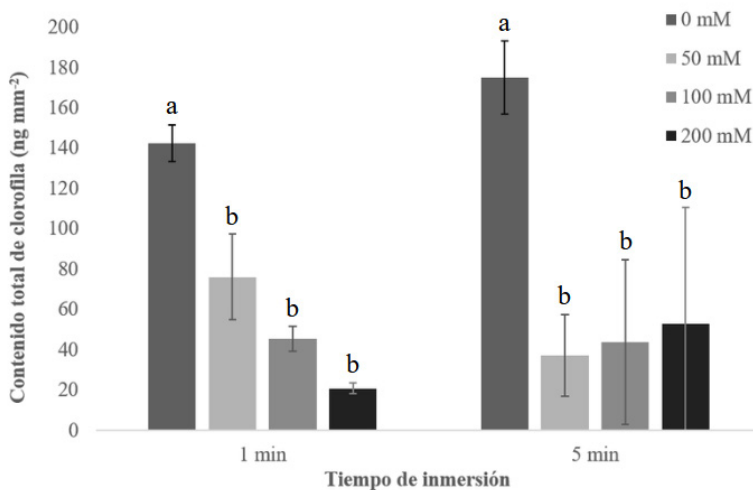
Tratamiento	Masa seca (mg _{ps})	Humedad (%)	Número de hojas	Largo promedio de hoja (cm)	Número de raíces primarias
<i>Concentración de ZnSO₄</i>					
0mM	211.71 ± 78.09 ^a	88.89 ± 3.89 ^a	4.13 ± 0.40 ^a	2.71 ± 0.33 ^a	2.14 ± 0.45 ^a
50mM	167.52 ± 57.30 ^{ab}	87.98 ± 1.46 ^{ab}	3.27 ± 0.68 ^b	2.20 ± 0.35 ^b	0.00 ± 0.00 ^b
100mM	142.03 ± 54.89 ^b	87.33 ± 2.33 ^{ab}	3.23 ± 0.80 ^b	2.07 ± 0.23 ^b	0.06 ± 0.15 ^b
200mM	138.86 ± 51.89 ^b	86.52 ± 1.38 ^b	3.20 ± 0.49 ^b	2.04 ± 0.28 ^b	0.20 ± 0.20 ^b
<i>Tiempo de inmersión</i>					
1min	166.08 ± 47.13 ^a	89.21 ± 2.06 ^a	3.38 ± 0.44 ^a	2.10 ± 0.35 ^a	0.61 ± 0.96 ^a
5min	167.32 ± 88.37 ^a	85.71 ± 1.79 ^b	3.03 ± 0.74 ^b	2.51 ± 0.35 ^b	0.76 ± 1.04 ^a
<i>Concentración de ZnSO₄ – Tiempo de inmersión</i>					
0mM - 1min	146.80 ± 48.39 ^b	92.22 ± 0.49 ^a	4.30 ± 0.38 ^a	2.54 ± 0.22 ^{ab}	2.15 ± 0.59 ^a
50mM -1 min	195.23 ± 45.82 ^{ab}	88.79 ± 0.94 ^b	3.65 ± 0.41 ^{abc}	2.04 ± 0.30 ^{bc}	0.00 ± 0.00 ^b
100mM - 1min	161.90 ± 50.22 ^b	88.87 ± 0.66 ^{ab}	3.85 ± 0.19 ^{ab}	1.93 ± 0.19 ^c	0.10 ± 0.20 ^b
200mM - 1min	161.38 ± 49.49 ^b	86.96 ± 0.70 ^b	3.50 ± 0.35 ^{bc}	1.87 ± 0.24 ^c	0.20 ± 0.23 ^b
0mM - 5min	276.63 ± 25.50 ^a	85.55 ± 2.33 ^b	3.95 ± 0.38 ^{ab}	2.87 ± 0.38 ^a	2.14 ± 0.37 ^a
50mM - 5min	112.10 ± 30.12 ^b	86.35 ± 0.08 ^b	2.50 ± 0.14 ^d	2.51 ± 0.20 ^{abc}	0.00 ± 0.00 ^b
100mM - 5min	115.53 ± 58.43 ^b	85.28 ± 2.15 ^b	2.40 ± 0.20 ^d	2.25 ± 0.13 ^{abc}	0.00 ± 0.00 ^b
200mM - 5min	110.17 ± 47.38 ^b	85.93 ± 2.03 ^b	2.80 ± 0.35 ^{cd}	2.28 ± 0.03 ^{abc}	0.20 ± 0.20 ^b

*Todos los resultados están representados como promedio ± desviación estándar.
 **Letras diferentes denotan grupos estadísticamente distintos por prueba de Tukey (p < 0.05).

3.2. CONTENIDO DE CLOROFILA

El contenido de clorofila disminuyó drásticamente en los tratamientos bajo estrés por Zn (**Fig. 1**). Los tratamientos control mostraron al menos el doble de contenido de clorofila por unidad de área respecto al resto. Precisamente, el síntoma más evidente de toxicidad por Zn en las plantas es el amarillamiento de las hojas o clorosis (Balafrej *et al.*, 2020). El exceso de Zn se traduce en una competencia contra otros metales como Fe, Mg y Mn, lo cual interfiere con la síntesis de clorofila y, por tanto, con la fotosíntesis (Vassilev *et al.*, 2011). De ahí la pérdida de vigor de las plantas y su coloración amarillenta. Esto va alineado con los síntomas de toxicidad previamente descritos en el fenotipo de las plantas.

Figura 1. Contenido de clorofila de las plantas de *A. salmiana* tras 21 días de cultivo bajo diferentes concentraciones de ZnSO_4 (0-200 mM) y diferentes tiempos de inmersión (1 y 5 min). Letras diferentes denotan grupos estadísticamente diferentes por prueba de Tukey ($p < 0.05$).

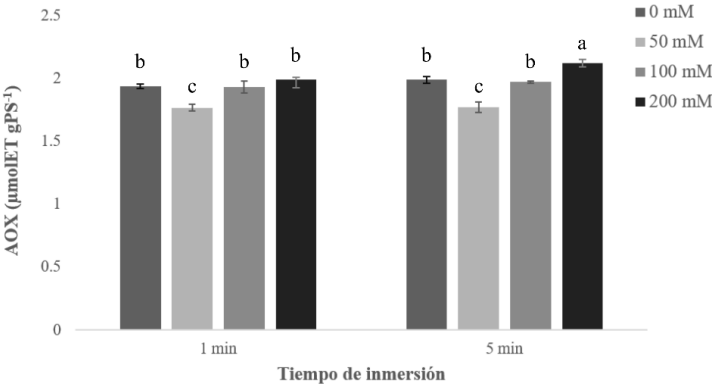


3.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La concentración de ZnSO_4 , el tiempo de inmersión y su interacción provocaron diferencias significativas en la AOX de los extractos de las plantas (**Fig. 2**). Se observó la mayor AOX en el tratamiento con mayor exposición al Zn, de 200 mM con tiempo de inmersión de 5 min, con $2.1 \mu\text{mol ET GPS}^{-1}$. En contraste, los tratamientos con ZnSO_4 50 mM presentaron la AOX más baja, siendo de $1.77 \mu\text{mol ET GPS}^{-1}$ en ambos, independientemente del tiempo de inmersión. No obstante, la AOX en todas las muestras resultó ser sustancialmente menor que la reportada en extractos vegetales en otros estudios. Puente-Garza *et al.* (2017b) reportaron AOX en extractos de *A. salmiana* superiores a 146

$\mu\text{molET gPS}^{-1}$. Por su parte, para extractos de grano de algunas variedades de maíz (*Zea mays*) se han publicado AOX de entre 95.4 y 156.8 $\mu\text{molET gPS}^{-1}$ (Harakotr *et al.*, 2014).

Figura 2. Actividad antioxidante de los extractos de los diferentes tratamientos. Letras diferentes denotan grupos estadísticamente distintos por prueba de Tukey ($p < 0.05$).



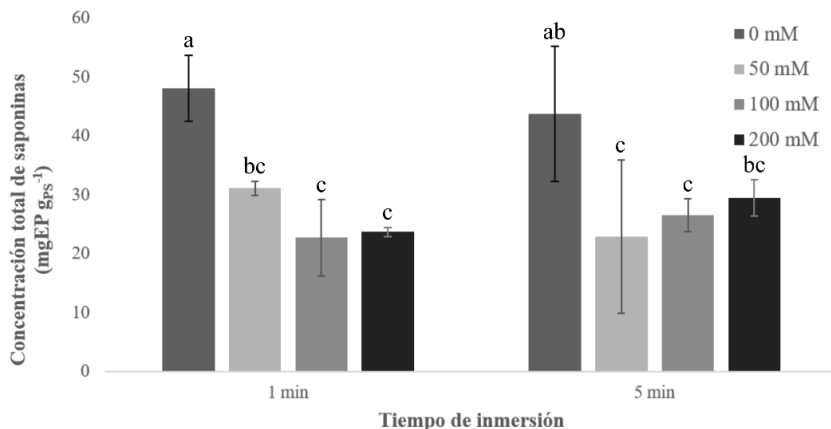
3.4. CONTENIDO DE FLAVONOLES

No se hallaron diferencias significativas entre tratamientos para el contenido total de flavonoles. Su concentración se situó entre 0.05 y 1.62 mg equivalentes de quercetina (EQ) por gPS. Los estudios sobre elicitación por Zn en plantas suelen presentar aumentos significativos en el contenido total de flavonoides, incluyendo flavonoles (Tian *et al.*, 2025; İşlek *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2021). En este caso, se observó mucha variabilidad entre muestras.

3.5. CONTENIDO DE SAPONINAS

La concentración de ZnSO_4 resultó ser el único factor con un efecto significativo sobre el contenido total de saponinas (**Fig. 3**). Las plantas bajo estrés por Zn mostraron disminuciones de al menos 28.9 % respecto a los controles (43.9-48.1 mgEP gPS⁻¹). La tendencia anterior coincide con el trabajo de Puente-Garza *et al.* (2021), donde se reportó que otros metales pesados, como el cobalto, en concentraciones menores a 1.0 mM pueden provocar disminuciones agresivas en el contenido de saponinas de *A. salmiana* cultivado *in vitro*. En *Paris polyphylla* se han reportado disminuciones de varios tipos de saponinas en plantas expuestas a diversos metales pesados, incluido el Zn (Li *et al.*, 2023). Por lo anterior, se observa que la concentración de ZnSO_4 empleada, lejos de estimular la producción de saponinas, la limitó por su presumible efecto tóxico.

Figura 3. Concentración total de saponinas entre los diferentes tratamientos. Letras diferentes denotan grupos estadísticamente distintos por prueba de Tukey ($p < 0.05$).



4. CONCLUSIONES

Se concluyó que las concentraciones de ZnSO_4 empleadas en el medio de cultivo resultaron tóxicas para las plantas de *A. salmiana*. Su crecimiento se vio fuertemente inhibido, al igual que su producción y acumulación de clorofila y saponinas. Sin embargo, los extractos mostraron una máxima actividad antioxidante ante una mayor exposición al Zn, lo cual parece indicar una acumulación de otras especies antioxidantes en respuesta a este tipo de estrés. Debido a su alta variabilidad, no fue posible identificar cambios significativos en el contenido de flavonoles entre tratamientos.

Este estudio supone un acercamiento a la elucidación del efecto del estrés por Zn en *A. salmiana* en el formato de cultivo por SIT. A partir de este precedente, es seguro probar niveles más bajos de Zn para conseguir una concentración elicitora que estimule la producción de metabolitos secundarios de interés. De igual modo, plantea la posibilidad del uso del Zn como herramienta de modulación de saponinas.

REFERENCIAS

- Alducin-Martínez, C., Ruiz Mondragón, K. Y., Jiménez-Barrón, O., Aguirre-Planter, E., Gasca-Pineda, J., Eguiarte, L. E., y Medellín, R. A. (2023). Uses, Knowledge and Extinction Risk Faced by Agave Species in Mexico. *Plants*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/plants12010124>
- Balafrej, H., Bogusz, D., Triqui, Z.A., Guedira, A., Bendaou, N., Smouni, A. y Fahr, M. (2020) Zinc Hyperaccumulation in Plants: A Review. *Plants*, 9(5):562. [10.3390/plants9050562](https://doi.org/10.3390/plants9050562). PMID: 32365483; PMCID: PMC7284839.
- Chávez-Ortiz, L. I., Morales-Domínguez, J. F., Rodríguez-Sahagún, A. y Pérez-Molphe-balch, E. (2021). In Vitro Propagation of *Agave guiengola* Gentry Using Semisolid Medium and Temporary Immersion Bioreactors. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(3), 1003-1013. <https://doi.org/10.32604/PHYTON.2021.012862>

de Carlo, A., Tarraf, W., Lambardi, M. y Benelli, C. (2021). Temporary immersion system for production of biomass and bioactive compounds from medicinal plants. *Agronomy*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/agronomy11122414>

García-Mendoza, A. (2002) Distribution of Agave (Agavaceae) in Mexico. *Journal of the Cactus and Succulent Society of America*, 74, 177-186.

Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M.P. y Lertrat, K. (2014). Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages. *J. Funct. Foods*, 9, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.012>

Higuera-Orbe, C. L., García-Barrón, S. E. y Moreno-Vilet, L. (2025). La importancia del maguey pulquero (Agave salmiana) en la alimentación y soberanía alimentaria. *Enfoques Transdisciplinarios: Ciencia Y Sociedad*, 3(1), 235-248. <https://revistaenfoques.ciatej.mx/index.php/revistaenfoques/article/view/64>

İşlek, C., Türkylmaz Ünal, B. y Aydın, S. (2020). Elisitör Olarak Kullanılan Çinko Sülfatın Biber Kalluslarının Süperoksit Dismutaz, Peroksidaz ve Toplam Fenolik Bileşikleri Üzerine Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(12), 2780–2784. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i12.2780-2784.4121>

Khan, A. K., Kousar, S., Tungmunthum, D., Hano, C., Abbasi, B. H. y Anjum, S. (2021). Nano-Elicitation as an Effective and Emerging Strategy for In Vitro Production of Industrially Important Flavonoids. *Applied Sciences*, 11(4), 1694. <https://doi.org/10.3390/app11041694>

Liang, Y., Urano, D., Liao, K. L., Hedrick, T. L., Gao, Y. y Jones, A. M. (2017). A nondestructive method to estimate the chlorophyll content of *Arabidopsis* seedlings. *Plant Methods*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0174-6>

Li, H. L., Yan, C. P., Qi, J. S., Zhang, S., Guo, D. Q., Gu, W. C., Wu, Y. M., Wu, Y. y Zhou, N. (2023). Analysis of the heavy metal contents' effect on steroidal saponins and the anti-breast cancer activity of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*. *Frontiers in pharmacology*, 14, 1277395. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1277395>

Mancilla-Álvarez, E., Spinoso-Castillo, J.L., Schettino-Salomón, S.S. *et al.* Temporary immersion systems induce photomixotrophism during in vitro propagation of agave Tobalá. *3 Biotech* 14, 74 (2024). <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03928-5>

Monja-Mio, K.M., Olvera-Casanova, D., Herrera-Alamillo, M.Á., Sánchez-Teyer, F.L. y Robert, M.L. (2021). Comparison of conventional and temporary immersion systems on micropropagation (multiplication phase) of *Agave angustifolia* Haw. 'Bacanora'. *Biotech*, 11(2):77. [10.1007/s13205-020-02604-8](https://doi.org/10.1007/s13205-020-02604-8).

Moreno-Hernández, M.R., Mancilla-Álvarez, E., Aguilar-Jiménez, D. y Bello-Bello, J.J. (2024). In Vitro Multiplication of Agave (*A. marmorata* and *A. potatorum*) by Temporary Immersion in SETIS™ Bioreactor. In Micropropagation Methods in Temporary Immersion Systems. *Methods in Molecular Biology*, 2759, 69–76. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3654-1_7

Mubeen, B., Murtaza, S., Yaqoob, S., Aregbe, A. Y., Boasiako, T. A., Xiong, Y. Q. y Ma, Y. K. (2025). Harnessing plant defense: Elicitors, hormones and immunity-driven production of medicinally valuable secondary metabolites. *South African Journal of Botany*, 179, 280–292. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.02.018>

Murashige, T. and Skoog, F. (1962), A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Nava-Cruz, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martinez, J. L., Rodriguez, R. y Aguilar, C. N. (2015). Agave biotechnology: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 546–559. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923813>

Ontiveros-Villa, F. (2013). Análisis de la eficiencia de diferentes sistemas de cultivo in vitro en la propagación de agave [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Aguascalientes. <http://hdl.handle.net/11317/2753>

Pałka, P., Muszynska, B., Szewczyk, A. y Pawłowska, B. (2023). Elicitation and Enhancement of Phenolics Synthesis with Zinc Oxide Nanoparticles and LED Light in *Lilium candidum* L. Cultures In Vitro. *Agronomy*, 13, 1437. 10.3390/agronomy13061437.

Puente-Garza, C. A., Espinosa-Leal, C. A. y García-Lara, S. (2021). Effects of saline elicitors on saponin production in *Agave salmiana* plants grown in vitro. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 476–482. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.017>

Puente-Garza, C. A., García-Lara, S. y Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017a). Enhancement of saponins and flavonols by micropropagation of *Agave salmiana*. *Industrial Crops and Products*, 105, 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.014>

Puente-Garza, C. A., Gutiérrez-Mora, A. y García-Lara, S. (2015). Micropropagation of *Agave salmiana*: Means to production of antioxidant and bioactive principles. *Frontiers in Plant Science*, 6(NOVEMBER), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01026>

Puente-Garza, C. A., Meza-Miranda, C., Ochoa-Martínez, D. y García-Lara, S. (2017b). Effect of in vitro drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 400–407. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.012>

Robles-Arias, M. y Cruz-Guerrero, A. (2023). Agave: importancia y aplicaciones en México. *CienciaCierta*, 76. <https://revistas.uadec.mx/CienciaCierta/article/view/535/407>

Rodríguez-Vera, D., Rivera Pérez, R., Arciniega-Martínez, I. M., Soriano-Ursúa, M. A., Reséndiz-Albor, A. A., Magdaleno-Durán, F., García-Machorro, J. y Morales-González, J. A. (2025). Pulque: Beverage Transcending Historical Boundaries. *Histories*, 5(3), 41. <https://doi.org/10.3390/histories5030041>

Rowell, R. M. (2008). Natural fibres: types and properties. *Properties and Performance of Natural-Fibre Composites*, 3–66. <https://doi.org/10.1533/9781845694593.1.3>

Rucińska-Sobkowiak, R. (2016). Water relations in plants subjected to heavy metal stresses. *Acta Physiologiae Plantarum*. 38. 10.1007/s11738-016-2277-5.

Stanton, C., Sanders, D., Krämer, U. y Podar, D. (2022). Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. *Molecular Plant*, 15(1), 65–85. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2021.12.008>

Tariverdizadeh, N., Mohebodini, M., Chamani, E. y Ebadi, A. (2021). Iron and zinc oxide nanoparticles: An efficient elicitor to enhance trigonelline alkaloid production in hairy roots of fenugreek. *Industrial Crops and Products*, 162, 113240. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2021.113240>

Tian, X., Zhang, J., Ye, Z., Fang, W., Ding, X. y Yin, Y. (2025). Zinc Sulfate Stress Enhances Flavonoid Content and Antioxidant Capacity from Finger Millet Sprouts for High-Quality Production. *Foods*, 14(15), 2563. <https://doi.org/10.3390/foods14152563>

Vassilev, A., Nikolova, A., Koleva, L. y Lidon, F. (2011). Effects of Excess Zn on Growth and Photosynthetic Performance of Young Bean Plants. *Journal of Phytology*, 3(6). www.scholarjournals.org/www.journal-phytology.com

Vázquez-Martínez, O., Núñez-Palenius, H., Balch, E., Valencia-Posadas, M., Pérez-Moreno, L., Ruiz-Aguilar, G. y Gómez-Lim, M. (2021). In Vitro-Propagation of *Agave tequilana* Weber cv. azul in a Temporary Immersion System. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. 91. 83-96. 10.32604/phyton.2022.017281.

CAPÍTULO 5

MEJORANDO LAS PLANTAS CON LA TÉCNICA IN VITRO DE DOBLE HAPLOIDE (DH)

Data de aceite: 24/09/2026

Lisi Cerna-Rebaza

Laboratorio de Fisiología y
Cultivos Celulares
Universidad Nacional de Trujillo (UNT)
Trujillo, Perú
<https://orcid.org/0000-0001-7654-3464>

Eswin Hernandez-Obregón

Instituto Nacional de Investigación
Agraria (INIA)
Perú
<https://orcid.org/0009-0001-8395-5464>

Luis Gonzales-Llontop

Laboratorio de Biología
Universidad Nacional Toribio
Rodríguez de Mendoza (UNTRM)
Chachapoyas, Perú
<https://orcid.org/0000-0001-7944-2642>

Luis Llenque-Díaz

Laboratorio de Fisiología Bacteriana
Universidad Nacional de Trujillo (UNT)
Trujillo, Perú
<https://orcid.org/0000-0003-1143-7868>

Julio Chico Ruiz¹

Laboratorio de Fisiología y
Cultivos Celulares
Universidad Nacional de Trujillo (UNT)
Trujillo, Perú
<https://orcid.org/0000-0002-7287-321X>

¹ Autor para correspondencia

RESUMEN: La actividad agrícola requiere variedades de cultivos mejoradas con características de calidad, rendimiento y resistencia a estreses ambientales principalmente. El uso de haploides es una estrategia clave para el mejoramiento de las plantas cultivadas, debido a que poseen un único juego de cromosomas en la fase esporofítica, se han convertido en una fuente para seleccionar rasgos deseados o introducir mutaciones en su material genético. Además, se pueden obtener doble haploides (DH) mediante la duplicación cromosómica, ya sea espontánea o inducida, con características de homocigotos en todos los loci y pueden propagarse por semilla. La homocigosis se completa en una sola generación; por el contrario, el método de mejoramiento convencional *in situ* requiere de seis a siete generaciones de autofecundación. La producción **in vitro** de haploides con fines de mejoramiento se ha logrado en numerosos cultivos, como arroz, trigo, cebada, maíz, tomate, papa, brasicáceas, vid y girasol, entre otros. Además, los DH son una fuente para el mapeo génico, la citogenética y los estudios evolutivos.

PALABRAS CLAVE: haploides; doble haploide; mejoramiento vegetal; cultivo in vitro; homocigosis; duplicación cromosómica.

1. INTRODUCCIÓN

La productividad agrícola se ve, frecuentemente, afectada por factores

de estrés abiótico y biótico que provocan una grave reducción en el rendimiento de los cultivos. Por ello, es necesario mejorar los cultivos para una mayor resistencia al estrés biótico y abiótico, una mayor tolerancia a plagas de insectos y herbicidas, un mejor rendimiento y valor nutricional. Antiguamente, los agricultores llevaban a cabo el mejoramiento seleccionando plantas con características deseables para recolectar sus semillas y utilizarlas en siembras posteriores. Desde entonces, se han empleado diversas técnicas de fitomejoramiento para optimizar los cultivos. Con el tiempo, se comenzó a practicar la hibridación dirigida –fitomejoramiento clásico– un proceso en el que se identifican dos plantas progenitoras con rasgos deseables y se cruzan entre sí para generar una nueva variedad que reúna dichas características.

Las leyes de la genética de Mendel y los estudios avanzados de biología molecular revelaron que los genes determinan los rasgos de un organismo. La mayoría de las plantas son diploides ($2n$), es decir, contienen dos juegos de cromosomas. Sin embargo, también son comunes las plantas con tres o más juegos de cromosomas (**poliploides**).

En los últimos años, se ha practicado la introducción de mutaciones en el contenido genético de las plantas mediante el tratamiento con agentes químicos mutagénicos, como el metanosulfonato de etilo (EMS), o mediante radiaciones, como la radiación gamma, seleccionando posteriormente los rasgos deseados. Este método se conoce comúnmente como genética directa (**forward genetics**). Pero, estos mutágenos suelen introducir muchas mutaciones no deseadas y, en ocasiones, resultan perjudiciales para la descendencia. Por ello, la descendencia se cruza con líneas parentales seleccionadas (**retrocruzamiento**) para eliminar las mutaciones no deseadas y obtener **líneas isogénicas** (NIL, por sus siglas en inglés) las cuales son homocigotas para una de las líneas parentales, pero portan la mutación deseada.

En el fitomejoramiento, es necesario obtener líneas homocigotas para fijar los rasgos agronómicos, de modo que no se pierdan las características deseadas obtenidas en el cruce. La **homocigosis** puede lograrse cruzando las plantas consigo mismas (**autopolinización** o **endogamia**) durante varias generaciones; las plantas o líneas obtenidas mediante estos cruces se denominan variedades “**endogámicas**”. Sin embargo, alcanzar la homocigosis requiere varios retrocruzamientos o, al menos, seis generaciones de endogamia. Por tanto, estos procedimientos consumen mucho tiempo y requieren mucha mano de obra. Una técnica más rápida para lograr la homocigosis es el uso de plantas haploides.

Los **haploides** contienen un único juego de cromosomas y, a menudo, poseen rasgos deseables. En las plantas diploides, la presencia del alelo dominante puede

enmascarar dichos rasgos. Además, es necesario producir doble haploides (DH) para su cultivo. Los DH pueden obtenerse de forma espontánea o tratando haploides con colchicina para inducir la duplicación cromosómica. Los DH son totalmente homocigotos en todos los loci y pueden producir semillas mediante recombinación, también alcanzan la homocigosis en una sola generación, con lo cual reduce considerablemente el tiempo necesario para obtener líneas totalmente homocigotas en comparación con el método de mejora convencional explicado anteriormente.

2. TIPOS DE EMBRIOGÉNESIS EN PLANTAS

La condición haploide se presenta de forma natural, pero es poco frecuente y limitado a unas pocas especies. Por ello, la mejora genética requiere la producción *in vitro* y una etapa crítica consiste en seleccionar el tejido haploide en el estadio de desarrollo adecuado y conferirle carácter embriogénico (la capacidad de producir embriones) mediante su cultivo en medios específicos y bajo condiciones de crecimiento apropiadas. En consecuencia, la producción *in vitro* de haploides plantea desafíos y exige conocimientos sobre la embriogénesis.

2.1. EMBRIOGÉNESIS CIGÓTICA

El proceso de formación del embrión a partir del cigoto se define como embriogénesis cigótica. Una planta típica consta de raíces, tallos, hojas y órganos reproductores (flor y fruto), y se denomina esporofito, el cual es diploide ($2n$). Durante el ciclo reproductivo, el esporofito produce gametófitos masculinos y femeninos multicelulares dentro de la flor. Los gametófitos son haploides (n), ya que son el resultado de la división celular meiótica, posteriormente experimentan divisiones mitóticas para producir gametos maduros haploides. El gameto masculino es un grano de polen maduro (espermatozoide) producido por las anteras, mientras que el gameto femenino (saco embrionario) es producido dentro del ovario. La fusión de los gametos masculinos y femeninos genera un cigoto diploide mediante un proceso conocido como fecundación. El cigoto experimenta posteriormente varias divisiones celulares mitóticas para formar el embrión y dar lugar al desarrollo de la semilla. El embrión contenido en la semilla posee todas las características básicas necesarias para generar una planta completa. De este modo, cada planta presenta un ciclo vital caracterizado por la alternancia entre generaciones haploides y diploides.

2.2. EMBRIOGÉNESIS APOMÍCTICA

La apomixis se define como la formación asexual de semillas a partir de los tejidos maternos del óvulo, eludiendo los procesos de meiosis y fecundación, y dando lugar al desarrollo del embrión (Bicknell y Koltunow, 2004).

Existen dos tipos de apomixis en las plantas: esporofítica y gametofítica. En la **apomixis esporofítica**, el embrión se desarrolla directamente a partir de una célula somática no reducida (diploide) del óvulo (p. ej., del tegumento o de la nucela); este fenómeno también se conoce como *embrión adventicio*. En la **apomixis gametofítica**, el embrión se desarrolla a partir de un saco embrionario no reducido. Dicho saco puede originarse a partir de una célula madre de la megaspora que no ha realizado la división reduccional –proceso denominado *diplosporía*– o bien a partir de una célula somática que actúa como espora para producir el saco embrionario, proceso denominado *aposporía*. El saco embrionario no reducido continúa su desarrollo y forma una ovocélula diploide, así como sinérgidas y células antípodas diploides. La ovocélula diploide acaba desarrollándose hasta formar un embrión sin necesidad de fecundación, proceso conocido como *partenogénesis*. Las sinérgidas y las antípodas también pueden formar embriones mediante un proceso llamado *apogamia*. En la apomixis gametofítica, la célula central se desarrolla de forma autónoma para formar un endospermo funcional; sin embargo, en algunas especies la apomixis requiere polinización para iniciar el desarrollo del endospermo, fenómeno denominado *pseudogamia*.

2.3. EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA

Las células vegetales son totipotentes por naturaleza. La totipotencia celular se define como la capacidad de las células vegetales para regenerarse en una planta completa. Por lo tanto, las plantas pueden iniciar la embriogénesis a partir de muchas células somáticas distintas del cigoto –proceso denominado *embriogénesis somática*–, lo que genera descendientes genéticamente idénticos (*propagación clonal*) a la planta madre (salvo que se produzca variación somaclonal). Las plantas poseen una totipotencia celular única que permite cultivar tejidos de casi cualquier parte de la planta para generar un nuevo individuo, una práctica conocida como *cultivo de tejidos vegetales*. La posibilidad de regenerar una planta completa a partir de una sola célula o de unas pocas células no cigóticas fue propuesta por **Gottlieb Haberlandt** (1854–1945) en 1902. En 1958, Frederick C. **Steward** (1904–1993) y sus colegas de la Universidad de Cornell lograron producir plantas a partir de segmentos obtenidos de la raíz principal de zanahoria mediante

técnicas de cultivo de tejidos. Estos pequeños explantos estaban constituidos por células diferenciadas del floema secundario.

2.4. EMBRIOGÉNESIS GAMÉTICA

En condiciones normales, las células gaméticas producen gametos (polen o saco embrionario) a través de la vía gametofítica. Sin embargo, en ciertas etapas, debido a condiciones ambientales desfavorables, las células gaméticas producen directamente embriones o estructuras similares a embriones en lugar de gametos. Estos embriones se desarrollan posteriormente en esporofitos haploides que contienen un único conjunto de cromosomas.

Por lo tanto, los haploides son “un esporofito que contiene un único conjunto de cromosomas ($2n = x$)”. Las plantas haploides son estériles, ya que no pueden experimentar la recombinación meiótica para emparejar sus cromosomas. Por consiguiente, ya no producen semillas y no pueden cultivarse mediante propagación. Sin embargo, esto no limita el uso de haploides en el mejoramiento genético, ya que los haploides duplicados (DH) pueden generarse mediante duplicación cromosómica espontánea o inducida (Burk et al., 1979; Kochhar et al., 1971; Sunderland y Wicks, 1971).

Los DH son fértiles y se propagan por semillas. Además, son completamente homocigotos, en todos los loci, en una generación, lo que acorta el tiempo de mejoramiento y permite una selección fácil y rápida de rasgos agronómicos. En contraste con la producción de líneas homocigotas mediante procedimientos de mejoramiento convencionales que requiere mucho tiempo y mano de obra, ya que exige varias generaciones de retrocruzamiento o autopolinización.

La **embriogénesis gamética** es de dos tipos: embriogénesis androgénica (androgénesis) y embriogénesis ginógena (ginogénesis). En la androgénesis, una célula gamética masculina (microspora) produce embriones directamente, en lugar de diferenciarse en granos de polen o gametos maduros a través de una vía gametofítica. Es posible la formación de un callo previamente en este caso se llama embriogénesis indirecta (Touraev et al., 1997).

La embriogénesis ginogénica (ginogénesis) consiste en la producción de embriones exclusivamente a partir de un gametofito femenino (óvulos, óvulos unidos a la placenta, ovarios o botones florales completos).

3. ASPECTOS CELULARES DE LA ANDROGÉNESIS

Durante el desarrollo normal del polen, la célula madre del polen (**CMP**) experimenta meiosis para producir cuatro microsporas haploides (**microesporogénesis**).

Las microsporas son uninucleadas (poseen un solo núcleo) y contienen una gran vacuola. Las microsporas experimentan una división asimétrica (mitosis de la microspora) que da lugar a una célula **generativa** pequeña y a una célula **vegetativa** grande; este producto bicelular se denomina **polen**. La célula **generativa dentro del polen joven se divide nuevamente (segunda mitosis) para producir dos células espermáticas**, mientras que la célula vegetativa se detiene en la fase G1 del ciclo celular y cesa su división. En esta etapa, el grano de polen acumula gránulos de almidón y otros productos de reserva hasta alcanzar su tamaño completo (Bedinger, 1992; Gresshoff y Doy, 1972; Maraschin et al., 2005; McCormick, 1993). Por tanto, el polen en esta etapa es una célula gametofítica altamente diferenciada y está listo para participar en el proceso de reproducción sexual.

En algunos casos, las microsporas producen embriones de forma asexual; estos embriones se denominan embriones androgénicos y el proceso se conoce como embriogénesis androgénica. Así, el embrión androgénico resulta de una reprogramación completa del desarrollo gametofítico normal de la microspora hacia un crecimiento esporofítico. Diversas evidencias experimentales sugieren que la transición entre la microesporogénesis y la microgametogénesis es un punto crítico para determinar la vía de desarrollo, ya que una alteración en la primera mitosis (mitosis de la microspora) basta para desviar la microspora hacia la vía esporofítica y producir embriones en lugar de polen. Existen tres fases superpuestas durante el mecanismo de acción de la androgénesis (Maraschin et al., 2005):

Fase I: Adquisición del potencial embriogénico. Esta fase conlleva la represión de la capacidad de la célula agamética para participar en el desarrollo gametofítico y conduce a la desdiferenciación celular para adquirir capacidad androgénica. Diversos factores fisiológicos y ambientales influyen en esta fase del desarrollo.

Fase II: Inicio de la división celular. Esta fase implica la segmentación temprana de las microsporas, lo que conduce a la formación de estructuras multicelulares (EMC) en el interior de la pared del polen (exina).

Fase III: Formación de patrones. En esta fase, se produce la liberación de las EMC mediante la ruptura de la pared del polen y tiene lugar la formación de patrones para generar estructuras similares a embriones, también denominadas *embrioides androgénicos*.

3.1. DIFERENTES RUTAS QUE CONDUCEN A LA ANDROGÉNESIS

Para la androgénesis son necesarios dos pasos: el cambio del programa gametofítico para inducir la vía embriogenética y el desarrollo del embriode

(Sangwan y Camefort, 1983). La embriogénesis androgenética solo se ha observado experimentalmente *in vitro* cuando las microsporas se cultivan en una etapa específica de desarrollo (Bhojwani et al., 1973). El cultivo *in vitro* de anteras en la etapa de tétrada o en la etapa binucleada puede utilizarse para inducir la androgenesia (Kameya y Hinata, 1970); sin embargo, se demostró que las microsporas que se encuentran justo antes o en el momento de la primera mitosis (mitosis de la microspora) poseen un mayor potencial androgenético (Nitsch y Nitsch, 1969).

Vía I. La microspora uninucleada, en lugar de experimentar la división asimétrica para formar el núcleo generativo y vegetativo, se divide simétricamente dando lugar a dos núcleos idénticos (Nitsch y Norreel, 1973) o bien se produce una segmentación directa (Rashid y Street, 1974). La división simétrica se observó en *Brassica napus* (Indrianto et al., 2001; Zaki y Dickinson, 1991), donde las microsporas se dividen simétricamente para producir dos células hijas, y ambas conducen a un desarrollo esporofítico.

Vía II. La microspora uninucleada se divide asimétricamente para producir células generativa y vegetativa, tal como ocurre durante el desarrollo normal del polen. La célula generativa degenera tras una o dos divisiones, pero la célula vegetativa se divide repetidamente para formar un embrión o callo haploide. La vía se observa comúnmente en *Nicotiana*, *Datura*, *Zea mays*, *Hordeum vulgare* y *Triticum aestivum* (Clapham, 1971; Iyer y Raina, 1972; Pescitelli y Petolino, 1988; Sunderland y Wicks, 1971).

Vía III. La microspora uninucleada se divide asimétricamente para formar una célula vegetativa y una generativa; sin embargo, los embriones polínicos se forman principalmente a partir de la célula generativa por sí sola. La célula vegetativa no se divide o lo hace de manera limitada, formando una estructura similar a un suspensor (p. ej., en *H. niger*).

Vía IV. La microspora uninucleada se divide asimétricamente para formar células vegetativa y generativa. Ambas células se dividen repetidamente y producen embriones en desarrollo. Este fenómeno se ha observado en cultivos de anteras de *Datura innoxia*.

Vía V. En *B. napus*, la primera división es simétrica y los embriones polínicos se desarrollan exclusivamente a partir de la célula vegetativa independientemente de los diferentes modos de acción en el patrón de división de la microspora, todos estos granos de polen deben desdiferenciarse para formar una estructura multicelular (MCS, por sus siglas en inglés). Estas MCS finalmente rompen la pared del polen y experimentan una diferenciación posterior para regenerar una plántula completa. La regeneración de una plántula a partir de una MCS puede ocurrir mediante embriogénesis directa o indirecta. Durante la embriogénesis directa, las MCS rompen la pared en el estadio globular y

adquieren estructuras similares a embriones, de las cuales emergen plántulas en un plazo de 4 a 8 semanas. En el caso de la embriogénesis indirecta, las MCS se dividen unas pocas veces para formar un callo, el cual rompe la pared del polen. Posteriormente, el callo se diferencia para formar embriones o regenerar raíces y brotes. Las plantas derivadas de callos presentan variaciones genéticas y, por lo general, no son deseables para la producción de haploides homocigotos.

3.2. TEORIAS SOBRE LA INDUCCIÓN DE LA ANDROGÉNESIS

La formación de embriones androgenéticos se produce debido a un cambio del desarrollo gametofítico al esporofítico; sin embargo, el momento preciso en que esto ocurre sigue siendo objeto de debate. La teoría *indeterminista* sostiene que dicho cambio tiene lugar tras la separación del botón floral de la planta donante y que las condiciones de cultivo son las responsables de este. Según esta hipótesis, todos los granos de polen cultivados tienen potencial androgénico si se cultivan antes de que se desactiven los genes que determinan el desarrollo gametofítico (Vasil, 1973).

Por otro lado, la teoría *determinista* establece que el entorno influye en la diferenciación de los gametos masculinos durante la meiosis de las células madre del polen (CMP). Durante una meiosis normal, se mantienen los determinantes gametofíticos y se eliminan los esporofíticos. Si los determinantes esporofíticos persisten debido a una meiosis anómala de las CMP, la célula adquiere un potencial androgénico. Según Heberle-Bors (1985), la capacidad androgénica de las microsporas se determina únicamente durante la meiosis; una vez finalizada esta, solo la viabilidad de dicho polen predeterminado puede verse afectada. Se propone que, tras la meiosis, el grano de polen dispone de una oportunidad adicional para volverse embriogénico durante la etapa de polen uninucleado.

3.3. FACTORES QUE AFECTAN LA ANDROGÉNESIS

Diversos factores endógenos y exógenos influyen en la embriogénesis de las microsporas, siendo los más determinantes el genotipo de la planta donante y sus condiciones de crecimiento. A menudo, dos cultivos distintos del mismo genotipo muestran una variación considerable al utilizar el mismo medio de cultivo; por ello, suele recomendarse modificar los protocolos establecidos para adaptarlos al nuevo sistema.

3.3.1. Genotipo de las plantas donadoras

El éxito de la androgénesis depende del potencial genético de la planta donante. Pueden existir variaciones intraespecíficas (dentro de la misma especie) o interespecíficas

(entre especies distintas). La variación *intraespecífica* observada es tan elevada que algunas líneas (cultivares) de una especie muestran una buena respuesta androgénica, mientras que otras presentan una respuesta extremadamente pobre o nula. Por ejemplo, en *T. aestivum*, de un total de 21 cultivares, solo 10 son capaces de producir haploides. En el caso del arroz, la respuesta a la androgénesis es mayor en los cultivares de tipo *Japonica* que en los de tipo Indica (Bajaj, 1990; Cho y Zapata, 1990; Miah et al., 1985; Raina y Zapata, 1997).

Las variaciones genóticas podrían minimizarse mediante el desarrollo de protocolos específicos para cada genotipo; sin embargo, esto requiere un estudio detallado de los factores fisiológicos y una amplia manipulación de las condiciones de cultivo *in vitro* (Dunwell et al., 1987). Como método alternativo, se puede transferir el carácter androgénico desde líneas con alta capacidad androgénica hacia material de mejora que originalmente presentaba un comportamiento recalcitrante (sin respuesta al cultivo de anteras). Este enfoque se ha probado con éxito en papa, cebada y maíz (Foroughi-Wehr et al., 1982; Jacobsen y Sopory, 1978; Petolino et al., 1988; Wenzel y Uhrig, 1981). El carácter androgénico (o la capacidad de cultivo de anteras) es un carácter cuantitativo controlado por genes de herencia nuclear (Miah et al., 1985). Por consiguiente, la selección de los loci de caracteres cuantitativos (QTL) responsables de la capacidad de cultivo de anteras resultará útil para seleccionar progenitores destinados al mejoramiento de haploides. En arroz, se identificaron QTL relacionados con la capacidad de cultivo de anteras en una población derivada del cultivo de anteras de una línea de doble haploide (DH). Se identificaron cinco QTL en los cromosomas 6, 7, 8, 10 y 12 asociados a la frecuencia de inducción de callos. Asimismo, se hallaron dos QTL para la diferenciación de plántulas verdes en los cromosomas 1 y 9, y un QTL para la diferenciación de plántulas albinas, pero no se encontró ningún QTL independiente para la frecuencia de obtención de plántulas verdes. Por tanto, la respuesta al cultivo de anteras no es un carácter simple o único; más bien, consta de varios componentes que corresponden a mecanismos independientes y con patrones de herencia distintos, según se detalla a continuación:

1. **Inducción de callos:** la capacidad de las microsporas presentes en las anteras cultivadas para iniciar divisiones y dar lugar a una acumulación celular en proliferación.
2. **Estabilización del callo:** la preservación de células completas y plenamente funcionales dentro del callo.
3. **Inducción de plántulas:** la capacidad de las células de los callos para dar lugar a embriones y plantas.

- 4. Formación de plántulas verdes frente a albinas:** la producción de plantas haploides y DH verdes plenamente funcionales.

3.3.2. Estado fisiológico de las plantas donadoras

La respuesta androgénica está muy influenciada por la fisiología y las condiciones ambientales de las plantas donantes. Las anteras de plantas donantes débiles producen solo unos pocos embriones o callos *in vitro*. Sin embargo, las condiciones fisiológicas óptimas varían de una especie a otra. Se observa que el primer conjunto de botones florales da una mejor respuesta que los que nacen más tarde (Sunderland y Wicks, 1971; Sato et al., 1989). Por lo tanto, las anteras deben cultivarse a partir de los primeros botones florales durante la floración. También se observa que la formación de plántulas falla a partir de anteras de *D. metel* que han superado la etapa de máxima floración (Narayanswamy y Chandy, 1971). Por el contrario, las microsporas aisladas de plantas más viejas de *B. napus* produjeron más embriones que las de plantas más jóvenes (Takahata et al., 1996). Se ha informado que las anteras de plantas tardías dan una mejor respuesta.

Los niveles endógenos de hormonas y el estado nutricional de la antera también afectan a la androgenesis. El aumento del ácido abscísico (ABA) durante el estrés hídrico incrementa la frecuencia de microsporas androgénicas en *H. vulgare* (Wang et al., 1999). Las plantas cultivadas en condiciones de deficiencia de nitrógeno producen un mayor número de embriones derivados de microsporas que aquellas a las que se les suministra fertilizante (Sunderland, 1978). Se sugiere que las características del polen embriogénico – tales como una estructura de la exina más fina, una tinción débil con acetocarmin, la presencia de una vacuola y la ausencia de granos de almidón – son consecuencia de la carencia de nitrógeno (Heberle-Bors, 1982).

Las condiciones ambientales – como el fotoperiodo, la calidad e intensidad de la luz, la temperatura, la nutrición y los fertilizantes, la concentración de CO₂ y diversos tipos de estrés biótico y abiótico – influyen en el proceso de androgenesis. Las anteras recolectadas de plantas cultivadas en campo ofrecieron una mejor respuesta que las provenientes de plantas cultivadas en invernadero (Vasil, 1980). La duración del día y la temperatura durante la meiosis provocan una desviación en el equilibrio sexual y, por consiguiente, un aumento en la frecuencia de polen embriogénico en *N. tabacum* (Heberle-Bors, 1982). Algunos estudios también han demostrado que tanto el fotoperiodo como la intensidad lumínica influyen en la androgenesis (Dunwell, 1976). En el caso de las especies de Brassica, las plantas donantes se cultivan inicialmente a 20 °C/15 °C, reduciéndose la temperatura a 10 °C/5 °C justo antes de la emisión del tallo floral. Los botones florales

recolectados en el momento oportuno de estas plantas sometidas a estrés dieron lugar a una mayor frecuencia de embriones derivados de microsporas (Ferrie et al., 1995). Sin embargo, el mismo enfoque de tratamiento por frío no funcionó en otras especies como el espárrago (Wolyn y Nichols, 2003), el pimiento (Lantos et al., 2009) o *Saponaria vaccaria* L. (Kernan y Ferrie, 2006).

3.3.3. Estado de desarrollo de la microspora

La etapa de desarrollo apropiada de la microspora para la androgénesis varía entre especies y también según el tratamiento utilizado para la inducción. Básicamente, se pueden obtener haploides cultivando el polen en diferentes etapas de desarrollo (p. ej., tétrada de polen, polen joven uninucleado, polen intermedio uninucleado, polen tardío uninucleado, polen binucleado y polen maduro). Generalmente, las microsporas presentan una alta competencia androgénica alrededor de la primera mitosis (etapa uninucleada) o granos de polen bicelulares en estadios temprano o intermedio); sin embargo, pierden su capacidad androgénica una vez que acumulan granos de almidón (Heberle-Bors, 1989). En *B. napus*, los granos de polen uninucleados tardíos y los bicelulares tempranos mostraron una mayor respuesta, mientras que en *N. tabacum* respondieron mejor los granos de polen uninucleados más jóvenes. No obstante, en *Arabidopsis thaliana*, se demostró que las células madre de las microsporas en las primeras etapas de la meiosis poseían una alta competencia embriogénica (Gresshoff y Doy, 1972). En *Lycopersicon esculentum* (tomate), las microsporas presentes en las anteras en estadio de meiocito – justo antes de la compartimentación de la tétrada – mostraron una mejor respuesta (Seguí-Simarro y Nuez, 2005). El estadio de desarrollo de la microspora también puede influir en el nivel de ploidía de la planta resultante. Las anteras con microsporas uninucleadas dan lugar a plantas haploides, mientras que las microsporas binucleadas (y aquellas en estadios binucleados más avanzados) generaron plantas diploides y triploides, respectivamente (Engvild et al., 1972). Por consiguiente, la recolección de las anteras en el estadio adecuado para obtener polen con competencia embriogénica resulta crucial para la androgenesis. El estadio de desarrollo del polen puede examinarse mediante tinción con acetocarmin (acetocarmin al 1 % en ácido acético al 45 %), aplastando las anteras directamente en la solución colorante.

3.3.4. Pretratamientos

Numerosas investigaciones demuestran que la microespora uninucleada, justo antes de la primera mitosis, es la más propicia para la inducción de la androgénesis.

Durante este proceso, la microespora experimenta diversos cambios bioquímicos y fisiológicos, que se han utilizado como marcadores para determinar la capacidad embriogénica de la microespora. No obstante, estos marcadores no son universales para todas las especies, ya que cada una presenta cambios distintos durante la androgénesis. La microespora uninucleada sometida a estrés adquiere una estructura «estrellada», con un núcleo central rodeado de filamentos citoplasmáticos radiales (Touraev et al., 1996). Se ha observado que esta morfología estrellada es indicativa de microsporas embriogénicas en diversas especies, como el trigo, el tabaco, el arroz y el manzano (Hofer, 2004).

Se han aplicado distintos tipos de estrés (frío, calor, privación de nutrientes y agentes químicos) como tratamientos previos en plantas donantes, espigas o botones florales aislados y anteras cultivadas (Shariatpanahi et al., 2006).

A. FRIO

El tratamiento en frío se lleva a cabo a una temperatura de entre 4 y 10 °C durante un periodo que oscila entre unos pocos días y varias semanas, dependiendo del genotipo de la planta donante. La aplicación de este tratamiento se describió por primera vez en cultivos de anteras y microsporas de *Datura* (Nitsch y Norreel, 1973). Posteriormente, otros estudios informaron sobre la inducción de embriogénesis de microsporas mediante bajas temperaturas en cebada, arroz, trigo harinero, trigo duro, avena, triticale, *Citrus clementina* y lino (Shariatpanahi et al., 2006). También se aplicó el tratamiento en frío a cultivos de anteras de tabaco para inducir la embriogénesis. El pretratamiento de cultivos de anteras a 5 °C durante los dos primeros días favoreció la androgénesis en *Cyclamen persicum* Mill. (Ishizaka y Uematsu, 1993). Diversos estudios demuestran que las plantas sometidas a tratamiento en frío producen plantas doble-haploides (DH) de forma espontánea debido a un aumento de la endoreduplicación.

B. CALOR

El pretratamiento térmico es muy eficaz en el desarrollo de la embriogénesis del polen. Generalmente se realiza a 33–37 °C durante un periodo que varía de varias horas a varios días. El tratamiento térmico se ha utilizado en microsporas aisladas de colza, trigo, tabaco, berenjena y otros cultivos (Shariatpanahi et al., 2006). La temperatura óptima para el tratamiento térmico varía según el genotipo. La androgénesis se vio favorecida en *B. campestris* L. mediante el cultivo de las anteras a 35 °C durante 1 a 3 días antes de su cultivo a 25 °C.

C. AYUNO

El estrés por privación de nutrientes se ha utilizado para inducir la embriogénesis del polen en muchos cultivos. En el caso del tabaco, se ha empleado la privación de azúcares y de nitrógeno. Sin embargo, la privación de azúcares dio lugar a una elevada embriogenicidad en microsporas aisladas de tabaco, arroz, cebada, manzano y centeno (Shariatpanahi et al., 2006a).

D. COLCHICINA

Se empleó un tratamiento con colchicina en cultivos de microsporas aisladas de *B. napus* y café. El cultivo de microsporas de *B. napus* tratado con concentraciones de 50 y 500 mg/l produjo un elevado número de embriones, y la eficiencia de la duplicación cromosómica osciló entre el 83 % y el 91 %. La colchicina es un fármaco que altera los microtúbulos; su aplicación provoca la despolimerización de estos durante la división celular, lo que impide la formación del huso mitótico (proceso necesario para desplazar los cromosomas hacia los polos opuestos antes de que la célula entre en la fase G2) y da lugar a la endoreduplicación o endomitosis.

La respuesta de las microsporas a la colchicina parece depender de su estadio de desarrollo. En colza, la mayor frecuencia de embriogénesis se ha obtenido en microsporas vacuoladas, un estadio ligeramente anterior al de la población que responde a la inducción por calor (Zhao et al., 1996).

E. ESTRÉS (RADIOACTIVO, QUÍMICO)

Se utilizó **irradiación gamma** para inducir la embriogénesis en cultivos de anteras de colza y tomate (Shtereva et al., 1998). La combinación de radiación seguida de un tratamiento de frío (10 °C durante nueve días) aumentó la embriogénesis en los cultivos de anteras de tomate. Asimismo, se ha empleado la radiación para obtener plantas androgénicas a partir de variedades recalcitrantes de arroz, cebada y *Solanum nigrum* (Aldemita y Zapata, 1991; Kopecký y Vagera, 2005; Vagera et al., 2004). La irradiación altera los niveles de auxinas y citoquininas en el tejido somático, pero no está claro si este cambio es la causa de la androgenesis. Otros tipos de estrés menos estudiados –tales como la presión atmosférica reducida, el ABA, el etanol, el choque hipertónico y el tratamiento centrífugo– solo se han evaluado en unas pocas especies (Imamura y Harada, 1980; Pechan y Keller, 1989; Tanaka, 1973; Wang et al., 1981). Apenas existen informes recientes que amplíen la aplicación de estos tratamientos de estrés a otras especies. Se

utilizó un pH elevado del medio o medios que contenían metales pesados, como el litio, para inducir la embriogénesis en microsporas de *N. tabacum* (Barinova et al., 2004; Zonia y Tupý, 1995). Las microsporas de **B. napus** se cultivaron en presencia de sustancias químicas inductoras (Liu et al., 2003). No obstante, todos estos nuevos tipos de estrés requieren ser evaluados detalladamente en otras especies.

4. CULTIVO DE MICROSPORAS

La base de este método consiste en aislar microsporas de las anteras y cultivarlas para producir plantas haploides o doble-haploides (DH). Si bien la mayoría de los estudios iniciales preferían el cultivo de anteras intactas para la producción de plantas haploides, recientemente se prefiere el cultivo de microsporas aisladas, ya que este aporta diversas ventajas al campo. Mediante la técnica de cultivo de microsporas aisladas es posible obtener callos haploides con pureza genética (donde todas las células del callo sean haploides). Esta técnica exige un mayor nivel de equipamiento y destreza para eliminar la pared somática de la antera y liberar los granos de polen individuales. La eliminación del tejido somático durante el aislamiento del polen es crucial, ya que su presencia puede dar lugar a callos, embriones y plantas diploides, resultando en una mezcla de callos haploides y diploides. El cultivo de polen aislado se realizó por primera vez en *Petunia hybrida* (Binding, 1972), inoculando una gran cantidad de granos de polen en un medio nutritivo para obtener masas de tejido multicelular a partir de granos individuales. Posteriormente, se estableció el cultivo de microsporas para numerosas especies, tales como *Nicotiana tabacum*, *B. napus*, cebada y tabaco. En el caso de **B. napus**, los botones florales se incubaron a 4 °C durante varios días antes de aislar el polen. A continuación, los granos de polen se cultivaron en un medio que contenía ácido 1-naftalenacético (ANA) y 6-bencilaminopurina (BAP), además de extractos de patata, para obtener embrioides y plantas. Este estudio demostró con éxito la producción de haploides mediante la técnica de cultivo de microsporas aisladas.

4.1. AISLAMIENTO DE POLEN

Se emplearon diversos métodos para aislar las microsporas. Se utilizaron principalmente la centrifugación en gradiente, el método de liberación espontánea de microsporas y el método de compresión de anteras.

4.1.1. Método de liberación

En este enfoque, las anteras se colocan directamente en un medio líquido y se permite que liberen sus microsporas. Posteriormente, estas microsporas se cultivan para el desarrollo de callos y la regeneración de plantas. El método de liberación se demostró inicialmente en cultivos de anteras de tabaco y más tarde se aplicó extensamente al trigo (Wei, 1982) y a la cebada (Ziauddin et al., 1990). Se recomienda pretratar las anteras con manitol 0,3 M y macronutrientes durante aproximadamente una semana para aumentar la liberación durante el cultivo (Kasha et al., 2001). La técnica de liberación ha sido el método preferido para la producción de haploides en *Capsicum annuum* L. (pimiento) (Supena et al., 2006). En el caso del pimiento, es fundamental seleccionar botones florales que contengan más de un 50 % de microsporas en estadio unicelular tardío y someterlos a un pretratamiento a 4 °C durante un día. A continuación, las anteras se cultivan en un sistema de medio de doble capa (descrito más adelante) durante una semana a 9 °C y, posteriormente, se incuban a 28 °C en oscuridad continua.

4.1.2. Método de agitación con barra magnética

Se trata simplemente de una extensión del método de liberación espontánea. Las anteras no pueden liberar todas las microsporas al medio líquido, y una cantidad considerable de polen permanece encerrada en el interior de la pared de la antera. La aplicación de agitación mediante una barra magnética ayuda a liberar las microsporas por completo y, por consiguiente, influye considerablemente en el rendimiento de microsporas obtenido mediante la liberación natural (Cho y Zapata, 1990). Los procedimientos de liberación y agitación no resultaron eficaces en los cultivos de microsporas de trigo.

4.1.3. Método de aislamiento mecánico

Este método puede llevarse a cabo mediante maceración, trituración o prensado.

1. Maceración

En esta técnica, las anteras se presionan a través de un filtro de malla utilizando una varilla de vidrio o de teflón para recolectar las microsporas. Esta técnica se estableció inicialmente para el aislamiento de microsporas en *B. napus* (Lichter, 1982). Recientemente se ha comenzado a practicar la maceración seguida de centrifugación en gradiente. En este método, los botones florales esterilizados superficialmente se trituran con mortero y mano de mortero para liberar las microsporas de las anteras. El homogeneizado resultante se pasa luego por papel de filtro para separar las microsporas de los tejidos somáticos

de la pared de la antera y del botón floral, y posteriormente se centrifuga utilizando un gradiente (de Percoll, maltosa o sacarosa) para separar los estadios de desarrollo de las microsporas. Alternativamente, se pueden triturar directamente las anteras (en lugar de los botones florales) utilizando mortero y mano de mortero; esto reduce la cantidad de tejido somático que debe separarse de las microsporas.

2. Trituración mecánica (Blending)

Las anteras suspendidas en manitol 0,3 M se colocan en una microtrituradora y se someten a alta velocidad (20.000 rpm) durante 30 segundos. La microtrituradora emplea cuchillas afiladas a velocidad moderada y, por tanto, es capaz de cortar rápidamente las anteras en fragmentos y liberar las microsporas. La suspensión resultante se filtra a través de una malla de nailon de 100 µm para separar los restos de tejido somático de las microsporas. La técnica de trituración mecánica se estableció inicialmente para aislar microsporas de cebada (Olsen, 1992) y posteriormente se adaptó al trigo (Mejza et al., 1993). Las microsporas liberadas mediante este método suelen presentar menos daños y una mayor capacidad embriogénica y reproducibilidad que las obtenidas por maceración o por cualquiera de los otros métodos explicados anteriormente. No obstante, el aislamiento por trituración mecánica también puede dañar las microsporas, especialmente cuando la velocidad y la duración del proceso no están optimizadas.

5. PROTOCOLO BÁSICO PARA EL CULTIVO DE POLEN

5.1. CULTIVO NODRIZA

El uso de la técnica de cultivo nutricional se demostró por primera vez en *L. esculentum* (Sharp et al., 1972). En este método, las anteras intactas del botón floral se colocan horizontalmente sobre el medio basal semisólido o sólido dentro de un matraz cónico (las anteras intactas actúan como tejido nutricional). Un pequeño disco de papel de filtro se coloca sobre las anteras intactas. Mientras tanto, se debe preparar una suspensión separada de polen –proveniente de las anteras de otro capullo similar– en un medio líquido (aproximadamente diez granos de polen por cada 5 ml de medio). A continuación, se deposita mediante pipeta una gota de dicha suspensión sobre un disco de papel (transfiriendo unos 10 granos de polen a cada disco). En el caso de *L. esculentum*, el cultivo nodriza generó numerosos clones en el plazo de un mes, los cuales resultaron ser uniformemente haploides.

Otros estudios han empleado diferentes partes florales como tejido nodriza. En la técnica de cultivo nodriza aplicada a *N. tabacum*, el tejido nodriza estaba constituido

por estambres, pétalos, sépalos e incluso hojas adultas de la misma planta en la etapa de mitosis del polen. También se practica la adición de un extracto acuoso de anteras de *Nicotiana* al cultivo de microsporas de *Datura* y *Lycopersicum* para actuar como nodriza del cultivo (Acharya & Ramji, 1977).

5.2. SISTEMA DE MEDIO DE DOBLE CAPA

Este método deriva del cultivo de liberación de microsporas y es el sistema de elección, especialmente para el cultivo de microsporas en *C. annuum* L. (Supena et al., 2006). El sistema de doble capa consta de dos capas de medio: una inferior y una superior. La capa inferior es un medio sólido que contiene los componentes de Nitsch, un 2 % de maltosa y un 1 % de carbón activado. La capa superior es un medio líquido que contiene 2,5 μM de zeatina y 5 μM de ácido indol-3-acético. Las anteras se suspenden en el medio líquido para que liberen sus microsporas. Este sistema se evaluó con diez genotipos de pimiento picante y todos ellos respondieron al protocolo. Asimismo, se recomienda este método para la obtención de líneas doble-haploides (DH) en programas de mejora genética de pimiento picante.

6. VENTAJAS DEL CULTIVO DE MICROSPORAS SOBRE EL CULTIVO DE ANTERAS

El cultivo de anteras es una técnica relativamente sencilla para producir haploides, pero su aplicación se limita a unos pocos cultivos. Muchos cultivos siguen siendo recalcitrantes y no responden al cultivo de anteras. A menudo, el rendimiento de embriones en el cultivo de anteras es relativamente bajo, a pesar de la presencia de miles de microsporas en su interior. Esta dificultad para obtener rendimientos significativos mediante el cultivo de anteras impulsó el uso del cultivo de microsporas aisladas para la producción de haploides.

El cultivo de microsporas presenta varias **ventajas** frente al cultivo de anteras:

1. En el cultivo de microsporas, las microsporas aisladas quedan expuestas de manera uniforme al medio nutritivo, lo que facilita que los embriones en desarrollo accedan a una mejor disponibilidad de nutrientes. En el cultivo de anteras, las microsporas se encuentran hacinadas dentro de la pared de la antera y, por tanto, no quedan expuestas uniformemente al medio nutritivo.
2. En el cultivo de microsporas, es posible lograr la pureza genética del callo haploide. En el cultivo de anteras, la pared de la antera puede producir callo somático diploide, lo que provoca impureza genética en el callo. Además, las secreciones de la pared de la antera (capa del tapete) afectan negativamente

a la embriogénesis de las microsporas y a menudo perturban el control estricto de las condiciones de cultivo.

3. El cultivo de microsporas permite obtener un rendimiento significativo de embriones. Es posible conseguir cientos o incluso miles de embriones a partir de las microsporas aisladas de una sola antera. El cultivo de anteras tiene una eficiencia limitada, ya que produce pocos embriones por antera cultivada.
4. En el cultivo de microsporas, los factores in vitro pueden afectar directamente a la microspora y a los embriones derivados de ella. En el cultivo de anteras, las microsporas están encerradas en el interior de las anteras y, por consiguiente, no quedan expuestas directamente a las condiciones in vitro; el efecto se transmite a través de la pared de la antera.
5. En el cultivo de microsporas, es posible monitorizar el proceso de androgenesis – como la maduración de la microspora y el desarrollo del embrión – desde la etapa de célula individual. Esto ayuda a regular los diversos factores que rigen la androgénesis.
6. El cultivo de microsporas es adecuado para comprender los procesos celulares, fisiológicos, bioquímicos y moleculares implicados en la androgénesis.
7. El cultivo de microsporas es ideal para estudios de mutagenia, ya que un grano de polen individual puede exponerse de manera uniforme a agentes mutagénicos químicos y físicos.
8. El cultivo de microsporas es la única opción para algunas especies que siguen siendo recalcitrantes a la androgenesis.

Algunas de las **desventajas** del cultivo de microsporas:

1. El cultivo de microsporas aisladas requiere un mejor equipamiento y una mayor cualificación técnica.
2. La viabilidad y la desecación de la microspora aislada son factores cruciales que deben tenerse en cuenta.
3. Los rendimientos son variables. En algunos casos, casi todas las microsporas del cultivo produjeron embrioides y, en otros, ninguna de ellas mostró respuesta.

7. PRODUCCIÓN DE PLANTAS HAPLOIDES Y DOBLE-HAPLOIDES

El desarrollo espontáneo de haploides se describió por primera vez en el algodón Sea Island (Harland, 1920). Desde entonces, se ha informado de la aparición de embriones

haploides naturales – derivados de células del saco embrionario por vía apomíctica – en más de 71 especies pertenecientes a 39 géneros y 16 familias de angiospermas (Acharya y Ramji, 1977). Sin embargo, los haploides naturales no se producen con frecuencia y, por tanto, su importancia práctica es menor. Esta limitación impulsó a los mejoradores a inducir la producción de haploides mediante diversos métodos. Inicialmente (antes de la década de 1960), los haploides se obtenían mediante técnicas *in vivo*, tales como la hibridación interespecífica o amplia, la eliminación cromosómica y la polinización con polen irradiado. Estas técnicas *in vivo* producían haploides con poca frecuencia y en cantidades muy reducidas, por lo que, en aquella época, su uso se destinaba principalmente a estudios genéticos más que al mejoramiento vegetal.

7.1. PRODUCCIÓN DE HAPLOIDES *IN VIVO*

La producción de haploides *in vivo* puede lograrse modificando el método de polinización; por ejemplo, mediante la polinización con polen de la misma especie (p. ej., maíz), con polen irradiado, o con polen de una especie pariente-lejana (p. ej., cebada y papa) o no emparentada (p. ej., trigo). La polinización mediante estos métodos provoca la eliminación de los cromosomas paternos durante las primeras etapas de la embriogénesis, lo que da lugar a embriones haploides. Asimismo, estos métodos inducen la fecundación de los núcleos polares y el desarrollo de un endospermo funcional, lo que conduce al desarrollo partenogenético de los embriones haploides. La partenogénesis es el proceso de formación de un embrión sin que se produzca la fecundación de la ovocélula

7.1.1. Polinización con polen de la misma especie (cruzamiento intraespecífico)

Este método implica el cruzamiento legítimo dentro de la misma especie utilizando genotipos inductores seleccionados. Dicho cruzamiento intraespecífico da lugar a una mezcla de embriones híbridos normales y embriones maternos haploides con endospermos triploides normales. La primera línea inductora de haploidía identificada mediante este método se describió en la cepa genética de maíz «Stock 6». Los granos que contienen embriones haploides producen plántulas haploides viables; por consiguiente, este método evita el cultivo *in vitro* de embriones haploides para regenerar una planta completa.

La polinización con polen irradiado de la misma especie también puede producir haploides de origen materno. En este método, la polinización estimula el desarrollo del embrión, pero el polen irradiado no logra fecundar la ovocélula. Esta técnica se ha utilizado con éxito en diversas especies, como el manzano, la mora, el pepino, la cebolla, el melón, el girasol, el kiwi y algunas otras (Murovec & Bohanec, 2011). El método requiere una

emasculación eficiente –proceso laborioso– y la aplicación de una dosis de irradiación adecuada es crucial para inducir la producción de haploides. El polen expuesto a dosis más bajas aún puede fecundar los óvulos, dando lugar a embriones híbridos y, posteriormente, a fenotipos anómalos. Las dosis más elevadas reducen el rendimiento de embriones, pero generan mayoritariamente embriones haploides.

7.1.2. Hibridación amplia (cruzamiento interespecífico o intergenérico)

El cruzamiento entre especies se denomina hibridación amplia y se ha utilizado eficazmente en diversas especies cultivadas para la producción de haploides. La polinización (cruzamiento) puede ser interespecífica o intergenérica. En el método de hibridación amplia, se produce una eliminación preferencial de los cromosomas paternos, lo que da lugar a haploides con cromosomas maternos.

7.1.2.1. Polinización interespecífica

La cebada haploide se produjo mediante hibridación interespecífica entre la cebada cultivada (*H. vulgare*, $2n = 2x = 14$) como progenitor femenino y la cebada silvestre (*H. bulbosum*, $2n = 2x = 14$) como progenitor masculino (Forster *et al.*, 2007). La eliminación preferencial de los cromosomas paternos de la cebada silvestre *H. bulbosum* del embrión en desarrollo da como resultado embriones haploides. Este método también se conoce como «método bulbosum». Los embriones haploides obtenidos mediante el método bulbosum presentaban defectos en el endospermo funcional, y se recuperaron cultivándolos *in vitro*.

También se obtuvieron haploides en trigo mediante hibridación interespecífica trigo-bulbosum, pero se limitó a unos pocos cultivares de trigo (*T. aestivum*) compatibles para el cruzamiento con la cebada bulbosum. Posteriormente, se desarrolló un nuevo método de hibridación en el que se obtuvieron plántulas de trigo haploides mediante cruces interespecíficos entre trigo (*T. aestivum*) y maíz (*Z. mays*). La polinización dio lugar a embriones híbridos, pero en etapas posteriores del desarrollo embrionario, la eliminación preferencial de cromosomas de maíz resultó en haploides de trigo. Más tarde, los embriones fueron tratados con ácido 2,4-diclorofenoxiacético *in planta*, para rescatarlos. Posteriormente, se aislaron los embriones en el estadio adecuado y se cultivaron **in vitro** para obtener plántulas. Esta técnica se aplicó con éxito a numerosos cultivares e híbridos comerciales de trigo (Niu *et al.*, 2014). La polinización con maíz resulta eficaz en otras especies, como la cebada, el triticale (x *Triticosecale*), el centeno (*Secale cereale*) y la avena (*Avena sativa*) (Wędzony *et al.*, 2009).

Se empleó la polinización intergenérica para producir individuos haploides en la patata cultivada (**S. tuberosum** L. subsp. *tuberosum*, $2n = 4x$; tetraploide) mediante el cruce con **S. phureja** ($2n = 2x$, diploide). Tras la polinización, se obtienen embriones haploides. Cabe señalar que los embriones haploides resultantes de este cruce son dihaploides ($2n = 2x$).

La hibridación amplia resultó especialmente útil para la obtención de haploides a partir de cultivares de trigo, en los que el cultivo de anteras no ofrecía buenos resultados debido a las elevadas tasas de albinismo, la baja respuesta de algunos genotipos y la prolongada duración de los procesos de inducción y regeneración.

7.2. PRODUCCIÓN IN VITRO DE HAPLOIDES

Los haploides pueden inducirse mediante el cultivo in vitro de gametófitos masculinos (androgénesis) o femeninos (ginogénesis).

7.2.1. Ginogénesis

La ginogénesis se define como la inducción *in vitro* de haploides de origen materno a partir del cultivo del gametofito femenino. Puede inducirse mediante el cultivo *in vitro* de diversas partes florales no polinizadas, tales como óvulos, óvulos unidos a la placenta, ovarios o botones florales completos. Existen dos tipos de ginogénesis: directa e indirecta. En la ginogénesis directa, el cultivo del gametofito femenino produce directamente embrioides. En la ginogénesis indirecta, el cultivo del gametofito femenino forma un callo que, finalmente, se desarrollará dando lugar a embrioides. La ginogénesis está controlada por varios factores, como los estadios de desarrollo de los gametos, el pretratamiento de los botones florales, los medios de cultivo y las condiciones de cultivo. Durante el cultivo *in vitro*, el gametofito femenino se desarrolla hasta convertirse en un saco embrionario maduro. Esto contrasta con la androgenización, proceso en el que las microsporas siguen una vía esporofítica; por lo general, no se prefieren las microsporas maduras para la producción de haploides. Los sacos embrionarios maduros contienen varias células haploides – como la ovocélula, las sinérgidas, las células antipodales y los núcleos polares no fusionados – capaces de formar embriones haploides. Las ovocélulas son las que presentan mayor potencial ginogenético entre ...todas las demás células, y pueden desarrollarse directamente en plantas haploides – sin riesgo de variaciones gametoclonales – o bien a través de la formación de callos.

La ginogénesis se ha empleado con éxito en diversas especies, tales como la cebolla, la remolacha azucarera, el pepino, la calabaza, el girasol, el trigo y la cebada, entre

otras (Murovec & Bohanec, 2011); sin embargo, en el fitomejoramiento solo se utilizan los haploides de cebolla y remolacha azucarera.

La ginogénesis presenta varias ventajas. Los haploides ginogenéticos muestran una estabilidad genética relativamente mayor y una menor tasa de albinismo; de hecho, la ginogénesis en especies de cereales no produjo plantas albinas. No obstante, debido a ciertas limitaciones, esta técnica siempre se ha considerado una alternativa a la androgenesis o a otros métodos de inducción. La principal limitación radica en la falta de protocolos establecidos para la mayoría de las especies y en la obtención de plantas diploides o mixoploides durante el proceso. Además, el rendimiento de plantas haploides es bajo, ya que solo se dispone de un ovario por flor. La disección de ovarios y óvulos no fecundados exige destrezas especiales, lo que dificulta la aplicación de la ginogénesis.

7.2.2. Androgénesis

La androgénesis se define como la producción *in vitro* de individuos haploides a partir de células gaméticas masculinas. Este proceso puede inducirse mediante el cultivo *in vitro* de anteras o microsporas inmaduras. El primer informe sobre el aislamiento de tejido haploide de angiospermas a partir de cultivos de anteras se realizó en *Tradescantia reflexa*. Guha y Maheshwari observaron estructuras similares a embriones al cultivar *in vitro* anteras de *Datura innoxia* (androgénesis). Posteriormente, confirmaron la naturaleza haploide de estos embrioides y determinaron que su origen eran las microsporas (Guha & Maheshwari, 1967). Este trabajo se extendió más tarde al género *Nicotiana*, lográndose la obtención de embriones haploides a partir de diferentes cepas de *N. tabacum* y *N. sylvestris* (Nitsch & Nitsch, 1969). Hasta la fecha, se ha reportado la producción de haploides mediante cultivo de anteras o microsporas (androgénesis) en más de 250 especies vegetales.

8. ENFOQUE GENERAL PARA EL CULTIVO DE ANTERAS DESTINADO A LA PRODUCCIÓN DE PLANTAS HAPLOIDES Y DOBLE-HAPLOIDES

No existe una regla general para establecer las condiciones óptimas en el cultivo de anteras o microsporas; los protocolos pueden variar según la especie y también entre distintos cultivares de una misma especie. Por lo general, las etapas de la androgenia incluyen: selección del genotipo, determinación del estadio de desarrollo del polen, evaluación del estado fisiológico y las condiciones de crecimiento de las plantas donantes, y pretratamiento.

8.1. ESTERILIZACIÓN SUPERFICIAL Y EXCISIÓN DE ANTERAS

Tras el pretratamiento de los botones florales, se procederá a su esterilización superficial para obtener anteras libres de contaminantes. Por lo general, los botones florales se sumergen en alcohol etílico al 70 % (v/v) durante unos minutos; a continuación, se sumergen en una solución de hipoclorito de sodio (aproximadamente 1,5 % de cloro activo en agua) con unas gotas de un detergente suave, como Tween 20, durante 10 a 15 minutos. Posteriormente, se realiza un lavado de 3 a 5 minutos con agua destilada estéril, seguido de la escisión aséptica de las anteras de los filamentos y su colocación en el medio de cultivo.

8.2. COMPOSICIÓN DEL MEDIO

Por lo general, en la androgenesis se utilizan medios basales como el medio N6 (Chu, 1978), el medio MS (Murashige y Skoog, 1962), el medio de Nitsch y Nitsch (Nitsch y Nitsch, 1969) y el medio B5 (Gamborg et al., 1968). Se recomienda el medio MS a media concentración para las solanáceas y el medio N6 para los cereales (Chu, 1978). Para inducir la producción de embriones, se prefiere una fuente de carbohidratos, como la sacarosa en concentraciones elevadas o, en algunas especies, la maltosa (Powell, 1990). La aplicación exógena de reguladores del crecimiento vegetal facilitó la androgenesis. Se ha determinado que los reguladores del crecimiento vegetal – tales como auxinas, citoquininas o una combinación de ambas – son cruciales para la androgenesis en muchas especies. La adición de carbón activado (0,5–2 g/l) al medio favoreció la androgenesis en diversas especies (Bajaj, 1990). La suplementación con otras sustancias, como glutamina, caseína, prolina, biotina, inositol, agua de coco, nitrato de plata, polivinilpirrolidona (PVP) y poliaminas alifáticas (PA), facilitó la embriogénesis a partir de microsporas (Reinert et al., 1977; Tiainen, 1992). El pH del medio influye en la androgenesis y, habitualmente, se ajusta a un valor de 5,7–5,8. El uso de agentes solidificantes como el agar está ampliamente documentado; no obstante, se han empleado otros agentes solidificantes – como almidón (de papa, trigo, maíz o cebada), Gelrite, agarosa y Ficoll – con beneficios adicionales.

8.2.1. Condiciones de cultivo

Las condiciones óptimas para el cultivo de anteras consisten en incubarlas a 24–27 °C y exponerlas a una intensidad lumínica de unos 2000 lux durante 14 horas diarias (Reinert et al., 1977). Sin embargo, es necesario determinar las condiciones óptimas para cada sistema de cultivo. Por ejemplo, Vasil (1973) informó sobre el uso de periodos de luz alternos (12–18 h; 5000–1000 lux/m²).

8.2.1.1. Determinación del nivel de ploidía y análisis de homocigosis

El cultivo de anteras o microsporas no solo genera plantas haploides puras, sino que también produce plántulas heterocigotas no deseadas (diploides, triploides, tetraploides, etc.). En ocasiones, el cultivo haploide da lugar a una duplicación cromosómica espontánea que genera plantas doble-haploides (DH) homocigotas, las cuales resultan más útiles. Por ello, es importante determinar el nivel de ploidía de las plantas regeneradas para distinguir los individuos haploides o DH de aquellos no haploides no deseados. Antiguamente, los mejoradores empleaban métodos indirectos para determinar la ploidía, tales como la comparación entre las plantas regeneradas y las donantes en cuanto a morfología (altura, dimensiones foliares y morfología floral), vigor y fertilidad; sin embargo, estos métodos carecen de fiabilidad, ya que dichos marcadores pueden verse influidos por factores ambientales. El nivel de ploidía puede determinarse mediante técnicas citológicas convencionales, como el recuento de cromosomas en células de los ápices radiculares y la medición del contenido de ADN por citometría de flujo. Inicialmente, la evaluación de las plantas regeneradas dependía en gran medida de marcadores fenotípicos, del análisis de la descendencia tras la autopolinización y del análisis de isoenzimas. Los recientes avances en biotecnología han permitido desarrollar técnicas más rápidas y fiables para verificar la homocigosis y determinar el origen de las plantas. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran el polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP), el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), las regiones amplificadas caracterizadas por su secuencia (SCAR) y las secuencias simples repetidas (SSR).

8.2.1.2. Duplicación cromosómica

En los haploides, la meiosis no puede ocurrir debido a la ausencia de un juego de cromosomas homólogos, por lo que no se produce formación de semillas. Por consiguiente, la mayoría de las veces los haploides son estériles y a menudo muestran un vigor reducido. Para restaurar la fertilidad en plantas haploides, es necesario que se produzca una duplicación espontánea durante el cultivo *in vitro*; de lo contrario, esta debe inducirse químicamente. Se ha reportado la duplicación espontánea de cromosomas en cultivos de anteras de cebada (70–90 %), trigo harinero (25–70 %), arroz (50–60 %), centeno (50–90 %) y maíz (20 %). La duplicación espontánea es altamente preferible, ya que la inducción química puede provocar mutaciones no deseadas durante el proceso de duplicación. Sin embargo, en aquellas especies donde la frecuencia de duplicación espontánea es muy baja, resulta necesario inducir la duplicación cromosómica. Se han

empleado diversos métodos para inducir la duplicación cromosómica tanto *in vivo* como *in vitro*. Se ha reportado el uso de fármacos que alteran los microtúbulos, como la colchicina y la orizalina, en concentraciones milimolares para lograr la duplicación cromosómica (Castillo et al., 2009). Adicionalmente, también se han utilizado algunos herbicidas, tales como la trifluralina y la pronamida. Los fármacos antimicrotúbulos pueden aplicarse en diversas etapas de la androgénesis; pueden añadirse a los medios de pretratamiento de microsporas o a los medios de cultivo de anteras. Los tratamientos farmacológicos se aplican tras la regeneración, ya sea en la fase de embrión, brote o plántula. Se indujo la duplicación cromosómica mediante un tratamiento con óxido nítrico (N_2O) en plántulas de maíz. Las plántulas fueron tratadas a una presión elevada de 600 kPa durante dos días, en el estadio de seis hojas, momento en el que las plantas desarrollan los primordios florales.

9. APLICACIÓN DE HAPLOIDES Y DH EN EL MEJORAMIENTO DE CULTIVOS

Las líneas doble-haploides (DH) han aportado diversas ventajas y beneficios a los programas de mejoramiento genético. La obtención rápida de homocigosis en una sola generación acelera el proceso de mejoramiento. Por el contrario, el método convencional requiere varias generaciones de autofecundación para obtener cultivares homocigotos de línea pura con vigor híbrido. Por consiguiente, las líneas DH reducen el tiempo necesario para el mejoramiento y minimizan los costos de mano de obra. Actualmente, las líneas DH constituyen una parte integral del mejoramiento vegetal y se han utilizado en la producción de cultivares comerciales de muchas especies, tales como espárrago, cebada, *B. juncea*, berenjena, melón, pimiento, colza, arroz, tabaco, triticale, trigo, entre otras. Ya se han lanzado más de 290 variedades (<http://www.scri.ac.uk/assoc/COST851/COSThome.htm>). Además, el 50 % de los cultivares de cebada disponibles en Europa y tres de las cinco clases de trigo *Canada Western Red Spring* (CWRS) en Canadá se han producido mediante el sistema DH (Dunwell, 2010). La tecnología DH resulta útil en especies que sufren depresión por consanguinidad, en las cuales es difícil producir ...líneas homocigotas fértiles mediante autopolinización, por ejemplo, en el centeno y las gramíneas. La aplicación de la tecnología de doble haploidía (DH) a plantas medicinales y aromáticas está despertando gran interés actualmente (Ferrie, 2009).

La producción de dobles haploides resulta especialmente útil en especies arbóreas. Estas especies se caracterizan por ciclos reproductivos largos, una mayor heterocigosidad, gran tamaño y autoincompatibilidad. Por consiguiente, resulta

difícil obtener líneas homocigotas con mejores características mediante métodos convencionales, incluso tras varias generaciones de autofecundación (Germanà, 2006). La reducción de tamaño de las plantas DH en comparación con las diploides heterocigotas puede resultar de interés hortícola; por ejemplo, para plantas ornamentales o portainjertos enanizantes en cultivos frutales. Investigadores chinos, empleando sistemas haploides, obtuvieron un ejemplar de árbol del caucho de seis metros de altura que pudo multiplicarse posteriormente mediante propagación asexual para generar diversos clones. Otra aplicación del sistema de doble haploidía es la obtención de plantas triploides a través del cultivo de anteras. Las plantas triploides tienen fines comerciales, ya que producen frutos sin semillas. Se ha logrado producir triploides mediante cultivo de anteras en especies como el manzano (Hofer, 2004), *Pyrus pyrifolia* Nakai (Kadota & Niimi, 2004), *Carica papaya* L. y *C. clementine* (Germanà, 2009).

El sistema haploide facilita la inducción de mutaciones y, con ello, la selección de los rasgos mutantes deseados. Por ejemplo, se introdujeron con éxito mutaciones durante la embriogénesis de microsporas en colza para conferir resistencia a herbicidas, enfermedades y salinidad, así como para mejorar la calidad de la semilla. Esto permite ahorrar tiempo y espacio en la obtención de cultivos con las características deseadas. Mediante la técnica de cultivo de anteras, se seleccionaron mutantes de tabaco resistentes a la enfermedad del tallo negro (shank disease) y líneas de trigo resistentes a la fusariosis de la espiga (*Fusarium graminearum*). El fitomejoramiento por mutagénesis es otra área de mejora de cultivos en la que el sistema de doble haploidía puede contribuir a acelerar el proceso. Es posible obtener líneas mutantes homocigotas en la primera generación tras el tratamiento mutagénico. Todos los rasgos mutados se expresan de inmediato, lo que permite identificar mutantes recesivos y dominantes en la primera generación sin necesidad de recurrir a la autopolinización. Existen dos opciones para el tratamiento mutagénico. La primera opción es el tratamiento de semillas latentes que, tras la germinación y la floración, producen gametos M1, los cuales se utilizan para el cultivo de haploides. Este método se ha empleado con éxito en cebada, arroz y trigo, aumentando la eficiencia de la selección de rasgos deseados en una población mutada de doble haploide (Forster et al., 2007). La segunda opción es el tratamiento de células haploides *in vitro*. por lo general, el agente mutagénico se aplica a la microspora en el estadio uninucleado, antes de la primera división nuclear. El tratamiento posterior a la primera división nuclear dará lugar a plantas quiméricas y heterocigotas, resultado de una diploidización espontánea a través de la división nuclea. El tratamiento mutagénico in vitro puede ir seguido de una selección in vitro de rasgos deseados, como la resistencia a enfermedades y herbicidas.

Además de su uso en el mejoramiento de cultivos, las líneas doble haploides (DH) han sido útiles en el mapeo genético y la genómica, así como dianas para la transformación. Las DH son útiles para análisis genéticos como el estudio de QTL (Datta, 2005). Los QTL influyen en rasgos agronómicos importantes en diversos cultivos. El estudio de QTL requería tradicionalmente líneas endogámicas recombinantes (RIL) para realizar análisis fenotípicos, pero el desarrollo de poblaciones RIL conlleva mucho tiempo. Recientemente, se utilizan DH para construir mapas genéticos y localizar QTL, ya que las DH son homocigotas y pueden propagarse sin segregación adicional. Por tanto, las DH permiten una medición precisa de los rasgos cuantitativos. Se han empleado DH en estudios de QTL relacionados con características de la raíz del arroz, altura de la planta, días hasta la espigazón, rendimiento de grano y tolerancia al frío. A partir del mapa de ligamiento construido con una población DH derivada de un progenitor femenino de porte extendido y un progenitor masculino de porte compacto, se detectaron dos QTL principales en los cromosomas 9 y 11 asociados al fenotipo del ángulo de los macollos. El ángulo de los macollos tiene gran importancia en el mejoramiento del arroz. Las poblaciones de arroz DH también se han utilizado en estudios de QTL sobre calidad y forma del grano, características aromáticas y resistencia a la chicharrita parda (*Nilaparvata lugens*).

El sistema de doble haploidía ofrece ventajas para aplicar la selección asistida por marcadores con el fin de identificar una línea casi isogénica deficiente en un rasgo específico; lograr esto mediante retrocruzamientos combinados con selección asistida por marcadores requeriría varias generaciones de cruces. Las DH desempeñan un papel fundamental en la integración de mapas genéticos y físicos, proporcionando así precisión para identificar genes candidatos (Künzel et al., 2000; Wang et al., 2001). Las DH han sido clave para establecer mapas cromosómicos en diversas especies, como cebada, arroz, colza y trigo (Forster & Thomas, 2005).

El sistema DH resulta especialmente útil para generar líneas transgénicas homocigotas estables. La transformación de microsporas uninucleadas o embriones haploides con un transgén generará líneas transgénicas homocigotas estables en una sola generación. Por el contrario, las células o plantas diploides heterocigotas transformadas con un transgén requerirán al menos tres generaciones de autofecundación para alcanzar la homocigosis respecto a dicho transgén. Se han empleado diversos protocolos de transformación, tales como la microinyección, la electroporación, el bombardeo de partículas y la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* (Touraev et al., 2001). Se ha descrito la obtención del primer arroz *indica* transgénico mediante el uso de cultivos de microsporas haploides. Asimismo, se ha utilizado el método de bombardeo

de partículas para regenerar plantas de cevada transgênicas férteis a partir de cultivos de microsporas (Datta, 2005).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acharya, B. C.; Ramji, M. V. Experimental Androgenesis in Plants – A Review. In *Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Section B*; Springer India, **1977**; pp 337–360.

Bajaj, Y. P. S. In vitro Production of Haploids and Their Use in Cell Genetics and Plant, 1990.

Castillo, A.; Cistué, L.; Vallés, M.; Soriano, M. Chromosome Doubling in Monocots. In *Advances in Haploid Production in Higher Plants*; Springer, **2009**; pp 329–338.

Chu, C.-C. The N6 Medium and Its Applications to Anther Culture of Cereal Crops. In *Proceedings of Symposium on Plant Tissue Culture*; Science Press: Beijing, China, **1978**; pp 43–50.

Datta, S. K. Androgenic Haploids: Factors Controlling Development and Its Application in Crop Improvement. *Current Science-Bangalore*, **2005**, 89, 1870.

Dunwell, J. M. Haploids in Flowering Plants: Origins and Exploitation. *Plant. Biotech. J.* **2010**, 8, 377–424.

Ferrie, A. Current Status of Doubled Haploids in Medicinal Plants. In *Advances in Haploid Production in Higher Plants*; Springer, **2009**; pp 209–217.

Forster, B. P.; Heberle-Bors, E.; Kasha, K. J.; Touraev, A. The Resurgence of Haploids in Higher Plants. *Trends Plant Sci.* **2007**, 12, 368–375.

Forster, B. P.; Thomas, W. T. Doubled Haploids in Genetics and Plant Breeding. *Plant Breed Rev.* **2005**, 25, 57–88.

Gamborg, O. L.; Miller, R. A.; Ojima, K. Nutrient Requirements of Suspension Cultures of Soybean Root Cells. *Exp. Cell. Res.* **1968**, 50, 151–158.

Germanà, M. Haploids and Doubled Haploids in Fruit Trees. In *Advances in Haploid Production in Higher Plants*; Springer, **2009**; pp 241–263.

Guha, S.; Maheshwari, S. Development of Embryoids from Pollen Grains of *Datura* In vitro. *Phytomorphology*, **1967**, 17, 454–461.

Hofer, M. In vitro Androgenesis in Apple – Improvement of the Induction Phase. *Plant Cell Rep.* **2004**, 22, 365–370.

Kadota, M.; Niimi, Y. Production of Triploid Plants of Japanese Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by Anther Culture. *Euphytica*, **2004**, 138, 141–147.

Künzel, G.; Korzun, L.; Meister, A. Cytologically Integrated Physical Restriction Fragment Length Polymorphism Maps for the Barley Genome Based on Translocation Breakpoints. *Genetics*, **2000**, 154, 397–412.

Mejza, S. J.; Morgant, V.; DiBona, D. E.; Wong, J. R. Plant Regeneration from Isolated Microspores of *Triticum aestivum*. *Plant Cell Rep.* **1993**, 12, 149–153.

Murashige, T.; Skoog, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, **1962**, *15*, 473–497.

Murovec, J.; Bohanec, B. Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding. *Plant Breeding. Rijeka, Croatia: In Tech*, **2011**, 87–106.

Nitsch, J.; Nitsch, C. Haploid Plants from Pollen Grains. *Science*, **1969**, *163*, 85–87.

Niu, Z.; Jiang, A.; Abu Hammad, W.; Oladzadabbasabadi, A.; Xu, S. S.; Mergoum, M.; Elias, E. M. Review of Doubled Haploid Production in Durum and Common Wheat Through Wheat × Maize Hybridization. *Plant breed.* **2014**, *133*, 313–320.

Olsen, F. Isolation and Cultivation of Embryogenic Microspores from Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Hereditas*, **1992**, *115*, 255–266.

Reinert, J.; Bajaj, Y. P. S.; Nitsch, C.; Clapham, D.; Jensen, C. *Haploids*; Springer, 1977.

Sharp, W.; Raskin, R.; Sommer, H. The Use of Nurse Culture in the Development Haploid Clones in Tomato. *Planta*, **1972**, *104*, 357–361.

Supena, E. D. J.; Suharsono, S.; Jacobsen, E.; Custers, J. Successful Development of a Shedmicrospore Culture Protocol for Doubled Haploid Production in Indonesian Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell Rep.* **2006**, *25*, 1–10.

Tiainen, T. (1992). The Role of Ethylene and Reducing Agents on Anther Culture Response.

Touraeu, A.; Tashpulatov, A.; Indrianto, A.; Barinova, I.; Katholnigg, H.; Akimcheva, S.; Ribarits, A.; Voronin, V.; Zhexsembekova, M.; Heberle-Bors, E. Fundamental Aspects of Microspore Embryogenesis. In *Biotechnological Approaches for Utilisation of Gametic Cells*, COST 824: Final Meeting, Bled, Slovenia, July 1–5, 2000 (Office for Official Publications of the European Community); **2001**, pp 205–214.

Wang, Z.; Taramino, G.; Yang, D.; Liu, G.; Tingey, S.; Miao, G.; Wang, G. Rice ESTs with Disease-resistance Gene or Defense-response Gene-like Sequences Mapped to Regions Containing Major Resistance Genes or QTLs. *Mol. Genet. Genomics*. **2001**, *265*, 302–310.

Wędzony, M.; Forster, B.; Żur, I.; Golemieć, E.; Szechyńska-Hebda, M.; Dubas, E.; Gotębiowska, G. Progress in Doubled Haploid Technology in Higher Plants. In *Advances in Haploid Production in Higher Plants*; Springer, **2009**; pp 1–33.

CAPÍTULO 6

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA BROCA DE CAFÉ (*Hypothenemus hampei* (FERRARI) CON *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN

Data de submissão: 05/09/2026

Data de aceite: 16/09/2026

Antonio Gutiérrez-Martínez

Facultad de Ciencias Agronómicas
Campus V Villaflores
Universidad Autónoma de Chiapas¹
Villaflores, Chiapas, México
<https://orcid.org/0000-0002-6770-9116>

Diana Jaren Cruz González

Facultad de Ciencias Agronómicas
Campus V Villaflores
Universidad Autónoma de Chiapas
Villaflores, Chiapas, México

Jesús Antonio Gutiérrez Utrilla

Escuela Superior de Ingeniería
Mecánica y Eléctrica
Unidad Culhuacán
Instituto Politécnico Nacional, México
<https://orcid.org/0009-0008-3546-3896>

Ramiro Eleazar Ruiz Nájera

Facultad de Ciencias Agronómicas
Campus V Villaflores
Universidad Autónoma de Chiapas
Villaflores, Chiapas, México
<https://orcid.org/0000-0003-2815-8689>

RESUMEN: La investigación se llevó a cabo en el ejido Villahermosa, Villaflores, Chiapas, a 1,046 msnm, utilizando la variedad *Coffea arabica*. La aplicación del hongo *B. bassiana* se realizó a los 190 días después de la floración de las plantas de café. Se evaluaron cuatro dosis del hongo *Beauveria bassiana* 20, 25, 30 y 35 g, todas con una concentración de 1×10^9 conidios/mL, y un testigo con agua, aplicadas a las parcelas experimentales con una bomba de ultrabajo volumen. El diseño experimental utilizado bloques completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento, y se realizaron siete muestreos con intervalos de ocho días cada uno. El diseño experimental consistió en 15 parcelas de 8×8 m (64 m^2), con una superficie total de 960 m^2 . Se registraron las temperaturas y humedad relativa con un termómetro digital durante la investigación. Se evaluaron la edad del grano, longitud y diámetro de grano, color de grano, número de granos sanos de café por bandolas, porcentaje de daños de la broca de café e infestados por *B. bassiana*. El objetivo de esta investigación fue evaluar la patogenicidad y virulencia de *B. bassiana* sobre adultos de la broca de café (*Hypothenemus hampei* (Ferrari) en condiciones de campo. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T1, T2, T3 y T4 con 79, 87, 64 y 84 granos infestados por *B. bassiana* y 200, 177, 198 y 195 granos sanos, respectivamente, con las dosis de 20, 25, 30 y 35 g de *B. bassiana*, respectivamente; sin embargo, el testigo

¹ Carretera Ocozacoautla-Villaflores, km 84.5. Apartado Postal 78, C.P. 30470, Villaflores, Chiapas, México.

registró 10 granos de café dañados por la broca de café e infestados por *B. bassiana*, lo que evidencia un potencial de diseminación natural de *B. bassiana* en el cafetal. Además, se registró un porcentaje de infestación promedio por *B. bassiana* de 23.95 %.

PALABRAS CLAVE: *Beauveria bassiana*; *Hypothenemus hampei*; café.

1. INTRODUCCIÓN

El café es uno de los productos industriales básicos del mundo que más se comercializa. Es un cultivo estratégico para México; su producción emplea a más de 500 mil productores de 15 entidades federativas y 480 municipios. Actualmente se consumen 1.4 kg per cápita al año (SADER, 2018). La producción de este valioso grano coloca a México en el 11º lugar en producción mundial. En Chiapas se cultivan 243,753.87 mil hectáreas de café al año, obteniendo una producción de 385,703.05 toneladas, esto hace que Chiapas ocupe el primer lugar, aportando el 38.01% de la producción a nivel nacional (SIAP, 2021).

Chiapas presenta óptimas condiciones geográficas y de cultivo que éste posee, contando con ricos suelos volcánicos, climas aptos que se caracterizan por tener una buena humedad durante todo el año, y una gran diversidad de excelentes temperaturas. Convirtiéndose la caficultura en una de las principales actividades productivas del estado por su importancia socioeconómica (número de productores, empleos generados, número de unidades de producción y superficie sembrada). La mayor parte de los productores son ejidatarios indígenas. Sin embargo, la producción de café está siendo afectada por la susceptibilidad de las variedades cultivadas a la broca de café, siendo esta la plaga principal que afecta directamente al grano en todo el mundo donde se cultiva a este grano aromático.

La broca de café es un insecto de difícil manejo con las tácticas tradicionales de manejo como los insecticidas, porque permanece protegida la mayor parte de su vida en el interior de los granos. Considerando la situación actual de la caficultura en Chiapas, es necesario realizar manejos acorde con la naturaleza, una de estas acciones que se están implementando es el control microbiológico utilizando el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin ((Ascomycota: Ascomycota: Hypocreales) esto con el objetivo de regular las poblaciones de la broca de café (*Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), ya que es de vital importancia para satisfacer las necesidades de la sociedad y asegurar el crecimiento continuo de la producción por unidad de área de una manera sostenible.

2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CAFÉ A NIVEL MUNDIAL

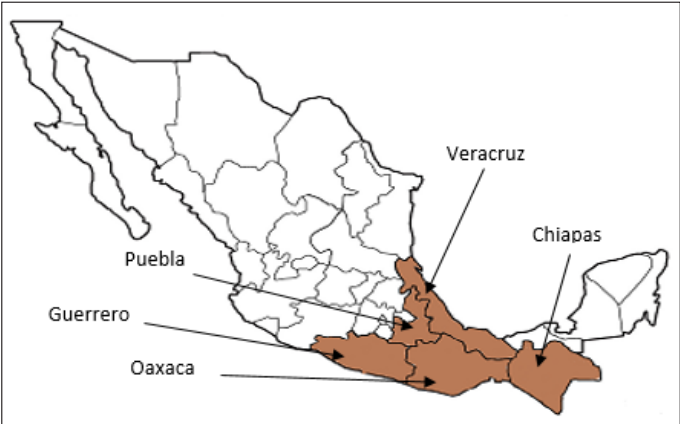
Con más de doscientos años el café es uno de los principales productos agrícolas, con un peso importante en el comercio mundial. Es un cultivo estratégico, industrial básico y tradicional para muchos países, siendo Brasil, Vietnam y Colombia los principales países exportadores de este grano. En la producción de café se crean grandes fuentes de trabajo de manera directa e indirectamente, es por ello, por lo que tiene una gran importancia a nivel mundial, este es un factor determinante para la creación de programas con el fin de generar apoyos hacia los cafetaleros (CEDRSSA, 2019).

2.1. IMPORTANCIA ECONÓMICA DEL CAFÉ EN MÉXICO

De acuerdo con la SADER (2016) México ya no ocupa un lugar relevante en cuanto a la producción de café en el mundo, nuestro país se encuentra en el 11º lugar en cuanto a la producción mundial de café. De acuerdo con el SIAP (2023) el aumento en la producción de café cereza ha permitido incrementar el volumen de lo agroindustrial, de los tres estados con mayor producción de café cereza en México el avance al mes de diciembre del ciclo productivo 2023, se destacan: Chiapas con 111,528 t, Puebla 106,992 t y Veracruz 106,846 t, los cuales aportan 30.3%, 29.1% y 29.0%, respectivamente. Puebla registra el mayor incremento con 29 mil 678 toneladas más, en relación con lo obtenido al mismo mes de 2022. Por los datos ya presentados México continúa con la tendencia a incrementar en las exportaciones del aromático. En este, mismo año, se exportaron en promedio 8 mil toneladas mensuales, lo que permitió lograr un récord histórico de 94 mil 581 toneladas, cifra 7.3% mayor a lo exportado el año previo (88 mil toneladas). En contra parte, las compras en el periodo referido disminuyeron 3.0% (mil 120 toneladas).

Los estados con mayor producción de café en el país son: Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla y Guerrero (Figura 1) (Cuadro 1); sin embargo, la producción de café se ha visto afectada por los efectos del cambio climático, debido al aumento de la temperatura, aunado a la disminución de las precipitaciones pluviales, lo cual genera que no se cubran las necesidades naturales para la producción agrícola. El café necesita un rango óptimo de temperatura y condiciones hídricas particulares para su producción (CEDRSSA, 2019).

Figura 1. Principales estados productores de café en México.



Cuadro 1. Producción de café cereza en México, durante el ciclo 2023/2024.

Entidad	Siembra	Producción	Rendimiento (ha)
Chiapas	234,954.77	391,921.35	1.61
Veracruz	145,121.60	256,256.60	1.77
Oaxaca	131,461.40	91,683.74	0.70
Puebla	75,011.85	227,530.87	3.03
Guerrero	45,568.97	38,818.82	0.85

La comercialización del café tiene dos vertientes: 1) para consumo nacional y 2) para la exportación teniendo una mejor preferencia el café arábigo u orgánicos en condiciones naturales y en menor cantidad el robusta. Actualmente, el consumo nacional ha aumentado en los últimos años tanto a nivel nacional como internacional (Flores, 2014).

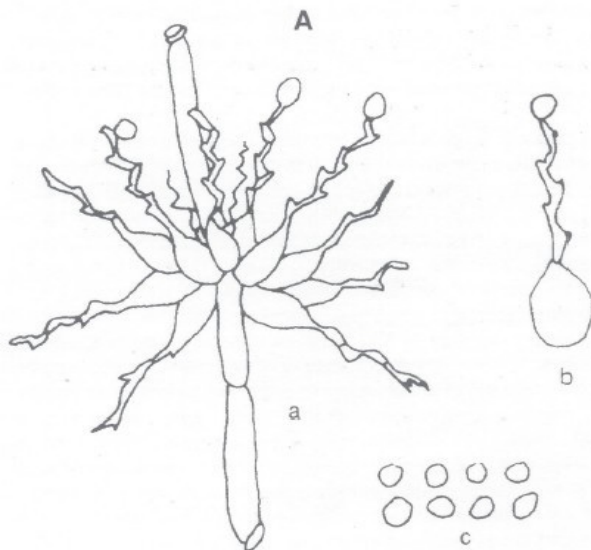
2.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *BEAUVERIA BASSIANA*

La clasificación de *B. bassiana* se puede apreciar en el Cuadro 2 y en la Figura 2 se presenta a *B. bassiana* con sus estructuras reproductivas.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Beauveria bassiana*.

Categorías taxonómicas	
Reino	Fungi
Phyllum	Ascomycota
Clase	Sordariomycetidae
Subclase	Hypocremycetidae
Orden	Hypocreales
Familia	Clavicipitaceae
Género	<i>Beauveria</i>
Especie	<i>Bassiana</i>

Figura 2. A *Beauveria bassiana*: a) Conidios, b) fláide, c) conidióforos (Tomado de Tanaka y Kaya, 1993).



2.3. FUNCIÓN BIOLÓGICA DEL HONGO *B. BASSIANA* EN LA BROCA DE CAFÉ

De acuerdo con Alves *et al.* (2003) el uso de entomopatógenos para el control de la broca de café en particular *B. bassiana*, han tenido más desarrollo que el de los parasitoides usado para controlar un gran número de insectos plaga convirtiéndose en la especie de entomopatógeno comercialmente más utilizada al alrededor del mundo. Desde la llegada de la broca de café (*H. hampei*) el hongo ha sido asociado con el insecto y fue reportado atacando a la broca en 1990 (Vélez y Benavides, 1990). Actualmente se considera el mayor regulador inducido natural de esta plaga en el café, este hongo es parte de la estrategia del manejo agroecológico de plagas y recomendado por el CENICAFÉ (Bustillo, 2004). Su éxito ha radicado en su relativa facilidad de propagación, formulación y aplicación, así como lograr importantes porcentajes de mortalidad en el campo en tiempo relativamente cortos. Así mismo la efectividad de este hongo se debe a que penetran, invaden y se multiplican dentro del insecto, que se atribuye como una característica particular, ya que no necesitan ser ingeridos por el insecto para causar la enfermedad debido a que pueden penetrar perfectamente a través de su cutícula (Tanada y Kaya, 1993).

Por el contrario, su crecimiento y desarrollo está limitado principalmente por las condiciones medioambientales adversas, especialmente la radiación solar, la baja humedad y las altas y bajas temperaturas. Como el caso de la aplicación de un insecticida químico, el momento más adecuado de su aplicación en el campo es cuando la broca está

iniciando la penetración al fruto de café, preferentemente muy temprano en la mañana (Barrera *et al.*, 2000).

2.4. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA BROCA DE CAFÉ

La broca de café está clasificada taxonómicamente (Cuadro 3) de la siguiente manera y la Figura 3 representa una broca de café.

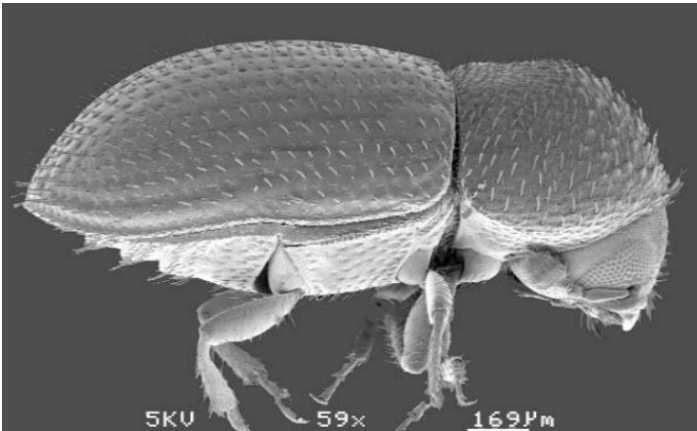
2.5. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA BROCA DE CAFÉ EN LAS ZONAS CAFETALERAS

La broca de café es considerada como la plaga más importante de café. Es una “plaga directa” pues daña directamente al producto que se quiere cosechar y vender, es decir, el grano. Su ataque reduce el rendimiento y merma la calidad.

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *Hypothenemus hampei* (Ferrari).

Categorías taxonómicas	
Reino	Animalia
Phyllum	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Coleoptera
Suborden	Curcujiformia
Superfamilia	Curculionoidae
Familia	Curculionidae
Subfamilia	Scolytinae
Género	<i>Hypothenemus</i>
Especie	<i>Hampei</i>

Figura 3. *Hypothenemus hampei* (Ferrari) adulto (Tomado de Campos y Rodas, 2021).



Los daños más característicos son: daños de granos en formación por efecto de microorganismos saprofitos que entran por la perforación; caída de granos jóvenes por efecto del ataque; disminución del peso de grano por efecto de la alimentación del insecto. Con el 100% de granos perforados al momento de la cosecha, la broca puede causar de 30 a 35% de la pérdida del rendimiento. Si la cosecha se efectúa muy tardíamente, las pérdidas pueden ser aún mayores (Vega & Mercadier, 1998).

Según Acacio y Gil (2013) las pérdidas fluctúan entre 1 a 34% en función del grado de infestación, si la infestación alcanza 100%, las pérdidas son de 12.6 kg/saco de 60 kg de café beneficiado. El muestreo o detección de la broca debe iniciarse a partir del periodo de tránsito que corresponde entre 120 a 150 días después de floración.

La producción cafetalera se encuentra principal en zonas altas, donde la mayoría de los productores cultivan pequeñas superficies y se ubican en municipios con alta población indígena, en pobreza y con alto grado de marginación posee un alto valor económico y social; además, la actividad desempeña un papel ambiental importante, ya que su producción es bajo sistemas que mantienen una cubierta vegetal casi permanente sobre el suelo, reduciendo así los problemas de erosión. La combinación de los beneficios económicos, sociales y ambientales que genera el cultivo de café hace necesario que los agentes involucrados en el sector promuevan los incentivos requeridos para apoyar la competitividad y crecimiento económico de grano (Tablada y Sánchez, 2017).

Figuerola *et al.* (2015) mencionaron que México es uno de los principales productores de café a nivel mundial; sin embargo, existen datos de la Organización Mundial de Café que indican una disminución en la producción de café. La producción se concentra en los estados de Chiapas, Veracruz y Oaxaca, que representan 91% de la producción, 85% de la superficie y 83% de los productores (CTEE, 2019).

La producción bajo sombra resulta clave en la respuesta al cambio climático, aunque al mismo tiempo es muy vulnerable a sus efectos en virtud de que tiene un nicho productivo muy reducido al requerir de ambientes estables, con un equilibrio de temperatura y lluvia que permita que los granos prosperen, manteniendo su perfil de sabor (Muñoz *et al.*, 2019).

El cultivo de café es fuente de diversos reservorios de la biodiversidad y genera empleo y sustento para miles de familias, además de que en México tiene las condiciones geográficas y climatológicas para cultivar café de calidad (López, 2017).

La producción del cultivo de café se ha visto afectada por el envejecimiento de los cafetales, susceptibilidad a la roya y por último el ataque generalizado de la broca de café. La broca de café es un insecto de difícil manejo con los métodos tradicionales de

tácticas como el control químico, porque permanece protegido la mayor parte de su vida en el interior de los granos. Algunos de los adultos son susceptibles a las aspersiones de estos productos, que tienen efecto únicamente por contacto con la plaga. Es la plaga más dañina que ha afectado el cultivo de café en toda su historia (Vázquez, 2014).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se realizó en el ejido de Villahermosa que está situado en el municipio de Villaflores, en el estado de Chiapas. Se encuentra a $16^{\circ}15' 39.78''$ N y $93^{\circ}30' 15.52''$ O a 1,046 msnm. Ubicado a 25.6 km con dirección al Oeste de Villaflores. Cuenta con 661 habitantes (INEGI, 2020) (Figura 4).

Figura 4. Localización geográfica del ejido de Villahermosa, Villaflores, Chiapas, México.



3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó el diseño de bloques completamente al azar (DBCA), evaluándose cuatro concentraciones de esporas (conidios) 20, 25, 30 y 35 g, donde cada gramo de conidióforo contenía una concentración de 1×10^9 conidios de *B. bassiana*. Para la aplicación de cada tratamiento se utilizó una bomba de motor de la marca Sthil versión SR 430 de ultrabajo volumen con capacidad de 14 litros previamente calibrada; y tres repeticiones por tratamiento. Se muestrearon cinco plantas por cada parcela, en total 15 parcelas experimentales con una dimensión de 8 x 8 m (64 m²) (Figura 5).

Figura 5. Diseño experimental y distribución de los tratamientos evaluados en las parcelas en el ejido Villahermosa, Villaflores, Chiapas.

R-1	T1	T3	T0	T2	T4
R-2	T4	T0	T3	T1	T2
R-3	T0	T1	T2	T4	T3

3.3. APLICACIÓN DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO *B. BASSIANA*

Las aplicaciones de *B. bassiana* se realizaron a una concentración de 1×10^9 conidios por gramo (g) de 6:00 a 8:00 de la mañana. El proceso de aspersión se llevó a cabo desde la parte media hasta la parte más alta del follaje de la planta con el propósito de cubrir la totalidad de los granos de la planta de café, la parte media hasta la parte alta de la planta esto para lograr cubrir la totalidad de los granos de la planta de café. Durante las aplicaciones realizada se presentaron diferentes condiciones climáticas. En las primeras aplicaciones se presentaron temperaturas desde los 16° C a 21° C, fueron registradas con un termómetro digital (Stereon Termómetro Ambiental TER-150) que se colocó en una de las parcelas. También se registraron lluvias moderadas en los días programados para la aplicación del producto. Ante estas condiciones climáticas, se decidió suspender las labores de aplicación, debido a las complicaciones que implica realizar el procedimiento en campo durante la lluvia.

La aplicación de *B. bassiana* se realizó de forma convencional con una bomba de motor de ultrabajo volumen regulada para asperjar, con una capacidad de 14 L de agua.

El inóculo del hongo se produjo dentro de la región, mediante una colaboración Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH) y la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), en el municipio de Villa Corzo, Chiapas. Para la producción de los inóculos del hongo se utilizó como sustrato arroz.

3.4. MUESTREO

Se realizaron siete aplicaciones y los muestreos fueron cada ocho días. Para los muestreos se eligieron cinco bandolas y se contabilizó el número de granos brocados y sanos. Posteriormente se seleccionaron al azar cuatro granos por bandola teniendo un

total de 20 granos por planta seleccionada, a los cuales se les midieron el diámetro y altura y su color, también se contabilizaron las brocas infestadas por *B. bassiana*.

El porcentaje de infestación se realizó al final de los siete muestreos. Para calcular el porcentaje de infestación (CENICAFE, 1993) se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de incidencia del hongo} = \frac{\text{Frutos con hongo}}{\text{Frutos brocados}} \times 100$$

3.5. VARIABLES EVALUADAS

1. **Edad de grano.** Para la edad de grano se tomó como referencia los tiempos de floración, los datos se anotaron en una hoja de registro al igual que las demás variables.
2. **Longitud de grano y diámetro de grano.** La medición de estas dos variables se tomó con un vernier electrónico (Remate, modelo: RM-KC-).
3. **Color de grano.** La toma de esta variable se realizó para conocer en que etapa fenológica de grano había mayor infestación de la broca.
4. **Número de granos sanos de café por bandolas.** Se contabilizó el número de granos de las cinco bandolas seleccionadas por planta, los datos obtenidos se anotaron en una hoja de registro.
5. **Porcentaje de daños causados por la broca de café.** Para esta variable se contabilizaron los granos dañados en las 5 bandolas seleccionadas por planta. El porcentaje de infestación se calculó al final de los 7 muestreos.
6. **Porcentaje de infestación por *B. bassiana* a los granos dañados por la broca de café.**

Para calcular el porcentaje de infestación (CENICAFE, 1993) se utilizó la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de infestación} = \frac{\text{Frutos brocados}}{\text{total de frutos}} \times 100$$

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en campo se sometieron al análisis con una Tabla de Contingencia así mismo para determinar las diferencias estadísticas, sobre el efecto de las distintas dosis de aplicación del hongo y los niveles de infestación de este, sobre la broca de café, se realizaron las siguientes pruebas estadísticas: Chi- Cuadrada, Medidas de Asociación, Medidas de Concordancia y el Coeficiente de Correlación. El análisis de datos se realizó con el programa estadístico Minitab.

El cálculo de la Chi- cuadrada se realizó a partir de la fórmula (Pearson, 1900):

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo_i - fe_i)^2}{fe_i}$$

Cálculo de Medidas de asociación de Cramer (Cramer, 1946):

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n \times \min(r - 1, c - 1)}}$$

Coeficiente de correlación Rho de Spearman (Spearman, 1904):

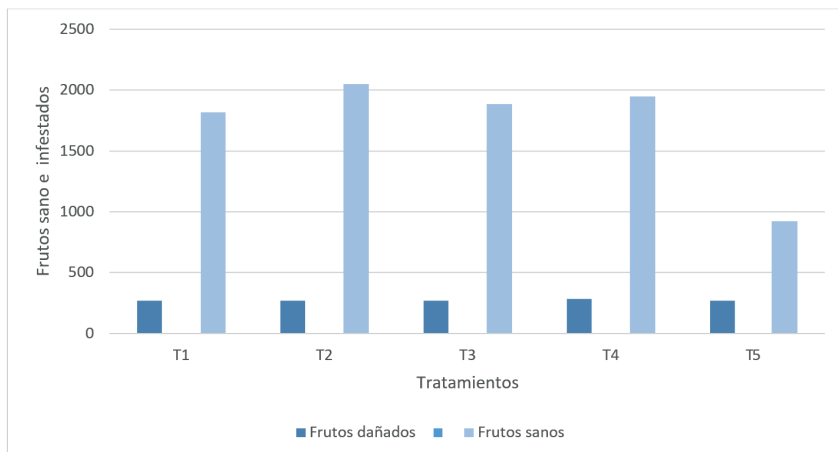
$$r_s = 1 - \frac{6 \cdot \sum d_i^2}{n \cdot (n^2 - 1)}$$

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. NÚMERO DE GRANOS DE CAFÉ AFECTADOS POR LA BROCA DE CAFÉ (*H. HAMPEI*) Y GRANOS SANOS

La Figura 6, muestra la cantidad de granos de café dañados por la broca de café y granos sanos que se obtuvieron en todas las parcelas experimentales, durante los siete muestreos que duró la investigación, estos datos indican que el nivel de población *H. hampei* sobrepasan el 5% según lo estipula la norma de la Federación Nacional de Cafeteros (Fajardo y Sanz, 1999), el umbral de acción para esta especie en la investigación fue de 15.73% de infestación en las parcelas experimentales.

Figura 6. Frutos infestados por la broca de café y frutos sanos.



Partiendo de estos niveles de infestación donde los daños ocasionados por la broca de café pueden ser severos y perjudiciales en los rendimientos de café pergamino y más aún repercutir en la rentabilidad del cultivo, ocasionando importantes pérdidas económicas al productor. Dado a esto es necesario realizar un manejo sobre esta plaga.

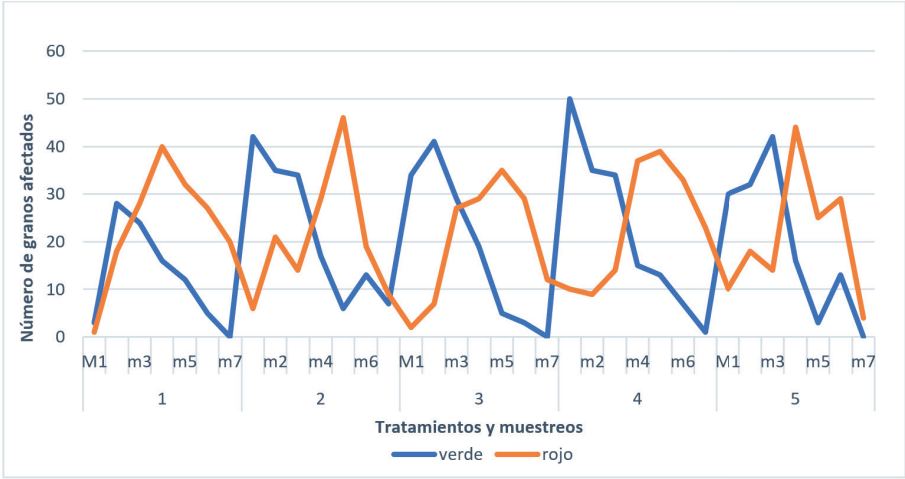
También en la Figura 6, se puede observar que el número de granos de café dañado para el tratamiento T1 fue de 0270, para el tratamiento T2 con 267, para el tratamiento T3 de 270, y para el tratamiento T4 de 283 granos de café, respectivamente, comparado con el tratamiento T0 testigo que fue de 269 granos afectados aparentemente no existen diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo, el tratamiento T4 registró el mayor número de granos infestados en campo, los resultados estadísticos sobre *H. hampei* muestran el análisis de la relación entre diferentes tratamientos y el número de granos de café dañados y sanos. Cuando los datos se analizaron con la Prueba Chi-Cuadrada de Pearson: 94.132, con p-valor= 0.000 indica una relación altamente significativa entre el tratamiento y la cantidad de granos dañados y sanos y la relación de verosimilitud: 83.355, con P=0.000 confirma la significancia de la asociación, pero aplicando la Prueba de V de Cramer (0.0094) y Kappa (0.0000) confirma la significancia es baja y por otro lado, con la correlación de Pearson (-0.0598) y Rho de Spearman (-0.563), sugiere una relación débil entre las variables.

De forma general puede considerarse que existe una diferencia significativa en la proporción de granos dañados entre los tratamientos, pero la magnitud de la asociación es baja, lo que sugiere que los tratamientos tienen un impacto estadísticamente significativo en el manejo de la broca de café, aunque su efecto práctico puede ser moderado de acuerdo con las condiciones ambientales del cafetal como lo son la temperatura y la humedad relativa.

Se sugiere complementar los tratamientos con estrategias integradas y el manejo agroecológico. Existe la necesidad de ajustar los tratamientos, como los residuos en el análisis, ya que indican que algunos tratamientos pueden ser más efectivos en ciertos contextos y se recomienda hacer ensayos adicionales como dosis o frecuencia de aplicación para optimizar los tratamientos.

En la Figura 7, se muestran los resultados de granos de café dañados en estado de maduración verde y rojo, mismos que fueron tratados con el hongo entomopatógeno *B. bassiana*. En el tratamiento 4 (35 g de conidios) de *B. bassiana* el número de granos dañados en estado verde fue superior a todos los tratamientos, el mayor número de daños en granos rojos se observó en el tratamiento 2 (25 g de conidios). A pesar de estas diferencias numéricas, al realizar los análisis estadísticos indicó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos probados (P= 0.05).

Figura 7. Número de granos en estado verde y rojo dañados por la broca de café observados en todos los tratamientos con *B. bassiana*.



Estas observaciones coinciden con las obtenidas por Ruiz (1996) y Miguel y Paulini (1975) que señalaron que una vez que la hembra colonizadora ha localizado su hospedero, una hembra demora en perforar un grano verde o pintón entre 5 horas con 54 minutos, en cambio en granos maduros 4 horas con 50 minutos, lo que indica que hay una tendencia de la broca a penetrar con mayor rapidez en los granos maduros, es decir, que prefiere atacar a los granos de color rojo intenso debido a que es más fácil perforarlos en ese estado y que aquí encuentra los suficientes nutrientes para el crecimiento y desarrollo de su prole.

4.2. PRESENCIA DE ESTRUCTURAS DEL HONGO *B. BASSIANA* EN FRUTOS DAÑADOS POR LA BROCA DE CAFÉ

De acuerdo con los análisis estadísticos realizados para detectar diferencias significativas entre granos dañados por la broca de café e infestados por *B. bassiana*, se encontró diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 4), se puede observar que los tratamientos T1, T2, T3 y T4 obtuvieron 79, 87, 64 y 84 granos infestados, respectivamente comparado con los tratamientos T1, T2, T3 y T4 con 200, 177, 198, 195 granos sanos, respectivamente; sin embargo, el tratamiento T5 testigo absoluto registró 10 granos infestados con *B. bassiana*, esto demuestra que la broca de café es capaz de transportar en su cuerpo esporas de *B. bassiana* y transportarlas hacia lugares en donde no se encuentra la broca causando daños como ocurrió con el testigo en esta investigación en donde no se encuentra la broca causando daños como ocurrió con el testigo.

Cuadro 4. Efecto de *B. bassiana* infestando a la broca de café en el interior de granos de café brocados y granos no infestados.

Tratamientos	Dosis (gL ⁻¹)	Granos de café con presencia de conidios de <i>B. bassiana</i>	Granos de café sin presencia de conidios de <i>B. bassiana</i>	% de infestación
T1	20	79	200	28.31
T2	25	87	177	32.83
T3	30	64	198	24.44
T4	35	84	195	30.10
T5	Control	10	242	3.97
Total		324	1,012	23.95

Sin embargo, se encontraron granos infestados con este hongo entomopatógeno como lo han demostrado otros investigadores que hallaron que las brocas son buenas transportadoras de esporas de *B. bassiana* (Dowd & Vega, 2003; Pérez *et al.*, 2003), el porcentaje de infestación del hongo fue de 33.64 %. Esto se corroboró al aplicar la Prueba de Independencia entre el efecto de *B. bassiana* y el tratamiento, asimismo el valor de Chi-Cuadrada de Pearson fue de 101.711 con 4 grados de libertad y un p-valor de 0.000, lo que indica una asociación significativa entre variables, es decir, diferencias significativas entre los tratamientos 1, 2, 3 y 4, por otro lado, la relación de Verosimilitud refuerza la relación de asociación de este resultado con un p-valor de 0.000.

Al realizar la medida de asociación (V de Cramer), se halló el valor de 0.0719 que sugiere una asociación débil entre tratamientos y la infestación de brocas sobre los granos de café. Al efectuar la medida de Concordancia se encontró que Kappa=0, lo que indica que no hay acuerdo entre las observaciones más allá del azar; al efectuar la Prueba de Pearson: 0.1994, lo que indica una relación débil y la Prueba de Spearman: 0.1987, también indica una asociación de correlación baja.

Como se observa en el Cuadro 5, los tratamientos T1 y T3 presentan los porcentajes de granos con menor incidencia de conidios de 28.31 % y 24.44 %, respectivamente, mientras los que presentaron la mayor incidencia de conidios fueron los tratamientos T2 y T4 con 30.10 % y 32.83 % en contraste con el tratamiento testigo.

Cuadro 5. Tabla de contingencia de los tratamientos T1-T4 basada en la presencia de estructuras de *B. bassiana* dentro de grano de café.

Concentración de conidios de <i>B. bassiana</i> aplicadas a frutos y follaje de la planta del café.	Concurrencia de conidios de <i>Beauveria bassiana</i> en frutos de café															
	T1				T2				T3				T4			
	Con		Sin		Con		Sin		Con		Sin		Con		Sin	
	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%	f	%
Frutos con presencia de conidios de <i>B. bassiana</i>	79	28	10	3.96	87	32.83	10	3.96	64	24.4	10	3.96	84	30	10	3.96
Frutos si presencia de conidios de <i>B. bassiana</i>	200	72	242	96	177	66.79	242	96	198	75.6	242	96	195	70	242	96

f: en una Tabla de Contingencia se utilizó para representar la frecuencia con la que ocurren las diferentes combinaciones de categorías. **Con:** aplicación del hongo y **sin:** sin aplicación del hongo.

De acuerdo con el análisis estadístico de Medidas de Asociación de Goodman-Kruskal y Somers D, así como Lambda, Tau y Gamma, corresponde a una relación entre el tratamiento y la infestación de *B. bassiana* sobre la broca a una relación débil (Gamma= 0.325987), indicando una correlación moderada en tanto que la Prueba de Concordancia demuestra que los resultados son estadísticamente significativos ($P < 0.0001$).

De acuerdo con las investigaciones realizadas por Godoy *et al.* (2007), el hongo *B. bassiana* tiene efectos significativos sobre las poblaciones de la broca de café cuando se encuentra en condiciones óptimas de temperatura, que oscilan entre los 25 °C y 30 °C y niveles de humedad relativa entre el 80 % y 90 %. Por otro lado, en estudios realizados por Agrios (1999) y Bateman (1997) sugieren que este hongo puede desarrollarse y desempeñar su actividad en un rango más amplio de temperaturas, desde los 15 °C hasta los 30 °C. No obstante, se ha identificado que estas condiciones ambientales pueden variar dependiendo del aislamiento o cepa específica del hongo.

En el Cuadro 6, se representan las temperaturas ambientales que se presentaron durante el periodo de la investigación, se obtuvieron temperaturas bajas en la mañana y tarde, siendo de 19.6 y 20.6 °C en promedio, respectivamente y la humedad relativa registrada fue en promedio de 77 %, por lo cual, permitió un porcentaje bajo de infestación del hongo entomopatógeno, cabe señalar que, aunque las condiciones ambientales no fueron las mejores se presentaron esporulaciones, ya que estos mismos autores también mencionan que existen ciertas preferencias en las condiciones ambientales dependiendo de la cepa del hongo.

Cuadro 6. Registros de las temperaturas y humedad relativa obtenidas durante los siete muestreos durante la investigación.

	Muestreos						Promedio
	2	3	4	5	6	7	
Temperaturas de la mañana (°C)	19.6	22.3	19.20	19.20	19.10	18.2	19.6
Humedad relativa (%)	86	64	74	74	86	70	76
Temperaturas de la tarde (°C)	20.7	22.3	20	19.9	21.10	19.40	20.60
Humedad relativa (%)	88	64	80	81	77	76	78

Como se observar en el Cuadro 6 la temperatura se mantuvo constante durante toda la investigación, la cual estaba en el rango óptimo para la supervivencia del hongo; sin embargo, la humedad relativa (HR) estuvo por debajo del promedio adecuado para la esporulación del hongo. Su aplicabilidad biológica podría requerir más estudios para verificar la efectividad de *B. bassiana* en la práctica de este hongo benéfico a nivel campo, se ha señalado que la efectividad de *B. bassiana* es afectada en parte por la temperatura y humedad relativa en el macroclima y microclima del insecto plaga (Bustillo *et al.*, 1998; Hernández, 2003).

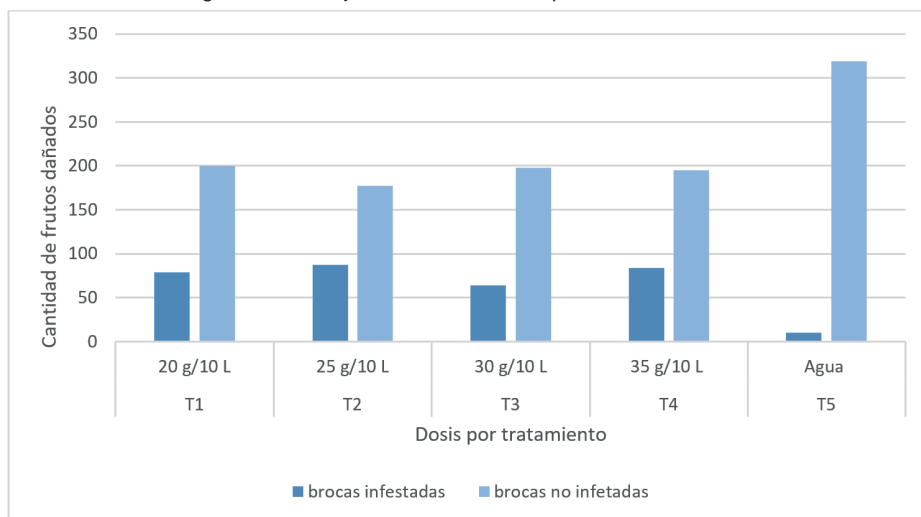
4.3. EFECTO DE LAS DIFERENTES DOSIS DE *B. BASSIANA* SOBRE LA BROCA DE CAFÉ DURANTE LOS SIETE MUESTREOS

De acuerdo con el análisis estadístico al realizar la Prueba de Chi- Cuadrada se obtuvo un valor de Chi-Cuadrada de Pearson= 271.206, con 6 grados de libertad y P = 0.0001, lo que indica que hay una relación significativa entre los tratamientos y esto se comprueba con la relación de verosimilitud (272.142, p = 0.000) que refuerza esta conclusión, encontrándose que los mejores tratamientos fueron el T2 con la dosis de 25 g de *B. bassiana* y la cantidad de granos infestados por broca de café e infestados por este hongo de 87 granos brocados y para el tratamiento T4 con la dosis de 35 g de *B. bassiana* con 84 granos infestados con brocas de café con *B. bassiana* (Figura 8).

5. CONCLUSIONES

Se encontró que *B. bassiana* tiene un efecto significativo en la reducción de la infestación de la broca de café con una infestación de 23.95 % en las parcelas experimentales. Sin embargo, la asociación entre los tratamientos evaluados y su efectividad fue baja, indicando un impacto moderado en las condiciones ambientales aplicadas.

Figura 8. Porcentaje de brocas infectadas por *Beauveria bassiana*.



Desde el punto de vista práctico, para el control microbiológico de la broca de café se recomienda usar la dosis de 25 g/14 L agua para ser aplicado en los cafetales con problemas de este insecto plaga que ataca a los frutos de café debido a que con esta dosis produce el mismo efecto que la dosis de 35 g de este hongo entomopatógeno, por tanto, reduciría los costos de producción y los costos de aplicación. Para comprobar la eficacia del hongo entomopatógeno sobre la broca de café, se realizó la prueba de ratio de ODDS (OR) la cual dio como resultados que el tratamiento T5 tuvo 2.06 veces más de probabilidad de ser atacados por la broca de café en comparación con los tratamientos con las dosis de *B. bassiana* que se aplicaron, esto sugiere que los granos de café que no son tratados son más susceptibles a ser atacados. Por ello, tomar la decisión de aplicar tácticas de control microbiológico es viable, ya que se pudo comprobar que es eficiente y los daños producidos por la broca de café son menores.

El tratamiento T2 con la dosis de 25 g de *B. bassiana* demostró ser tan eficaz como el tratamiento T4 con la dosis de 35 g de este hongo entomopatógeno, por lo que, se recomienda su uso por ser más rentable y por presentar resultados similares, optimizando así los costos de producción del productor sin perder su efectividad.

Dado que los tratamientos no mostraron una tendencia clara de eficacia constante, se concluye que *B. bassiana* debe integrarse dentro de un manejo agroecológico de la broca de café para mejorar la efectividad y proteger de manera sostenible el cultivo de café.

De acuerdo con el porcentaje de reducción de la infestación de la broca de café por el hongo entomopatógeno *B. bassiana* fue de 23.95 %, se concluye que se rechaza la

hipótesis nula, ya que no se alcanzó el 50 % de mortalidad de las poblaciones de broca de café en las parcelas experimentales.

LITERATURA CITADA

Acacio, G., & J. Gil. (2013). Efecto del color de trampa en la captura de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari) en tres localidades de Tingo María. Investigación y Amazonía. 2(1-2):2.

Agrios, G. N. (1999). Fitopatología, Editorial Limusa. México.

Alves, S. B.; Pereira, R. M.; López, R.; M. A. B. Tamai. (2003). Use of entomopathogenic fungi in Latin America. In: Advances in microbial control of insect pests, Upadhyay, R. K. ed., Kluwer, New York, pp. 193-211.

Barrera, J. F., F. Infante, W. de la Rosa, A. Castillo & J. Gómez. (2000). Control biológico de la broca del café. En: M.H. Badii, A.E. Flores & L.J. Galan Wong (eds.) Fundamentos y perspectivas de control biológico. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. pp: 211-229.

Bateman, R. (1997). The Development of a mycoinsecticide for locust and grasshoppers. Outlook on Agricultura. pp:13-18.

Bustillo P., A. E.; M. R. Cárdenas; G. D. A. Villalba; M. P. Benavides; H. J. Orozco; F. F. J. Posada. (1998). Manejo integrado de la broca del café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Centro Nacional de Investigaciones del Café. CENICAFÉ. Chinchina (Colombia). 134 p.

Bustillo P., A.E. (2004). "El manejo de cafetales y su relación con el control de la broca del café en Colombia". Manizales. Colombia. 45.p.

Campos Almengor, O. G., & R. C., Rodas Rodríguez. (2021). *Broca del fruto del café* (Boletín Técnico CEDICAFÉ No. 2018-06). Centro de Investigaciones en Café (CEDICAFÉ), Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ).

CENICAFÉ. (1993). Cómo determinar la infestación de broca en un cafetal (Boletín Informativo No. 5). Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/980/1/brc005.pdf>

Centro de estudios del Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA). 2019. Comercio Internacional del Café en México. Palacio legislativo de San Lázaro, ciudad de México. pp. 3-4.

Comité Técnico Estatal de Evaluación (CTEE). (2019). Estudios de diagnóstico y análisis de las cadenas productivas de Café. SADER, Jalapa, Ver. México. p 109.

Cramér, H. (1946). *Mathematical Methods of Statistics*. Princeton University Press.

Dowd, P.F. & F. E. Vega. (2003). Autodissemination of *Beauveria bassiana* by sap beetles (Coleoptera: Nitidulidae) to overwintering sites. Biocontrol Sci. Techn. 13(1):65-75.

Fajardo, I. E.; J. R. Sanz. (1999). Dinámica en los procesos de beneficio tradicional y ecológico, de los granos afectados por la broca del café. Revista CENICAFÉ 50 (2): 136-144.

Figueroa, H. E., Pérez, S. F. y M. L. Godínez. (2015). La producción y el consumo del café. ECORFAN. Pp. 115 – 125.

- Flores, F. (2014). La producción de café en México: ventana de oportunidad Para el sector agrícola de Chiapas. Espacio Innovación más Desarrollo, 4 (7): 177-178.
- Godoy, J. C., R.E. Valera, C. Guédez, L.M. Cañizalez y C. Castillo. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. Rev. Fac. Agron. 24(3), 415-425.
- Hernández, V. 2003. Efecto del contenido de humedad de conidios formulados de *Metarhizium anisopliae acridum* (Hyphomycete) sobre la viabilidad y reproducción de exudados en almacenamiento y virulencia sobre *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acridae). Universidad de Colima, Bogotá, Colombia. 145 p.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). Consultado el 25 de abril <https://mexico.pueblosamerica.com/i/villahermosa-21/>
- López, M. R. (2017). Estrategia para fortalecer centros estatales de innovación e impulsar la productividad y calidad del café mexicano. Informe de proyecto bajo convenio INIFAP-AMECAFÉ. Xalapa, Ver. 146 p.
- Miguel, A. E., & A. E. Paulini. (1975). Velocidade de penetração da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) no fruto do café. En 3º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Resumos (pp. 50–52). Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro do Café (IBC). Nava, T. M. E. y S. M. I. Hernández. (2017). Cafeticultura en Veracruz: Entre crisis y alternativas. Colegio de Veracruz. Xalapa Veracruz.
- Muñoz P. D., P.D. Gómez., C. V. H Santoyo. y L. R. Rosales. (2019). Los negocios del café ¿Cómo innovar en el contexto de la paradoja del café, en pro de una red de valor más inclusiva y accesible? Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. México. 249 p.
- Pearson, K. (1900). On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can reasonably be supposed to have arisen from random sampling. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 50(302), 157-175. <https://doi.org/10.1080/14786440009463897>.
- Pérez, J.; F. Infante, F. E. Vega, F. Holguín, J. Macías, J. Valle, G. NIETO, S. W. Peterson, C. P. Kurtzman, y K. O'Donnell. (2003). Mycobiota associated with the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) in Mexico. *Mycol. Res.* 107:879–887.
- Ruiz, R. (1996). Efecto de la fenología del fruto del café sobre los parámetros de la tabla de vida de la broca del café (*Hypothenemus hampei*) (Ferrari) [Tesis de licenciatura, Universidad de Caldas]. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Manizales, Colombia. 87 p.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (SADER). (2016), (Planeación Agrícola Nacional 2017-2030, Café Mexicano) consultado: [en línea] https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256426/B_sico-Caf_.pdf.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (SADER). (2018). consultado en <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-onceavo-productor-mundial-de-cafe?idiom=es>.
- Servicio de información Agroalimentaria y pesquera. (SIAP). (2021). Consultado el 8 de octubre en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Servicio de información Agroalimentaria y pesquera. (SIAP). (2023). Consultado el 25 de marzo en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.

Spearman, C. (1904). The proof and measurement of association between two things. *The American Journal of Psychology*, 15, 72-101.

Tablada, N., Elena, M., & Sánchez, M. I. H. (2017). Cafeticultura en Veracruz: entre crisis y alternativas. *Veracruz, un análisis para el desarrollo*, 93-105.

Tanada, Y. & H. K. Kaya. (1993). Fungal Infection. In: Insect pathology. Eds. y. Tanada y H.K. Kaya. Academic Press. pp.318-366.

Vázquez, V.V.C.A. (2014). Estado actual de *Hypothenemus hampei* (Coleóptera: Curculionidae), y su relación con la variabilidad climática, en la región cafetera del corregimiento de San Javier (Ciénaga, Magdalena).

Vega, F.E. & G. Mercadier. (1998). Insects. Coffee, and ochratoxins. *Florida Entomologist* 81: 543-544.

Vélez, A, P.; G. M. Benavides. (1990). Registro e identificación de *Beauveria bassiana* en Ancuyá, Nariño, Colombia. *CENICAFÉ* 41(2): 50-57.

CAPÍTULO 7

EPIDEMIOLOGÍA DEL MANCHADO DE CÁLIZ DE JAMAICA EN GUERRERO

Data de submissão: 01/09/2026

Data de aceite: 16/09/2026

David Heriberto Noriega Cantú

Doctorado en Ciencia en Fitopatología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Iguala
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0002-8215-4104>

Roció Toledo Aguilar

Doctorado en Mejoramiento Genético
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Iguala
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0002-9007-602x>

José Luis Arispe Vázquez

Doctorado en Sanidad Vegetal
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Iguala
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0003-1357-2238>

Romualdo Vásquez Ortiz

Doctorado en Mejoramiento Genético
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Iguala
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0001-8903-9478>

Régulo Jiménez Guillen

Doctorado en Mejoramiento genético
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Sitio Experimental Hidalgo
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0003-1835-7721>

Rafael Ariza Flores

Doctorado en Frutales
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Iguala
Iguala de la Independencia, Guerrero, México
<https://orcid.org/0000-0001-5764-2723>

RESUMEN: La jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es afectada por severas enfermedades como tizón y manchado del cáliz (MCJ). El objetivo fue estudiar las relaciones entre fluctuación estacional de esporas de *Corynespora* y *Coniella* patógenos del manchado y tizón de cálices y hojas, las condiciones de clima y severidad (MCJ) en Ayutla, Gro., México. Las esporas fueron monitoreadas, en dos ciclos, se aislaron los hongos y se realizó la identificación morfológica y molecular de *Coniella*, el estudio se centró en patógenos reportados en México. Las pruebas de patogenicidad con *C. diplodiella* y *C. cassiicola* confirmaron la sintomatología muy similar entre ambos hongos. *Coniella* fue el más abundante (48%) y con menos cantidad *Corynespora* (8.7%).

La dinámica de esporas tuvo una fluctuación mensual y relacionada con el clima. Las temperaturas máximas y medias (°C) y promedio de radiación global (W/m²) mostraron correlaciones positivas significativas con la abundancia de esporas de *Coniella* y el total de esporas, mientras que la precipitación (mm), temperatura mínima, velocidad del viento máxima (Km hr⁻¹) y horas de radiación solar, sus relaciones fueron negativas con las fluctuaciones de esporas de *Corynespora*. La severidad del manchado de hojas y cálices fue correlacionada positiva y significativa con el número de esporas capturadas.

PALABRAS CLAVE: *Hibiscus sabdariffa*; *Coniella*; *Corynespora*.

1. INTRODUCCIÓN

La jamaica es un cultivo de importancia económica, social y medicinal a pesar de su susceptibilidad a varias enfermedades. En el año 2018 generó un valor de producción superior a los 293 millones de pesos, donde Guerrero aportó el 70 % de la producción de este cultivo del total en el país. No obstante, el cultivo es afectado por varios factores durante el desarrollo vegetativo y producción, dentro de los cuales destaca los problemas fitosanitarios como la enfermedad denominada manchado de cáliz (MCJ), inducido por los hongos *Pilidella* (= *Coniella*) *diploidiella* (Correa *et al.*, 2011), *C. javanica* (Barrón *et al.*, 2019) y *Corynespora cassiicola* (Ortega-Acosta, 2016). El MCJ apareció en Guerrero, en el ciclo 2009, donde el Consejo Estatal de la jamaica reportó pérdidas cercanas al 80 % de la producción. Por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar la fluctuación estacional de esporas de los principales fitopatógenos y evaluar la influencia del clima sobre sus concentraciones y la severidad del MCJ.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El trabajo se realizó en una plantación de jamaica localizada en Pozolapa, Mpio. de Ayutla de los Libres, Guerrero, México (16° 53' 35.2"N, 99° 05' 59.7"O), a una altitud de 275 msnm, con antecedentes de alta incidencia de la mancha acuosa de hojas, tizón cálices y MCJ, durante dos ciclos de producción en primavera-verano 2017 y 2018. El municipio presenta clima cálido subhúmedo (Aw1) (García, 2004). La plantación bajo estudio fue de una hectárea. La siembra se realizó el 04 y 10 de julio de 2017 y 2018 respectivamente, con esquepe, con cuatro a seis semillas por mata del genotipo denominado "Coneja", a distancia de 1.0 m entre surcos y matas. Cuando las plantas tuvieron 10 cm de altura, se realizó un raleo, para dejar dos a tres plantas por mata, con una densidad aproximada de 25,000 plantas ha⁻¹. La fertilización se realizó con la fórmula 45-30-20 en dos aplicaciones (Alejo, 2016). En la plantación no se aplicaron agroquímicos para el control de plagas y enfermedades.

Identificación de hongos. En 2017 se colectaron dos hojas y dos cálices con manchas irregulares con puntos hundidos necróticos de la parte intermedia de 14 plantas, los cuales se cortaron en 56 fragmentos de 2.0 mm, se desinfectó la superficie con hipoclorito de sodio al 1.0% durante 30 s y se enjuagaron en tres cambios sucesivos de agua destilada estéril y se sembraron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), y se incubó durante seis días a 26 °C por 12 horas de fotoperiodo. De estas colonias en crecimiento se obtuvieron 28 subcultivos y se realizaron cultivos monoconidiales por la técnica de rayado en agar al 2 %. Luego de seis días se procedió a identificar hasta nivel de género las colonias fungosas obtenidas en cada muestra, empleando las claves Barnett y Hunter (1998).

De los aislamientos realizados se seleccionaron dos colonias de *Phoma*, se purificaron mediante transferencias de puntas de hifas. Para la extracción de ADN se realizaron transferencias a medio líquido papa-dextrosa, se incubaron por 24 horas en agitación y se colectó el micelio. La extracción del ADN se realizó mediante el método de Dellaporta *et al.* (1983), su concentración, calidad y pureza se cuantificó en un nanodrop One marca Thermo Scientific®, colocando 2 uL de ADN por muestra. Para confirmar la identificación de las cepas, se amplificaron las regiones del espacio transcrito interno (ITS) usando los iniciadores ITS1 / ITS4 (White *et al.*, 1990), las PCR se realizaron con el kit de QIAGEN Top Taq Master mix, en el termociclador Bio-RadT-100®. Las condiciones para la amplificación fueron una etapa inicial de pre-incubación por dos min a 95 °C seguida de 35 ciclos de desnaturalización por 30 s a 95 °C, hibridación por 30 s a 55 °C y extensión por un minuto a 72 °C y una etapa final de extensión durante 10 min a 72 °C (White *et al.*, 1990). Los fragmentos amplificados fueron visualizados mediante gel de agarosa en TAE al 1.0 %, teñidos con GelRed. El fragmento de ADN amplificado se envió a secuenciar en ambas direcciones con el método de didesoxinucleótidos marcados en el secuenciador 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®) en el Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. (IPICYT). Las secuencias obtenidas se compararon para su identificación con una búsqueda de secuencias en las bases de datos del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI) utilizando el algoritmo BLAST (Altschul *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2000).

Para confirmar la patogenicidad de dos cepas seleccionadas, se utilizaron plantas sanas de jamaica susceptibles de los genotipos Ayutla y Tecanapa. La cepa de *C. cassicola* proveniente de *H. sabdariffa* (MF000878.1) fue obtenida de la colección de micología del Colegio de Postgraduados México (Dr. Javier Hernández-Morales)

y la segunda cepa, identificada por morfología como *Phoma*, seleccionada para su identificación con marcadores ITS. Cada cepa se consideró un tratamiento y la unidad experimental fue una planta. Seis plantas por genotipo fueron inoculadas con *C. cassiicola* y otras seis por genotipo con *Phoma* y se usaron tres plantas por genotipo como testigo (aspersión con agua destilada estéril) de 28 días de edad en un bioespacio ubicado en el Campo Experimental Iguala en 2017 (28°C y 66% de humedad relativa). La inoculación se realizó rociando las hojas sanas con una suspensión de esporas (6×10^7 esporas/mL para *C. cassiicola* y 1×10^7 esporas/mL para *Phoma*). Posteriormente, las plantas se cubrieron durante tres días con una bolsa plástica, desinfectada con alcohol, para mantener una temperatura de 28.9°C y 88% de humedad relativa, se evaluaron las 12 primeras hojas para determinar la incidencia de los síntomas. Una segunda inoculación se realizó a los 77 días de edad de las plantas, la temperatura fue 27.3°C y 70% humedad relativa, los botones de flor fueron asperjados con una suspensión de esporas (6×10^7 esporas/mL para *C. cassiicola* y 10×10^7 esporas/mL para *Phoma*) y el tratamiento testigo se asperjó con agua destilada estéril, se evaluaron los tres primeros cálices por planta. La incidencia de la enfermedad se calculó dividiendo el número de hojas y cálices con síntomas entre el número total de hojas y cálices multiplicado por 100. Las evaluaciones en hojas y cálices se hicieron a los 3, 8 y 15 días después de la inoculación. Una hoja y cáliz por planta fue sembrado en PDA por tratamiento con la metodología anteriormente descrita y se volvió a aislar de los tejidos con manchas, las colonias y sus estructuras reproductivas, las que se compararon con las características de las colonias inoculadas originalmente.

Muestreo de esporas. En 2017 y 2018, durante julio a noviembre, se capturó y se contaron las esporas presentes en el aire, en la plantación experimental, se utilizó una trampa volumétrica tipo Burckard, la que trabaja mediante un proceso de succión de aire continuo, con un registro de siete días (Gadoury y MacHardy, 1983). La trampa de esporas se colocó en el centro de la plantación, a 1.7 m de altura por encima del dosel de la jamaica. Las esporas succionadas fueron impactadas sobre un tambor cilíndrico, cubierto por una cinta Janel transparente recubierta con vaselina, la cinta fue cortada en secciones de 39.5 mm correspondientes a cada período de 24 horas y montada sobre un portaobjetos. El conteo de esporas fue en tres transectos a 400x de aumento, calculando el promedio observado por 24 h. Cuando menos de cinco esporas fueron observadas, otros tres transectos fueron contados y se calculó el promedio; para reportar la concentración de esporas acumuladas en siete días. El monitoreo de esporas se realizó durante 133 y 122 días en 2017 y 2018 respectivamente, en las etapas fenológicas de crecimiento vegetal, desarrollo de yemas florales, fructificación y previo a cosecha.

Mediciones meteorológicas. Los factores climáticos de precipitación, temperatura, humedad relativa, radiación global y velocidad del viento se registraron en una estación meteorológica Davis Vantage PRO2, desde julio a diciembre, en 2017 y 2018 respectivamente. Con los registros radiación global se estimó el número de horas con luz solar por día.

Monitoreo de la severidad de la enfermedad. El nivel de daño de la enfermedad se determinó en 25 plantas seleccionadas al azar, en cada una se seleccionó una hoja y cáliz por rama de la base, intermedia y superior de la planta por punto cardinal, contabilizando 12 hojas y cálices por planta y con una escala diagramática de Ortega-Acosta *et al.* (2016), con rango de 0 al 5, en hoja 0=sano (0% de daño) y 5=daño severo (>57 % de daño); en cáliz 0=sano (0% de daño) y 5=daño severo (>77 % de daño) para determinar la severidad. El periodo de evaluación para hojas fue en septiembre previo a la emergencia de flores y para cálices en noviembre antes de la cosecha de 2017 y 2018.

Análisis estadístico. Los registros de captura de esporas se agruparon en periodos de siete días y se analizaron con estadísticas descriptivas y la correlación de Spearman (SAS, 2010) entre densidad de esporas acumuladas semanalmente y datos de clima. También se utilizó la correlación de Spearman para relacionar la cantidad de esporas acumuladas semanalmente con severidad de la enfermedad en hojas y cálices.

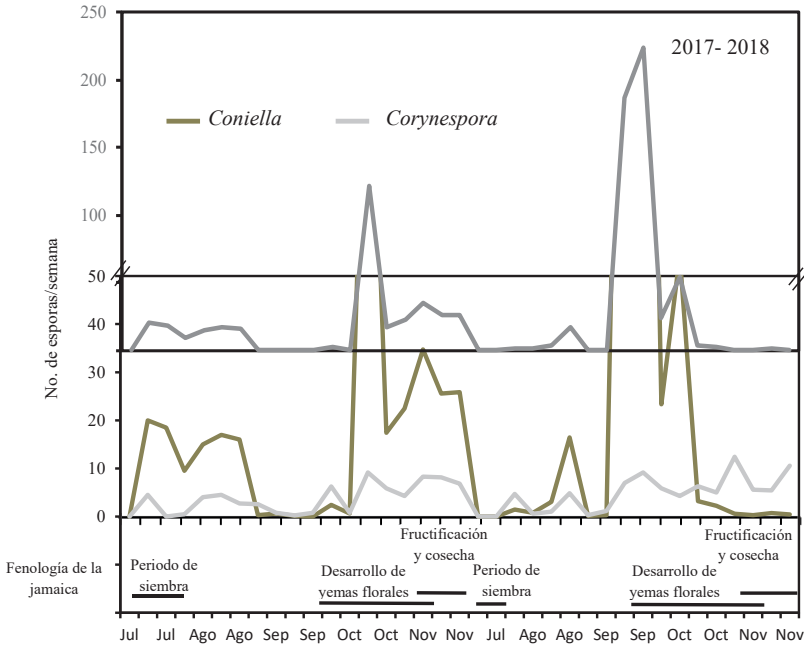
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de hongos. Cuatro géneros patogénicos fueron identificados: *Coniella*, *Corynespora*, *Lasiodiplodia*, *Curvularia* y *Alternaria*. El género *Coniella* con 44.4 % de abundancia de esporas. El género *Corynespora* tuvo uno de las menores concentraciones con 9.0 % de esporas. El estudio se concentró en *Coniella* y *Corynespora* debido a que han sido reportados como agentes causales del MCJ.

Distribución temporal de inóculo en el aire. En el período de muestreo se observó la presencia de inóculo de *Coniella* y *Corynespora* (Figura 1). Después del periodo de siembra, a los 10 días se registró la primera presencia de esporas de *Coniella* y *Corynespora* con un promedio de 20 y 4.5 esporas/semana en julio respectivamente. En el desarrollo vegetativo, ambos hongos, bajaron sus niveles poblacionales. *Coniella* con 0.7 esporas/semana en promedio, del 25 de agosto al 13 de octubre. *Corynespora* sus poblaciones fueron más altas con 1.9 esporas/semana en promedio entre las mismas semanas. Sin embargo, en el desarrollo de yemas florales, fructificación y la cosecha sus niveles poblacionales se incrementó, *Coniella* con 41.2 esporas/semana en promedio del 13

de octubre al 24 de noviembre. Mientras *Corynespora* sus poblaciones promedio fueron 7.1 esporas/semana durante el mismo lapso.

Figura 1. Distribución semanal de esporas de *Coniella* y *Corynespora* presentes en el aire, desde julio hasta noviembre de 2017 y 2018. La fenología de la jamaica se muestra en la parte inferior. Los periodos típicos de siembra, floración y cosecha en Guerrero se indican con líneas negras.



Correlación entre esporas y variables meteorológicas. La correlación entre concentraciones de hongos y variables meteorológicas se realizó con la prueba de correlación de Spearman's (Cuadro 1). La lluvia indujo un efecto negativo para la concentración de inoculo de *Coniella*, *Corynespora* y total de esporas. La temperatura fue la variable más influyente en la dinámica de población de esporas en el aire. La temperatura máxima mostró una correlación positiva significativa con las fluctuaciones poblacionales de *Coniella* y el total de esporas. Las temperaturas diurnas máximas menos la mínima mostraron correlación positiva con las poblaciones de *Coniella*, *Corynespora* y total de esporas. El número de horas con radiación solar también tuvo influencia en la dinámica de población, con una influencia negativa sobre *Corynespora*.

Cuadro 1. Correlación de Spearman's entre la concentración de esporas acumuladas semanalmente y las variables meteorológicas*. Ciclos primavera verano 2017. Pozolapa Mpio. de Ayutla, Guerrero.

Hongo	PP	Tmax	Tmax-min	HRG
<i>Coniella</i>	-0.91736	0.79007	0.86002	-0.32056
	<.0001	<.0001	<.0001	0.1947
<i>Corynespora</i>	-0.647	0.45803	0.56522	-0.52361
	0.0037	0.0559	0.0145	0.0257
Total de esporas	-0.63326	0.56567	0.50362	0.02745
	0.0048	0.0144	0.0331	0.9139

^a Coeficiente de correlación; ^b Nivel de significancia; número de observaciones 18.

*PP=precipitación (mm); Tmax=temperatura máxima (°C); Tmax-min=temperatura diurna máxima-mínima y HRG=horas de radiación global (W/m²).

Correlación entre el MCJ y las esporas de *Coniella* y *Corynespora*. La correlación entre la enfermedad MCJ y la fluctuación de esporas se presentan el Cuadro 2. La severidad de la enfermedad en las hojas (evaluadas en septiembre) y cáliz (evaluadas en octubre-noviembre) y el número acumulado de esporas de *Coniella* y el total de esporas fue positiva y significativa. Los resultados mostraron la interacción entre el hospedero, clima e inóculo, durante las etapas fenológicas del cultivo, favoreciendo en parte el MCJ, por lo que su distribución sobre el follaje no fue uniforme.

La concentración de esporas sobre el cultivo estuvo estrechamente relacionada con las condiciones ambientales previas a su captura. Se encontraron correlaciones negativas entre la lluvia y concentración de *Coniella*, *Corynespora* y esporas totales, al parecer cuando ocurren lluvias torrenciales ≥ 138 mm, la concentración de esporas en el aire se reduce. Similar a lo reportado para otros hongos, donde indican que la lluvia aparentemente lava el inóculo (Blanco *et al.*, 2006). No obstante, las condiciones húmedas del suelo y hojas que persisten después de un evento de lluvia contribuyen a aumentar la densidad de esporas de hongos en el aire (Ganthaler y Mayr, 2015). En crecimiento vegetativo, la presencia de esporas de *Coniella* y de una continua presencia de tejido susceptible (hojas jóvenes y maduras), de julio-septiembre, no es limitante en cuanto a disponibilidad de tejido hospedante. No obstante, en septiembre, previo a la floración se presenta una defoliación de hojas afectadas por manchas foliares, lo cual disminuye el MCJ, a pesar del rápido incremento de tejido nuevo libre de la enfermedad, aunado a la poca concentración de inóculo en el aire, posiblemente por el lavado de las esporas por las lluvias torrenciales en este mes. Cuando se presenta la floración (octubre-noviembre), coincide con la fase de crecimiento acelerado de la enfermedad presente en el follaje joven, con altos niveles de inóculo (*Coniella* y *Corynespora* con ≥ 100 y 8 esporas/semana sobre

el cultivo respectivamente) y con las condiciones atmosféricas idóneas para la epidemia (temperatura media por día 25.3-26.6°C, con humedades relativas $\geq 84\%$ y con 12-11.2 hr de radiación solar por día). Es importante reducir las aplicaciones de fungicidas inoportunas y potencialmente innecesarias, a través de información de inóculo transportado por el aire, que permita estimar el riesgo de acumulación potencial de esporas y su germinación, lo que ayudaría ajustar los intervalos de aplicación de fungicidas bajo un manejo integrado.

Cuadro 2. Correlación de Spearman's entre la severidad de manchado del cáliz de jamaica y la concentración de esporas acumuladas semanalmente. Ayutla de los Libres, Guerrero. Ciclo 2017.

Hongo	Severidad MCJ en planta*
<i>Coniella</i>	0.73055^a
	0.0396^b
	8^c
<i>Corynespora</i>	0.64458
	0.0845
	8
Total de esporas	0.73055
	0.0396
	8

* Evaluación de severidad en hoja (septiembre) y cáliz (octubre-noviembre)

^a Coeficiente de correlación; ^b Nivel de significancia y ^c Número de observaciones.

4. CONCLUSIONES

Las esporas de *Coniella* y *Corynespora* fueron los géneros comunes presentes en el aire sobre el cultivo de jamaica. Las variaciones del clima, temperatura y precipitación principalmente, determinan las concentraciones de esporas sobre el cultivo. La severidad del manchado del cáliz estuvo correlacionada positiva y significativamente con el número de esporas de *Coniella* y *Corynespora* acumulados semanalmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alejo JA. 2017. Jamaica (monocultivo). Pp: 23-29. In: Moctezuma LG, González HA, Romero SME, Pérez MR, Castillo MCR. (Eds.). Agenda Técnica Agrícola de Guerrero. INIFAP. 116 p. www.inifap.gob.mx/SitePages/inifap2015/Inicio/Agendas_Tec.aspx

Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D. J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389 – 3402. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>

Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. APS Presss, The American Phytopathological Society, St Paul, Minn, USA. 218 pp.

Blanco C, De los Santos B and Romero F. 2006. Relationship between concentrations of *Botrytis cinerea* conidia in air, environmental conditions, and the incidence of grey mould in strawberry flowers and fruits. *European Journal of Plant Pathology* 114:415–425. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-0007-3>

Correa SE, Ortiz GCF, Torres CM, Bautista MCC, Rivera CMC, Lagunes ELC y Hernández SJH. 2011. Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29(2): 165-167. <https://scholar.google.com/scholar?oi=gsb95&q=correa%202011%20jamaica&lookup=0&hl=es>

Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. 1983. A plant DNA mini preparation: version II, *Plant Molecular Biology Reporter*, 1:19-21. <https://doi.org/10.1007/bf02712670>

Gadoury DM and MacHardy WE. 1983. A 7-day recording volumetric spore trap. *Phytopathology* 73:1526-1531. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/-backissues/Documents/1983Articles/Phyto73n11_1526.PDF

Ganthaler A, Mayr S. 2015. Temporal variation in airborne spore concentration of *Chrysomyxa rhododendri*: correlation with weather conditions and consequences for Norway spruce infection. *Forest Pathology*. 45 (6): 443–449. <https://doi.org/10.1111/efp.12190>

García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación de Köppen. Serie Libros No. 6. Quinta Edición: corregida y aumentada. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México. 98 p. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.1998.01.004>

Ortega-Acosta SA, Ochoa-Martínez DL, Leyva-Mir SG, Velasco-Cruz C, Mora-Aguilera JA, Hernández-Morales J. 2019. Control químico del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México. *Summa Phytopathologica*, 45 (1): 38-43. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/182006>

SAS Institute, Inc. 2010. SAS user's guide: Statistics. Release 9.3. Ed. SAS Institute Incorporation. Cary, C, SA. 1028 pp.

White T.J., T. Bruns S. Lee., and J.W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., and White T. J. Academic Press, Inc., New York. Pp. 315-322. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1>

Zhang, Z., Schwartz S., Wagner L., and Miller W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7 (1/2):203-214.

CAPÍTULO 8

ESTIMACIÓN DE LA ABUNDANCIA DE *Oebalus* spp. (Hemiptera: Pentatomidae) EN CULTIVOS COMERCIALES DE ARROZ DEL LITORAL ECUATORIANO¹

Data de submissão: 09/09/2026

Data de aceite: 21/09/2026

María Esmeralda Cuzco Cruz

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil - Ecuador
<https://orcid.org/0000-0003-2231-7626>

William Eribert Vasquez Ledesma

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil - Ecuador
<https://orcid.org/0009-0004-9831-7328>

Luis Damiani Sánchez Campoverde

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agropecuaria
Vinces – Ecuador
<https://orcid.org/0009-0007-6474-5828>

Eulices Orlando Mendoza Carriel

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agropecuaria
Vinces – Ecuador
<https://orcid.org/0009-0005-6291-569X>

María Leticia Vivas Vivas

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-5699-429X>

Amalia Marisol Vera Oyague

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0001-9382-7012>

Nicolás Alberto Vasconcellos Fernández

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-4489-8081>

Fabian Alberto Gordillo Manssur

Universidad de Guayaquil
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera de Agronomía
Guayaquil – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-2690-4652>

María Gabriela Delgado Macías

Escuela Superior Politécnica
Agropecuaria de Manabí
“Manuel Félix López”
ESPAM MFL
Facultad de Biotecnología
Carrera de Ingeniería en Biotecnología
Calceta – Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-2065-5085>

¹ Este artículo es derivado de un proyecto de Fondos Concursables Internos (FCI) de la Universidad de Guayaquil titulado “Georreferenciación de patrones espaciales de insectos Plaga del cultivo de arroz en la Provincia del Guayas”, aprobado el 2023 cuya fase experimental fue ejecutada durante los años 2024 – 2025. Los autores declaramos no tener conflicto de intereses.

RESUMEN: *Oebalus* spp. constituye una de las principales plagas del arroz durante las etapas reproductivas del cultivo, ocasionando pérdidas en rendimiento y calidad industrial del grano. La temperatura y la humedad relativa son variables clave en la dinámica poblacional de insectos fitófagos; sin embargo, aún existe escasa información sobre la capacidad predictiva de variables climáticas sobre la abundancia de *Oebalus* spp. bajo condiciones tropicales. El estudio se realizó entre 2024 y 2025 en tres localidades arroceras del litoral ecuatoriano: Daule, Salitre y Santa Lucía. Se realizaron monitoreos semanales mediante 10 pases dobles de red en lotes comerciales sembrados con la variedad SFL-11, y se registró la temperatura media, temperatura máxima y humedad relativa. La abundancia poblacional de *Oebalus* spp. fue analizada mediante Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLMM). Daule presentó las mayores abundancias poblacionales de *Oebalus* spp., asociadas a temperaturas medias de 27.1 °C y máximas de 31.7 °C. La temperatura media mostró la mayor asociación positiva con la abundancia del insecto, mientras que temperaturas máximas elevadas mostraron un efecto parcialmente limitante sobre las capturas. La fluctuación poblacional presentó incrementos progresivos desde la semana 7, alcanzando los mayores picos entre las semanas 9 y 12 del cultivo. Los niveles poblacionales registrados superaron los umbrales económicos de tratamiento reportados para la plaga. La temperatura media fue la principal variable climática asociada con la abundancia de *Oebalus* spp., mientras que temperaturas máximas elevadas limitaron parcialmente las poblaciones. Los modelos GLMM permitieron describir las capturas por unidad de muestreo siendo de gran utilidad para el desarrollo de programas de monitoreo y manejo integrado en sistemas arroceros del litoral ecuatoriano.

PALABRAS CLAVE: fluctuación poblacional; monitoreo de *Oebalus*; parámetros climáticos; umbrales de tratamiento.

ESTIMATION OF THE ABUNDANCE OF *Oebalus* spp. (Hemiptera: Pentatomidae) IN COMMERCIAL RICE CROPS ON THE ECUADORIAN COAST

ABSTRACT: *Oebalus* spp. is one of the major pests of rice during the crop's reproductive stages, causing losses in yield and in the industrial quality of the grain. Temperature and relative humidity are key variables in the population dynamics of phytophagous insects; however, information remains limited regarding the predictive power of climatic variables with respect to the abundance of *Oebalus* spp. under tropical conditions. The study was conducted between 2024 and 2025 at three rice-growing locations on the Ecuadorian coast: Daule, Salitre, and Santa Lucía. Weekly monitoring was carried out using 10 double-net sweeps on commercial plots planted with the SFL-11 variety, and the average temperature, maximum temperature, and relative humidity were recorded. The population abundance of *Oebalus* spp. was analyzed using generalized linear mixed models (GLMM). Daule had the highest population abundances of *Oebalus* spp., associated with average temperatures of 27.1 °C and maximum temperatures of 31.7 °C. Average temperature showed the strongest positive association with insect abundance, while high maximum temperatures had a partially limiting effect on captures. Population fluctuations showed progressive increases starting in week 7, reaching their highest peaks between weeks 9 and 12 of the growing season. The recorded population levels exceeded the economic

intervention thresholds established for this pest. Average temperature was the main climatic variable associated with the abundance of *Oebalus* spp., while high maximum temperatures partially limited population size. GLMM models made it possible to describe catches per sampling unit, proving highly useful for the development of monitoring and integrated management programs in rice-growing systems the Ecuadorian coast.

KEYWORDS: population fluctuation; *Oebalus* monitoring; climate parameters; treatment thresholds.

1. INTRODUCCIÓN

El arroz constituye uno de los cultivos alimentarios más importantes a nivel mundial y representa la base de la seguridad alimentaria para millones de personas, especialmente en regiones tropicales y subtropicales. Sin embargo, la productividad y calidad del cultivo se encuentran constantemente amenazadas por diversos insectos fitófagos, entre los cuales los chinches del arroz del género *Oebalus* destacan por su capacidad de ocasionar pérdidas económicas significativas durante las etapas reproductivas del cultivo. Estos insectos se alimentan mediante la succión del contenido de los granos en estado lechoso y pastoso, afectando directamente el llenado del grano, reduciendo el peso y favoreciendo la presencia de granos vanos, manchados y quebrados durante el procesamiento industrial (Awuni et al., 2015). Además, las infestaciones severas pueden comprometer considerablemente la calidad molinera y reducciones del grano entero (Wilson & Stout, 2020).

La dinámica poblacional de los insectos fitófagos está estrechamente relacionada con las condiciones climáticas, particularmente con las altas temperaturas y humedad relativa, y sugiere que son predictores clave del tamaño de la población de insectos y el rango de hábitat (Walters & Mackay, 2003) (Chown et al., 2011). Otros estudios mencionan que existen indicios de que la humedad relativa y las precipitaciones, además de la temperatura, son factores importantes para determinar el tamaño de la población y el potencial de daño causado por otras especies de chinches hemípteras (Boopath et al., 2017) (Bigirimana et al., 2019). Además, es de especial interés que para algunas especies de insectos, la alta humedad puede aumentar la tolerancia a las altas temperaturas, mientras que en otros insectos, la alta humedad reduce la supervivencia a altas temperaturas (Fisher et al., 2021).

Se prevé que el incremento global de las temperaturas ambientales modifique significativamente la dinámica poblacional de numerosos insectos plaga y aumente su capacidad de dispersión e invasión hacia nuevos hábitats (Cammell & Knight, 1992; Bale et al., 2002; Deutsch et al., 2018). Asimismo, se proyecta que los eventos de temperaturas

extremas y olas de calor aumenten en frecuencia e intensidad a nivel mundial, generando cambios importantes en la ecología de las plagas agrícolas (Perkins et al., 2013).

El arroz constituye uno de los principales cultivos agrícolas del Ecuador y representa una actividad estratégica a nivel socioeconómico dado que constituye uno de los alimentos básicos de la dieta nacional (Farah et al., 2025), especialmente en las provincias de Guayas con 269.907 hectáreas sembradas, seguidas por Los Ríos con 110.455 hectáreas producidas, donde se concentra gran parte de la producción nacional (Sistema de Información Pública Agropecuaria del Ecuador, 2026). Las condiciones climáticas predominantes del litoral ecuatoriano, caracterizadas por temperaturas elevadas y alta humedad relativa durante gran parte del año (Arredondo et al., 2022), favorecen el desarrollo continuo de diversas plagas insectiles asociadas al cultivo de arroz, entre ellas los chinches del arroz del género *Oebalus*. Investigaciones desarrolladas en Ecuador han reportado la presencia e incidencia de *Oebalus* spp. en sistemas arroceros de la provincia del Guayas, destacando su importancia dentro del complejo de insectos plaga asociados al cultivo (Farah et al., 2025). En los últimos años, productores arroceros del litoral ecuatoriano han reportado incrementos en la incidencia y severidad de infestaciones de chinches durante las etapas reproductivas del cultivo, generando preocupación debido a las pérdidas asociadas con el deterioro de la calidad molinera y el incremento de granos manchados y vanos ocasionando pérdidas productivas que pueden oscilar entre el 30 y el 65% (Llerena-Ramos et al., 2025). Esto se debe principalmente a la alimentación de la ninfa y adulto a través de la succión del contenido acuoso de los granos de arroz (Hajjar et al., 2023).

En el caso de *Oebalus* spp., se ha documentado que los adultos inicialmente se establecen en áreas circundantes al cultivo, particularmente en vegetación presente en bordes y muros divisorios, desde donde posteriormente migran hacia los arrozales conforme el cultivo alcanza etapas reproductivas, cumpliéndose una generación cada cuatro semanas, es decir, cuatro generaciones por temporada (Sutherland & Baharally, 2003). Estudios de fluctuación poblacional han demostrado que las mayores abundancias de chinches del arroz ocurren durante la floración y llenado del grano, registrándose incrementos significativos en las capturas mediante redes de barrido durante estos periodos fenológicos; asimismo, se ha observado que la actividad del insecto disminuye durante las horas de mayor temperatura del día, registrándose menores capturas en horarios de máxima radiación solar respecto a horarios matutinos y vespertinos (Rashid et al., 2006). Estos antecedentes sugieren que las variaciones térmicas pueden modificar tanto la abundancia poblacional como el comportamiento de dispersión y actividad superficial del insecto dentro del cultivo.

Desde el punto de vista del manejo integrado, el monitoreo poblacional constituye una herramienta fundamental para la toma de decisiones oportunas. La literatura reporta umbrales económicos de aproximadamente cinco chinches por cada diez barridos, sin embargo, se necesita más investigación para determinar el umbral específico, dado que por la gravedad de los daños ocasionados por esta plaga, el umbral actual de 5 por cada 10 barridos parece ser menor (Awuni et al., 2015). En este contexto, los métodos de muestreo poblacionales permiten no solo estimar la intensidad de infestación, sino también predecir la probabilidad de que las poblaciones alcancen niveles capaces de ocasionar daño económico durante las etapas reproductivas del cultivo.

A pesar de la importancia económica de *Oebalus* spp. en sistemas arroceros tropicales, aún persisten vacíos de conocimiento relacionados con la dinámica espacio-temporal de sus poblaciones y con la capacidad predictiva de las variables climáticas sobre la abundancia del insecto en condiciones de campo. Aunque diversos estudios han abordado la fluctuación poblacional y los daños ocasionados por chinches del arroz, la mayoría de las investigaciones se han basado en correlaciones simples y análisis temporales básicos. En este contexto, son limitados los estudios que incorporan enfoques estadísticos jerárquicos, como los modelos lineales generalizados mixtos (GLMM), para evaluar simultáneamente los efectos climáticos, espaciales y temporales sobre la abundancia poblacional de la plaga.

Autores como Rashid et al. (2006) enfatizan que un método de muestreo funcional debe permitir el desarrollo de densidades poblacionales capaces de ocasionar daños económicos, destacando la necesidad de utilizar enfoques analíticos con mayor capacidad predictiva, como se han realizado en estudios previos (Zidon et al., 2016; Michel et al., 2017; Madden & Ojiambo, 2024; Cuzco et al., 2025).

En Ecuador, la información relacionada con la dinámica poblacional de *Oebalus* spp. y su relación con variables climáticas es aún escasa, particularmente bajo distintas condiciones agroecológicas de producción arroceras del litoral ecuatoriano. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la temperatura media, temperatura máxima y humedad relativa sobre la abundancia y fluctuación poblacional de *Oebalus* spp. en diferentes localidades arroceras del litoral ecuatoriano, mediante la aplicación de modelos predictivos basados en GLMM para determinar la relación entre las variables climáticas y la dinámica poblacional del insecto durante el ciclo del cultivo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La fase I del proyecto se desarrolló entre 2024 y 2025 realizando el monitoreo poblacional de insectos plaga en tres localidades productoras de arroz de la provincia del

Guayas: Daule, Salitre y Santa Lucía, caracterizadas por mantener producción arroceras durante gran parte del año.

El estudio se estableció bajo un esquema de muestreo jerárquico con medidas repetidas en el tiempo, considerando las localidades como efecto fijo y los lotes como unidades espaciales anidadas dentro de cada localidad. Las evaluaciones poblacionales se realizaron semanalmente mediante pases dobles de red en sistemas comerciales de arroz manejados bajo prácticas agronómicas convencionales y sin uso de umbrales de tratamiento para la aplicación de pesticidas.

Las fincas evaluadas presentaron superficies aproximadas entre 50 y 100 cuerdas sembradas con la variedad SFL-11. En cada localidad se seleccionaron aleatoriamente cuatro lotes permanentes para el seguimiento poblacional de las principales plagas del cultivo, incluyendo *Oebalus* spp., así como de la fauna benéfica asociada. Con el fin de homogenizar el esfuerzo de muestreo, en cada lote se realizaron 10 pases dobles de red y se registró semanalmente el número de adultos y ninfas capturados.

Los monitoreos se efectuaron entre las 08:00 y 09:00 h, periodo considerado entre los más frescos del día y asociado con una mayor actividad superficial y probabilidad de captura de chinches del arroz (Rashid et al., 2006).

2.1. REGISTRO DE PARÁMETROS CLIMÁTICOS

En cada localidad se colocó un termohigrómetro Elitech 6G Data Logger (Elitech Technology Inc., San José, CA, EE. UU.) programado para registrar cada 15 minutos la temperatura (°C) y la humedad relativa (%) (Elitech, 2025). Se colocaron a 1,50 m del suelo, protegidos de la luz solar directa dentro de una caja para evitar registros inapropiados. Se calculó la temperatura media, temperatura máxima y la humedad relativa de cada localidad.

2.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de datos se realizó en el entorno de programación RStudio (versión 4.5.2) utilizando Modelos Lineales Mixtos Generalizados (GLMM) de la familia binomial negativa para modelar datos de conteo con sobredispersión. Se ajustó un modelo base considerando la localidad como efecto fijo, mientras que la semana de evaluación y el lote se incorporaron como efectos aleatorios para representar la variabilidad temporal y espacial del sistema de muestreo. Posteriormente, se evaluaron de manera independiente los efectos de la temperatura media, temperatura máxima y humedad relativa, incorporando cada variable climática como covariable fija junto con la localidad.

Las estimaciones fueron exponenciadas para facilitar la interpretación biológica de los interceptos. Los parámetros de los modelos fueron estimados mediante máxima verosimilitud y las comparaciones entre localidades se realizaron mediante pruebas de Tukey utilizando medias marginales estimadas.

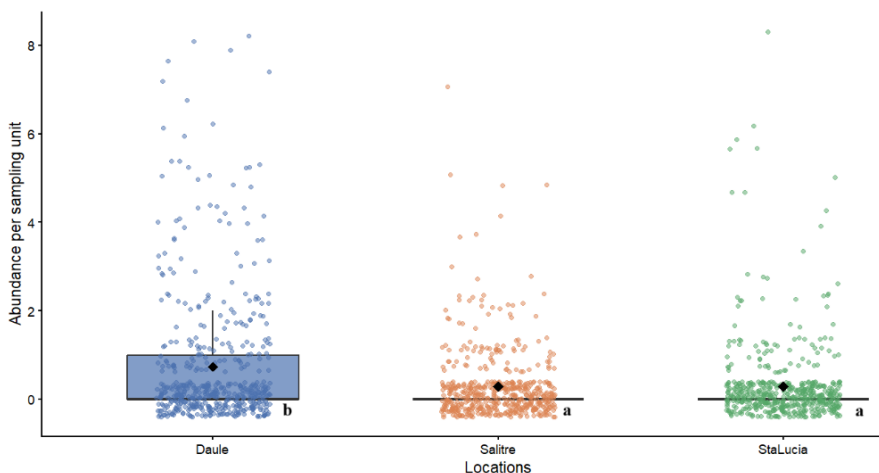
La validación de supuestos se realizó evaluando dispersión, la uniformidad de los residuos se comprobó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, e inflación de ceros mediante simulación de residuos. El modelo fue seleccionado con base a la ausencia de desviaciones de los supuestos y los menores valores del Criterio de Información de Akaike (AIC).

3. RESULTADOS

3.1. ABUNDANCIA POBLACIONAL POR UNIDAD DE MUESTREO EN LAS LOCALIDADES

En la Figura 1, se observa que la abundancia de *Oebalus* spp. por unidad de muestreo presentó diferencias significativas entre localidades. Daule registró la mayor abundancia esperada, con 0.10 individuos por pase de red, difiriendo estadísticamente de Salitre (0.039 individuos) y Santa Lucía (0.038 individuos), las cuales no presentaron diferencias significativas entre sí. Los intervalos de confianza evidenciaron una alta variabilidad en las capturas, asociada a las aplicaciones de plaguicidas realizadas durante el ciclo del cultivo en los sistemas comerciales evaluados, las cuales pudieron modificar temporalmente la abundancia poblacional del insecto entre semanas y localidades.

Figura 1. Comparación de la abundancia obtenida por unidad de muestreo. Letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($p < 0.05$) según la prueba de Tukey.



3.2. MAGNITUD RELATIVA DE ABUNDANCIA DE *OEBALUS* SPP. BAJO VARIABLES CLIMÁTICAS

Los valores registrados de temperatura media, temperatura máxima y humedad relativa promedio en las localidades estudiadas se presentan a continuación:

Tabla 1. Parámetros climáticos de las localidades estudiadas.

Parámetros	Daule	Salitre	Santa Lucía
Temperatura promedio (°C)	27.1	27.8	25.4
Temperatura máxima (°C)	31.7	35.9	31.8
Humedad relativa (%)	81.5	84.0	81.6

Bajo condiciones promedio de temperatura media, la abundancia de *Oeobalus* en Daule fue aproximadamente 16.9 veces mayor que en Santa Lucía ($p = 0.0033$), mientras que no se detectaron diferencias significativas entre Daule y Salitre. Asimismo, Salitre presentó una abundancia aproximadamente 15.3 veces mayor que Santa Lucía, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.0738$). Por otra parte, con la temperatura máxima Daule presentó abundancias aproximadamente 2.6 veces mayores que Santa Lucía ($p < 0.001$), mientras que no se observaron diferencias significativas entre las demás localidades.

En condiciones promedio de humedad relativa, Daule presentó abundancias aproximadamente 3.9 veces mayores que Salitre, aunque las diferencias fueron marginalmente no significativas ($p = 0.0703$). Asimismo, Daule registró abundancias aproximadamente 2.6 veces mayores que Santa Lucía ($p < 0.001$), mientras que Salitre presentó una abundancia 0.67 veces menor que Santa Lucía, sin diferencias estadísticas significativas entre ambas localidades ($p = 0.8054$).

Tabla 2. Magnitud relativa de la abundancia de *Oeobalus* entre localidades.

Parámetros	Estimaciones	SE	Z value	p - value
Temperatura media				
Daule - Salitre	0.0983	0.402	0.244	0.9677
Daule – Santa Lucía	2.8257	0.869	3.250	0.0033
Salitre - Santa Lucía	2.7274	1.250	2.185	0.0738
Temperatura máxima				
Daule - Salitre	0.838	0.620	1.351	0.3670
Daule – Santa Lucía	0.971	0.133	7.272	0.0001
Salitre - Santa Lucía	0.133	0.597	0.223	0.9730
Humedad relativa				

Parámetros	Estimaciones	SE	Z value	p - value
Daule - Salitre	1.363	0.618	2.205	0.0703
Daule – Santa Lucía	0.969	0.131	7.403	0.0001
Salitre - Santa Lucía	-0.394	0.629	-0.627	0.8054

Nota: Los valores están representados en una escala logarítmica.

La Tabla 3 evidencia diferencias estadísticas en la abundancia de *Oebalus* por unidad de muestreo en función de las variables climáticas evaluadas y las localidades de estudio. En el modelo base, sin considerar la interacción de los parámetros climáticos, Daule presentó la mayor abundancia promedio del insecto, registrando 0.10 chinches por unidad de muestreo, valor significativamente superior al observado en Salitre y Santa Lucía, donde se registraron abundancias similares de 0.04 insectos por unidad de muestreo.

La temperatura media mostró un incremento importante en las capturas ya que Daule registró la mayor abundancia promedio con 0.19 insectos por unidad de muestreo, seguido de Salitre con 0.17 insectos, sin presentar diferencias estadísticas marcadas entre ambas localidades. En contraste, Santa Lucía mostró valores prácticamente nulos, con apenas 0.001 insectos por unidad de muestreo, evidenciando una respuesta poblacional muy limitada bajo esta variable climática.

En relación con la temperatura máxima, los resultados mostraron una disminución general en las capturas respecto a la temperatura media. Daule mantuvo la mayor abundancia con 0.10 chinches por unidad de muestreo, mientras que Salitre y Santa Lucía registraron valores considerablemente menores, ambos cercanos a 0.04 insectos por unidad de muestreo.

Por otra parte, la humedad relativa presentó un comportamiento diferencial entre localidades. Daule nuevamente registró la mayor abundancia promedio con 0.12 insectos por unidad de muestreo, mientras que Santa Lucía mostró una abundancia moderada de 0.04 insectos. En contraste, Salitre presentó una ligera reducción en las capturas, con apenas 0.03 insectos por unidad de muestreo.

Dado que los valores estimados corresponden a la abundancia predicha por pase de red y considerando la estructura jerárquica del experimento, así como la variabilidad temporal y espacial asociada a las semanas de evaluación y lotes muestreados, el valor estimado de 0.10 registrado en Daule en el modelo base equivale aproximadamente a cuatro individuos capturados por semana, considerando 10 pases de red realizados en cuatro lotes evaluados simultáneamente. Asimismo, bajo condiciones de temperatura media, la abundancia predicha en Daule (0.19)

representa a nueve individuos capturados por unidad de muestreo. En Salitre, la mayor abundancia esperada también se registró bajo condiciones de temperatura media, con siete individuos por unidad de muestreo. En contraste, Santa Lucía presentó las menores abundancias predichas, estimándose capturas cercanas a dos individuos bajo condiciones de temperatura máxima y humedad relativa.

Tabla 3. Abundancia esperada de *Oebalus* spp. por unidad de muestreo en función de los parámetros climáticos.

Respuesta	Daule	Salitre	Santa Lucía
Base del modelo	0.10 b	0.04 a	0.04 a
Temperatura promedio	0.19 b	0.17 ab	0.001 a
Temperatura máxima	0.10 b	0.04 ab	0.04 a
Humedad relativa	0.12 b	0.03 ab	0.04 a

Localidades con letras iguales no presentan diferencias estadísticas ($p < 0.05$) según la prueba de Tukey.

3.3. FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DE *OEBALUS* SPP.

La Figura 2 presenta la fluctuación semanal del número promedio de chinches capturados mediante pases de red durante el ciclo del cultivo en las tres localidades evaluadas. En términos generales, se observó una baja incidencia del insecto durante las primeras semanas de evaluación, particularmente en Salitre y Santa Lucía, donde las capturas fueron prácticamente nulas hasta aproximadamente la semana 7. En contraste, en Daule se registró presencia del insecto desde etapas más tempranas del cultivo, observándose capturas a partir de la semana 5 y una permanencia continua de la plaga a lo largo de todo el periodo de monitoreo.

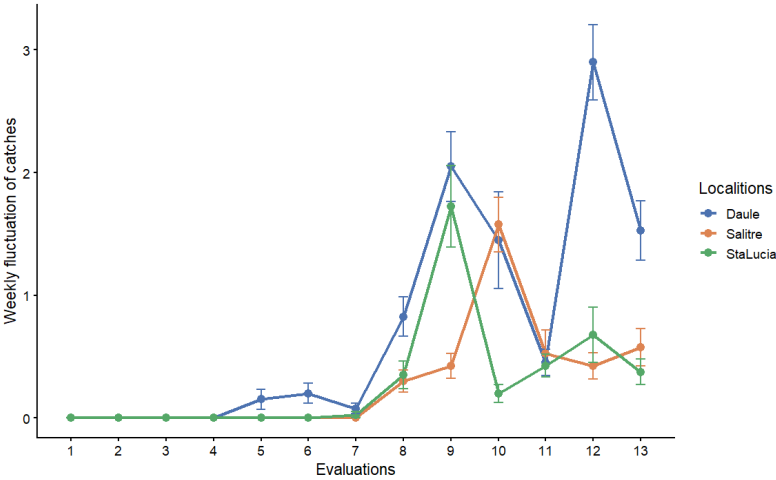
A partir de la semana 7 se evidenció un incremento progresivo en las capturas en las tres localidades, aunque con distinta magnitud, ya que Daule presentó las mayores fluctuaciones alcanzando un primer incremento importante en la semana 9, seguido de una disminución temporal y posteriormente un segundo pico poblacional más pronunciado en la semana 12.

Por su parte, Santa Lucía mostró un incremento abrupto y concentrado principalmente en la semana 9, donde se registró el mayor promedio de capturas para esta localidad, seguido de una reducción rápida en las semanas posteriores. En Salitre, las capturas aumentaron de manera más gradual, alcanzando su máxima abundancia alrededor de la semana 10 y manteniéndose posteriormente en niveles moderados hasta el final de las evaluaciones.

En términos comparativos, los mayores picos poblacionales fueron registrados en Daule, con promedios semanales cercanos a 30 chinches capturados, mientras que en Salitre y Santa Lucía los máximos promedios registrados fueron de 12 chinches

por semana en ambas localidades. Estos resultados evidencian diferencias espaciales marcadas en la dinámica poblacional del insecto entre localidades, siendo Daule el sitio con mayor abundancia y persistencia poblacional durante el ciclo del cultivo.

Figura 2. Fluctuación poblacional de *Oebalus* sp. en las localidades evaluadas.



4. DISCUSIÓN

La dinámica poblacional de los insectos fitófagos se encuentra fuertemente condicionada por factores climáticos, particularmente la temperatura y humedad relativa, variables que regulan procesos fisiológicos esenciales como el desarrollo, supervivencia, dispersión y reproducción. Sin embargo, la magnitud de esta relación puede variar entre sistemas de producción, debido a que factores asociados al manejo agronómico, especialmente la aplicación de insecticidas y su eficacia temporal, pueden modificar la intensidad de infestación y atenuar la señal ecológica generada por las condiciones climáticas (Cuzco et al., 2026).

En el presente estudio evidenció una marcada influencia de las condiciones climáticas sobre la abundancia del insecto. Los resultados mostraron que Daule presentó consistentemente las mayores abundancias poblacionales, coincidiendo con condiciones climáticas caracterizadas por una temperatura media de 27.1 °C, temperatura máxima de 31.7 °C y humedad relativa de 81.5%. En contraste, Santa Lucía registró las menores abundancias, pese a presentar una humedad relativa similar (81.6%), aunque con una temperatura media considerablemente menor (25.4 °C). Estos resultados sugieren que pequeñas variaciones térmicas pueden influir significativamente sobre la actividad, desarrollo y establecimiento poblacional de *Oebalus* en arroz.

La mayor abundancia registrada en Daule bajo condiciones de temperatura media coincide con estudios previos que señalan que especies del género *Oebalus* presentan mayor desarrollo, supervivencia y actividad alimenticia bajo temperaturas cálidas. Se ha documentado que los chinches del arroz sobreviven mejor y se desarrollan más rápido en temperaturas cálidas que en temperaturas frías (Rashid et al., 2005); además los períodos de alimentación aumentan con temperaturas de 25 °C (Bhavanam et al., 2021). En este estudio, la abundancia de *Oebalus* en Daule fue aproximadamente 16.9 veces mayor que en Santa Lucía bajo temperatura media, evidenciando que temperaturas promedio cercanas a 27 °C favorecieron considerablemente la presencia del insecto. Asimismo, Salitre presentó abundancias similares a Daule bajo esta variable, con una temperatura media de 27.8 °C, reforzando la importancia de la temperatura promedio como factor determinante en la dinámica poblacional de la plaga. Este patrón coincide con literatura previa de instituciones fitosanitarias que indican que las mayores poblaciones de la plaga se presentan cuando las temperaturas promedio oscilan entre 26 y 28 °C (Dirección General de Sanidad Vegetal, 2026). Otros estudios documentaron que en especies como *Oebalus pugnax* este se desarrolla bien temperaturas entre 24 °C y aumenta a los 30 °C (Naresh & Smith, 1983).

Salitre presentó la mayor temperatura máxima registrada (35.9 °C) y la abundancia observada fueron inferiores a las registradas en Daule. Este comportamiento podría indicar que temperaturas excesivamente elevadas generan condiciones menos favorables para la actividad del insecto durante ciertos periodos del día. Estudios realizados en pentatómidos fitófagos indican que temperaturas extremas pueden disminuir la movilidad, actividad alimenticia y permanencia sobre el cultivo, especialmente durante horas de mayor radiación solar. De manera similar, Rashid et al. (2006) señalaron que las mayores capturas mediante pases de red se registran durante periodos más frescos del día, mientras que las temperaturas elevadas reducen la actividad superficial del insecto. Esto podría explicar por qué Daule, pese a presentar una temperatura máxima inferior (31.7 °C), mantuvo poblaciones más altas y constantes durante el ciclo del cultivo. Bernhardt (2009) manifestó que la edad cronológica de los huevos no está correlacionada con la edad fisiológica del cultivo y estimó que temperaturas constantes cercanas a 37.8 °C representan límites térmicos letales para huevos, dado que la temperatura afecta la velocidad del desarrollo embrionario. Y los períodos de alimentación disminuyen a los 30 °C y 32 °C (Bowling, 1979). Estos límites de temperatura explicarían la disminución del número de ninfas/adultos capturados en el período de investigación evaluado.

La humedad relativa también mostró influencia sobre las abundancias poblacionales. Daule registró abundancias aproximadamente 3.9 veces mayores que Salitre y 2.6 veces mayores que Santa Lucía bajo condiciones promedio de humedad relativa. Aunque las diferencias de humedad entre localidades fueron relativamente pequeñas (81.5–84.0%), los resultados sugieren que la interacción entre humedad y temperatura probablemente favoreció condiciones microclimáticas más estables en Daule. Rashid et al. (2005) señalaron que los primeros estadios ninfales de chinches del arroz, tienden a agregarse en sitios altamente húmedos, aunque, no precisaron los porcentajes de humedad. Por otra parte, otros estudios en pentatómidos demostraron que la baja humedad entre 17 % a 56% disminuyen la supervivencia de las ninfas de primer estadio, pero no la de las ninfas de tercer a cuarto estadio, sin embargo, la alta humedad (79%) aumenta la supervivencia de las ninfas de primer estadio, pero disminuye la de las ninfas de tercer a cuarto estadio y esta no influye en la supervivencia de los adultos ni de los huevos (Fisher et al., 2021) .

En concordancia con estos antecedentes, las condiciones registradas en Daule probablemente proporcionaron un microambiente más favorable para la alimentación, movilidad y permanencia de *Oebalus* spp. sobre el cultivo. No obstante, debido a la reducida variación observada en la humedad relativa entre localidades, es probable que esta variable haya actuado de manera complementaria junto con la temperatura, más que como un factor independiente en la regulación poblacional del insecto.

La fluctuación semanal observada mostró además un patrón típico de colonización progresiva asociado al estado fenológico del arroz. Las poblaciones permanecieron bajas durante las primeras semanas y aumentaron significativamente a partir de la semana 7, alcanzando máximos poblacionales entre las semanas 9 y 12. Este comportamiento coincide con reportes previos que indican que *Oebalus* incrementa su presencia durante las etapas reproductivas y llenado de grano, debido a la disponibilidad de alimento y mayor susceptibilidad del cultivo (Tindall et al., 2005; Awuni et al., 2024). En Daule se registraron los mayores picos poblacionales, cercanos a 30 chinches por semana, mientras que Salitre y Santa Lucía alcanzaron aproximadamente 12 chinches semanales. Estas diferencias espaciales sugieren que las condiciones ambientales de Daule favorecieron una mayor persistencia y estabilidad poblacional de la plaga durante el ciclo fenológico del cultivo.

Adicionalmente, la literatura recomienda umbrales de tratamiento de 3 a 5 insectos por cada 10 barridos durante las primeras dos semanas de espigado y aproximadamente 10 insectos por cada 10 barridos después de este periodo crítico

(Linn et al., 2026; Mississippi State University, 2026). En este contexto, los resultados obtenidos en la presente investigación poseen importantes implicaciones para el manejo integrado de *Oebalus* spp. en Ecuador, debido a que en las tres localidades evaluadas se registraron abundancias superiores a los umbrales comúnmente recomendados, siendo Daule donde se registraron los mayores niveles poblacionales con promedios semanales cercanos a 30 insectos, mientras que en Salitre y Santa Lucía se alcanzaron promedios aproximados de 12 insectos por semana.

Los niveles poblacionales registrados en Daule, particularmente los picos observados entre las semanas 9 y 12, sugieren que las poblaciones de *Oebalus* spp. pudieron superar los umbrales de tratamiento, aun bajo aplicaciones de insecticidas, incrementando el riesgo de pérdidas durante las etapas de floración y llenado de grano.

Esta situación es relevante debido a que el daño de *Oebalus* spp. compromete tanto el llenado y peso del grano como su calidad industrial, favoreciendo la presencia de granos vanos, manchados y quebrados y, consecuentemente, reduciendo su valor comercial.

5. CONCLUSIONES

La temperatura media fue la variable climática con mayor influencia sobre la abundancia de *Oebalus* sp., registrándose las mayores capturas en Daule (27.1 °C) y Salitre (27.8 °C), mientras que Santa Lucía (25.4 °C) presentó abundancias significativamente menores, evidenciando que temperaturas medias cercanas a 27 °C favorecen el desarrollo poblacional del insecto.

La temperatura máxima entre 31.7 °C - 35.9 °C mostró un efecto limitante sobre las poblaciones de *Oebalus* sp., en Salitre y Daule. Mientras que, la humedad relativa contribuyó al establecimiento poblacional de *Oebalus* sp., observándose mayores abundancias en Daule bajo condiciones de 81.5% de humedad relativa, mientras que variaciones ligeramente superiores de humedad en Salitre (84.0%) no incrementaron las poblaciones, indicando que la humedad actúa en interacción con la temperatura y no como factor aislado.

La fluctuación poblacional de *Oebalus* sp. presentó un incremento progresivo a partir de la semana 7 del cultivo, alcanzando los mayores picos entre las semanas 9 y 12, coincidiendo con las etapas de floración y llenado de grano del arroz, consideradas fenológicamente más susceptibles al ataque de la plaga. Además, las poblaciones superaron los umbrales de tratamiento reportados para *Oebalus* sp., especialmente en Daule, donde se registraron promedios cercanos a 30 insectos por semana, evidenciando un alto riesgo potencial de daño económico sobre el rendimiento y calidad industrial del arroz.

REFERENCIAS

- Arredondo, E., Llanderal, A., Franco, J., & Lao, M. (2022). *Estudio de las condiciones agroclimáticas en la costa del Ecuador* (G. Ezquerro, Ed.; 1ra edición). Dirección de publicaciones de la UCSG. <https://editorial.ucsg.edu.ec/ciencias-tecnicas/220-estudio-de-las-condiciones-agroclimaticas-en-la-costa-del-ecuador.html>
- Awuni, G. A., Gore, J., Cook, D., Musser, F., Catchot, A., & Dobbins, C. (2015). Impact of *Oebalus pugnax* (Hemiptera: Pentatomidae) Infestation Timing on Rice Yields and Quality. *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 1739–1747. <https://doi.org/10.1093/JEE/TOV123>
- Awuni, G. A., Gore, J., Tomaso-Peterson, M., Allen, T. W., Cook, D. R., & Musser, F. R. (2024). Duration of rice stink bug, *Oebalus pugnax* (F.) infestation impacts the milk stage of panicle development. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2368254>
- Bale, J. S., Masters, G. J., Hodkinson, I. D., Awmack, C., Bezemer, T. M., Brown, V. K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J. C., Farrar, J., Good, J. E. G., Harrington, R., Hartley, S., Jones, T. H., Lindroth, R. L., Press, M. C., Symrnioudis, I., Watt, A. D., & Whittaker, J. B. (2002). Herbivory in global climate change research: Direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2486.2002.00451>
- Bernhardt, J. L. (2009). Color Changes and Development of Eggs of Rice Stink Bug (Hemiptera: Pentatomidae) in Response to Temperature. *Annals of the Entomological Society of America*, 102(4), 638–641. <https://doi.org/10.1603/008.102.0408>
- Bhavanam, S., Wilson, B., Blackman, B., & Stout, M. (2021). Biology and Management of the Rice Stink Bug (Hemiptera: Pentatomidae) in Rice, *Oryza sativa* (Poales: Poaceae). *Journal of Integrated Pest Management*, 12(1), 20–21. <https://doi.org/10.1093/JIPM/PMAB014>
- Bigirimana, J., Uzayisenga, B., & Gut, L. J. (2019). Population distribution and density of *Antestiopsis thunbergii* (Hemiptera: Pentatomidae) in the coffee growing regions of Rwanda in relation to climatic variables. *Crop Protection*, 122, 136–141. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2019.04.029>
- Boopath, T., Singh, S. B., Manju, T., Dutta, S. K., Singh, A. R., Chowdhury, S., Ramakrishna, Y., Dayal, V., & Lungmuana. (2017). Temporal modeling for forecasting of the incidence of litchi stink bug using ARIMAX analysis. *Indian Journal of Horticulture*, 74(4), 604–607. <https://doi.org/10.5958/0974-0112.2017.00116.5>
- Bowling, C. C. (1979). The Stylet Sheath as an Indicator of Feeding Activity of the Rice Stink Bug. *Journal of Economic Entomology*, 72(2), 259–260. <https://doi.org/10.1093/JEE/72.2.259>
- Cammell, M. E., & Knight, J. D. (1992). Effects of Climatic Change on the Population Dynamics of Crop Pests. *Advances in Ecological Research*, 22(C), 117–162. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60135-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60135-X)
- Chown, S. L., Sørensen, J. G., & Terblanche, J. S. (2011). Water loss in insects: An environmental change perspective. *Journal of Insect Physiology*, 57(8), 1070–1084. <https://doi.org/10.1016/J.JINSPHYS.2011.05.004>
- Cuzco, M. E., Vera, A. M., Vivas, M. L., Franco, J. E., & Lao, M. T. (2026). The greenhouse as an integrated management strategy for *Prodiplosis longifila* Gagné, 1986: effects on infestation and pesticide use. *BMC Plant Biology*, 26(1), 587-. <https://doi.org/10.1186/S12870-026-08368-2>
- Cuzco, M., Vera, A., Quiñonez, J., Mera, L., & Lao, M. (2025). Influence of a Greenhouse Adapted to the Ecuadorian Coastal Climate on Pest Dynamics in Tomato Crops. *Horticulturae* 2025, 11(11), 1279. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE11111279>

Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Tigchelaar, M., Battisti, D. S., Merrill, S. C., Huey, R. B., & Naylor, R. L. (2018). Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. *Science*, 361(6405), 916–919. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAT3466>

Dirección General de Sanidad Vegetal. (2026). *Oebalus insularis Stal, 1872 (Hemiptera: Pentatomidae)*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/604321/Chinche_caf_del_arroz.pdf

Elitech. (2025). *Elitech GSP-6G Temperature and Humidity Data Logger, Dual External Sensors — ElitechEU*. <https://www.elitecheu.com/products/elitech-gsp-6g-temperature-and-humidity-data-logger-with-glycol-bottle-temperature-sensor-dual-external-sensors?srsId=AfmBOoYy0--zmeLLqEgExrINf4Udeb5d0tKbQMguHYJ5M7U9fS7LkLL>

Farah, S., Bajaña, M., Andrade, P., Macías, O., Calle, K., & Sánchez, L. (2025). Evaluación de la incidencia de insectos plaga en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en el cantón Nobol en la provincia del Guayas, Ecuador. *Revista Tecnológica ESPOL - RTE*, 37(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.37815/rte.v37n1.1305>

Fisher, J. J., Rijal, J. P., & Zalom, F. G. (2021). Temperature and Humidity Interact to Influence Brown Marmorated Stink Bug (Hemiptera: Pentatomidae), Survival. *Environmental Entomology*, 50(2), 390–398. <https://doi.org/10.1093/EE/NVAA146>

Hajjar, M. J., Ahmed, N., Alhudaib, K. A., & Ullah, H. (2023). Integrated Insect Pest Management Techniques for Rice. *Sustainability*, 15(5), 4499. <https://doi.org/10.3390/SU15054499>

Linn, J. B., Cato, A. J., Bateman, N. R., Lorenz, G. M., Hardke, J. T., Black, J. L., Thrash, B. C., Johnson, D. L., Gore, J., Studebaker, G., Floyd, C. A., Maris, P. G., Fletcher, A., & Graves, A. C. (2026). Relating rice stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) sampling to direct and indirect yield loss in rice. *Journal of Economic Entomology*. <https://doi.org/10.1093/JEE/TOAG094>

Llerena-Ramos, L. T., Rodríguez-Rodríguez, S., Reyes-Pérez, J. J., Jiménez-Pizarro, M., López-Álvarez, S., Rueda-Puente, E. O., Llerena-Ramos, L. T., Rodríguez-Rodríguez, S., Reyes-Pérez, J. J., Jiménez-Pizarro, M., López-Álvarez, S., & Rueda-Puente, E. O. (2025). Silicato de potasio para controlar *Oebalus insularis* Stål en arroz en Quevedo, Ecuador. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 16(3). <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V16I3.3653>

Madden, L. V., & Ojiambo, P. S. (2024). The value of generalized linear mixed models for data analysis in the plant sciences. *Frontiers in Horticulture*, 3, 1423462. <https://doi.org/10.3389/FHORT.2024.1423462/BIBTEX>

Michel, L., Brun, F., & Makowski, D. (2017). A framework based on generalised linear mixed models for analysing pest and disease surveys. *Crop Protection*, 94, 1–12. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2016.12.013>

Mississippi State University. (2026). *Rice Stink Bugs in Mississippi Rice*. Mississippi Crop Situation. <http://www.mississippicrops.com/2014/07/24/rice-stink-bugs-in-mississippi-rice/>

Naresh, J. S., & Smith, C. M. (1983). Development and Survival of Rice Stink Bugs (Hemiptera: Pentatomidae) Reared on Different Host Plants at Four Temperatures. *Environmental Entomology*, 12(5), 1496–1499. <https://doi.org/10.1093/EE/12.5.1496>

Perkins, S. E., Alexander, L. V., Perkins, S. E., & Alexander, L. V. (2013). On the Measurement of Heat Waves. *Journal of Climate*, 26(13), 4500–4517. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-12-00383.1>

Rashid, T., Johnson, D. T., & Bernhardt, J. L. (2005). Feeding preference, fecundity and egg hatch of rice stink on artificial diet, rice an alternate host grasses. *Southwestern Entomologist*, 30(4), 257–262.

Rashid, T., Johnson, D. T., & Bernhardt, J. L. (2006). Sampling Rice Stink Bug (Hemiptera: Pentatomidae) in and Around Rice Fields. *Environmental Entomology*, 35(1), 102–111. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.1.102>

Sistema de Información Pública Agropecuaria del Ecuador. (2026). *Información Productiva Territorial*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cifras-agroproductivas>

Sutherland, J. P., & Baharally, V. (2003). The influence of weather on the population dynamics of the rice stink bug and the implications for integrated pest management. *International Journal of Pest Management*, 49(4), 335–342. <https://doi.org/10.1080/09670870310001608653>

Tindall, K. V., Williams, B. J., Stout, M. J., Geaghan, J. P., Leonard, B. R., & Webster, E. P. (2005). Yield components and quality of rice in response to graminaceous weed density and rice stink bug populations. *Crop Protection*, 24(11), 991–998. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2005.01.023>

Walters, A. C., & Mackay, D. A. (2003). An experimental study of the relative humidity preference and survival of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera, Formicidae): Comparisons with a native *Iridomyrmex* species in South Australia. *Insectes Sociaux*, 50(4), 355–360. <https://doi.org/10.1007/S00040-003-0685-1/METRICS>

Wilson, B. E., & Stout, M. J. (2020). Reexamination of the Influence of *Oebalus pugnax* (Hemiptera: Pentatomidae) Infestations on Rice Yield and Quality. *Journal of Economic Entomology*, 113(3), 1248–1253. <https://doi.org/10.1093/JEE/TOAA063>

Zidon, R., Tsueda, H., Morin, E., & Morin, S. (2016). Projecting pest population dynamics under global warming: the combined effect of inter-and intra-annual variations. *Ecological Applications*, 26(4), 1198–1210. <https://doi.org/10.1890/15-1045;CTYPE:STRING:JOURNAL>

CAPÍTULO 9

ABSORCIÓN Y RETENCIÓN DE FÓSFORO EN CORDEROS SUPLEMENTADOS CON FÓSFORO Y COLECALCIFEROL

Data de submissão: 17/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Ignacio Mejía Haro¹

Instituto Tecnológico El Llano
Aguascalientes

Tecnológico Nacional de México
División de Estudios de Posgrado
El Llano, Ags. Mexico

<https://orcid.org/0000-0002-5425-0270>

Dennis R. Brink

University of Nebraska-Lincoln
Animal Science Department
East Campus, Lincoln, NE, USA

Iván Mejía Devora

Universidad Autónoma de Aguascalientes
Aguascalientes, Ags., México

RESUMEN: Se evaluaron los efectos de la suplementación con fósforo (P) y colecalciferol (CC) sobre la absorción y la retención de P en corderos. Se asignaron cuarenta y dos corderos aleatoriamente a seis tratamientos, consistentes en una dieta base suplementada con P y CC: 0 g P y CC (Base), 0 g P + CC (Base+), 1 g P y sin CC (P1), 1 g P + CC (P1+), 2 g P y sin CC (P2) y 2 g P + CC (P2+). Se colectaron heces y orina durante

¹ Corresponding author.

10 días al final del periodo experimental, y se obtuvo el suero sanguíneo. Se extrajeron costillas tras el sacrificio de los corderos en los tratamientos Base+ y P2+. Las muestras se procesaron para la determinación de P, Ca y Mg. Se calculó la retención corporal de fósforo y de calcio. La retención de fósforo en el organismo fue mayor ($p = 0.01$) en los corderos suplementados con P y en los del grupo Base+ que en los del grupo Base. No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en las concentraciones de P, Ca o Mg en el hueso. La suplementación con 1 o 2 g de P/día aumenta la absorción y la retención de P, mientras que la suplementación con CC solo aumenta la absorción y la retención de P en los corderos no suplementados con P.

PALABRAS CLAVE: absorción; minerales; vitamina D.

PHOSPHORUS ABSORPTION AND
RETENTION IN LAMBS SUPPLEMENTED
WITH PHOSPHORUS AND
CHOLECALCIFEROL

ABSTRACT: The effects of phosphorus (P) and cholecalciferol (CC) supplementation on P absorption and retention in lambs were evaluated. Forty-two lambs were randomly assigned to six treatments, consisting of a basal diet supplemented with P and CC: 0 g P and CC (Base), 0 g P + CC (Base+), 1 g P and no CC (P1), 1 g P + CC (P1+), 2 g P and no CC (P2), and 2 g P + CC (P2+). Feces

and urine were collected for 10 days at the end of the experimental period, and blood serum was obtained. Ribs were extracted after slaughter of lambs in the Base+ and P2+ treatments. The samples were processed for P, Ca, and Mg determination. Body retention of phosphorus and calcium was calculated. Phosphorus retention in the body was higher ($p = 0.01$) in lambs supplemented with P and in the Base+ group than in the Base group. No differences ($p > 0.05$) were found in bone concentrations of P, Ca, or Mg. Supplementation with 1 or 2 g of P/day increases P absorption and retention, while CC supplementation only increases P absorption and retention in lambs not supplemented with P.

KEYWORDS: absorption; minerals; vitamin D.

1. INTRODUCCIÓN

Se ha informado de deficiencia de fósforo en rumiantes en todo el mundo (Mejia et al., 1999; Future Beef, 2019), principalmente en rumiantes que pastan en praderas de baja calidad. La absorción y retención de P y Ca aumentan con la suplementación de P (Abramowicz, 2026; Diaz et al., 2013; Ternouth y Coates, 1997) y vitamina D (Zhou et al. 2024; Montgomery et al., 2004). Sin embargo, la mayoría de los estudios se realizaron en periodos cortos y con vacas y ovejas periparturientas. Además, la evaluación de la retención de Ca, en lugar de la de P, fue el objetivo principal de esos estudios. Es necesario realizar estudios de suplementación con P y colecalciferol (CC) en animales en mantenimiento o en producción, que pastoreen o se alimenten de pastos de baja calidad, y observar los efectos sobre la absorción y retención de P. Durante varias décadas, el análisis de P en sangre fue el método más común para predecir el estado de P en los animales. Sin embargo, en algunos casos, la falta de correlación entre el contenido de P en sangre y la ingesta de P ha disminuido la confiabilidad del contenido de P en sangre como indicador de la ingesta de P (Erickson et al., 2002). Partiendo de la hipótesis de que la suplementación con fósforo, en lugar de colecalciferol, produce una mayor absorción y retención de fósforo en el organismo de los corderos, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la suplementación con colecalciferol y con fosforo sobre la absorción y retención de este elemento en el organismo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la Universidad de Nebraska-Lincoln. Un grupo de 42 corderos castrados de 8 meses de edad ($X = 41$ kg) de raza híbrida (Suffolk, Dorset y Polipay) recibió una dieta restringida en fósforo (0.11 % P; 0.34 % Ca; 9.7 % PC) durante 48 días. Tras este periodo de restricción, los animales se alojaron en corraletas individuales durante 16 días para su adaptación a las instalaciones y se les administró una dieta

base (Cuadro 1). Posteriormente, se colocaron en jaulas metabólicas individuales y se les proporcionó la misma dieta y la misma cantidad de alimento durante 15 días a fin de estandarizar el consumo diario de alimento y la producción de heces.

Cuadro1. Dieta diaria ofrecida durante el periodo experimental (Dieta Base) y composición química de los ingredientes^{1,2}.

Ingrediente	Cantidad	PC ³	P	Ca
	g/d	%	%	%
Paja de trigo ⁴	984	6.56	0.21	0.41
Maíz molido	89	11	0.33	0.03
Harina de sangre	24	90	0.04	0.03
Harina de soya	16	48.7	0.70	0.29
Minerales traza				
Premix ⁵	0.2	-	-	-
Urea	5	281	-	-

¹ De análisis de laboratorio realizados en el Departamento de Ciencia Animal de la UNL.

² Expresado en base seca.

³ Porcentaje de N x 6.25.

⁴ Melaza fue incluida en 13% de MS.

⁵ Contenía 10% Mg, 6% Zn, 2% Mn, 4% Fe, 0.5% Cu, 0.3% I, y 0.05% Co.

En el periodo preexperimental, los corderos se asignaron mediante un diseño completamente aleatorio, a una de seis dietas-tratamiento: Base (dieta base), Base+ (Base suplementada con 2500 UI de CC/día), P1 (Base suplementada con 1 g de P en forma de fosfato monosódico), P1+ (P1 suplementada con CC), P2 (Base suplementada con 2 g de P) y P2+ (P2 suplementada con CC). Cada cordero se consideró una unidad experimental y cada tratamiento incluyó siete corderos.

A los corderos se les colocaron bolsas colectoras de heces, y se realizó una colección diaria total de heces y orina durante 10 días después de alimentar a los corderos con las dietas-tratamiento durante un período de 56 días. Se colectaron muestras de alimento 2 días antes y durante la colección de heces. Las muestras de alimento y heces se secaron en un horno de aire forzado a 60 °C durante 3 a 4 días y se molieron (tamiz de 1 mm) con un molino Wiley. Aproximadamente 1 g de muestra se utilizó para determinar el contenido total de MS (100 °C, durante la noche), cenizas (550 °C, 8 h), Ca, P y Mg. Se colectaron muestras de sangre al inicio y al final del período experimental. Se extrajeron aproximadamente 15 ml de sangre de la vena yugular izquierda en tubos de vacío para la recolección de suero. Las muestras se tomaron 3 h después de la alimentación en todos los momentos para evitar variaciones en el tiempo. En el laboratorio, las muestras de sangre se centrifugaron a 3700 x g durante 10 min y se obtuvo el suero. Se tomaron

muestras de hueso de los corderos de los tratamientos Base+ y P2+ tras el sacrificio al final del experimento. Se extrajo la duodécima costilla izquierda de cada cordero y se retiró el periostio óseo. Posteriormente, las muestras de hueso se pesaron en base fresca y se determinó su densidad. La materia seca se determinó a 100 °C durante 48 h y las cenizas a 500 °C durante 8 h.

El contenido de fósforo se determinó en soluciones de cenizas de alimento, heces y hueso, así como en muestras de orina y de suero sanguíneo desproteínizado con una solución de ácido tricloroacético al 5 % (AOAC, 2012).

El contenido de calcio y magnesio se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica en alimento, heces, orina, suero sanguíneo y hueso (AOAC, 2012). La fosfatasa alcalina sérica y la creatinina urinaria se determinaron mediante un espectrofotómetro Beckman DV-650, siguiendo las instrucciones de SIGMA Diagnostics. Se calcularon la digestibilidad *in vivo* de la materia seca, la absorción aparente y la retención real de P, Ca y Mg.

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza con el procedimiento del Modelo Lineal General de SAS (2013). Se compararon las medias mediante la prueba de Tukey y se realizaron análisis de correlación entre las variables.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cantidad de P excretada en las heces fue mayor ($p < 0.05$) en los grupos P2+ y P2, en los que los corderos recibieron un suplemento de 2 g de P/día, con y sin suplementación de CC (Cuadro 2) que en los grupos P1+, P1, Base+ y Base, en los que no se observaron diferencias. La absorción aparente de P fue mayor ($p = 0.001$) en los corderos de los tratamientos P1, P1+, P2 y P2+ que en los del grupo Base (Cuadro 2). Esto concuerda con los hallazgos de Ternouth y Coates (1997), quienes observaron que la cantidad de P absorbida aumentaba en proporción directa a la ingesta de P. Sin embargo, en nuestro estudio, no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en la cantidad de P aparentemente absorbida por los corderos en Base+, P1, P1+ y P2 cuando se expresó en $\text{mg} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ PV. Pero, expresada como porcentaje de la ingesta de P, la absorción aparente de P en los corderos de Base fue menor ($p < 0.05$) que en el resto de los tratamientos. La suplementación con CC no tuvo efectos sobre la absorción aparente de P en los corderos suplementados con P, pero aumentó la absorción aparente de P en los corderos no suplementados (Base+). La cantidad reducida de P aparente absorbida en Base se debió, en parte, a la menor ingesta de P y a la menor disponibilidad de fuentes de P orgánicas que de inorgánicas, especialmente en pajas de cereales (Challa y Braithwaite, 1988a).

Posiblemente, los corderos no suplementados con P respondieron a la suplementación con CC, lo que mejoró la absorción de P ya que su capacidad intestinal para absorberlo no estaba saturada (Braithwaite, 1979). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en la digestibilidad *in vivo* de la materia seca entre los tratamientos (Cuadro 2). Estos hallazgos concuerdan con los de Milton y Ternouth (1985), quienes afirmaron que la digestibilidad de la materia seca de la dieta se mantuvo sin cambios cuando los animales recibieron diferentes cantidades de fósforo (P).

La cantidad de P excretada en la orina fue mayor ($p = 0,01$) en los corderos de los tratamientos suplementados con 1 y 2 g de P (P1, P1+, P2 y P2+), independientemente de la suplementación con CC, que en los corderos no suplementados con P (Base y Base+). Los corderos no suplementados con P excretaron cantidades insignificantes de P (Cuadro 2). La cantidad de P excretada en la orina fue insignificante en rumiantes alimentados con dietas típicas (Lovendhal y Sehested, 2016; Ternouth et al., 1996; Vitti et al., 2000; Rodehutsord et al., 2000). La cantidad diaria de fósforo urinario no es un buen indicador de la ingesta de fósforo cuando los animales consumen cantidades excesivas (Lovendhal y Sehested, 2016). La predicción de la producción diaria de orina y la cantidad de fósforo excretado en la orina mediante análisis de creatinina urinaria y la relación creatinina:fósforo presentaron una gran variabilidad (Cuadro 2).

Cuadro 2. Valores medios para las variables del metabolismo del fósforo en corderos¹.

Variable	Base	Base	P1	P1 ⁺	P2	P2 ⁺	EE
P consumido, g/d	2.1 ^a	2.2 ^a	3.1 ^b	3.2 ^b	4.1 ^c	4.1 ^c	0.1
P fecal, mg.d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	61 ^b	49 ^b	58 ^b	61 ^b	82 ^a	84 ^a	5
Absorción de P ² , mg.d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	-0.6 ^c	13 ^{bc}	25 ^{ab}	28 ^{ab}	27 ^{ab}	31 ^a	4
Absorción de P ² %	-0.71 ^b	20.7 ^a	29.5 ^a	31.4 ^a	25.2 ^a	26.9 ^a	5.2
P Urinario, mg. d ⁻¹ . kg ⁻¹ . PV	0.8 ^b	1.5 ^b	9.9 ^a	9.9 ^a	12.9 ^a	10.2 ^a	2.6
TPE, mg.d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	61 ^{bc}	51 ^c	68 ^b	72 ^b	95 ^a	99 ^a	4
P retenido, mg. d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	-1.3 ^b	11.6 ^a	18.7 ^a	17.8 ^a	14.4 ^a	20.5 ^a	3.9
P retenido, %	-2 ^b	18 ^a	21 ^a	20 ^a	13 ^a	18 ^a	4
P en suero sanguíneo, mg/L	78	78	95	89	101	82	6
Fosfatasa alcalina en suero, U/L	267	254	212	254	200	202	24
DMS <i>In vivo</i> , %	57	59	60	57	57	60	1.5
Proporción de P urinario ³	1.05	0.81	1.02	0.84	1.29	0.68	

^{a,b,c} diferentes literales entre hileras muestran diferencias significativas ($p < 0.05$)

¹ Los valores son medias de siete corderos por tratamiento

² Absorción aparente

³ Predecidos/valores reales (usando creatinina en orina:proporción de P)

* Tratamientos: Base⁺ (Dieta control más suplementación de Colecalciferol {CC} equivalente a 2500 UI de Vitamina D); P2⁺ (Dieta control más 2 g P/d más CC)

TPE = Total de P excretado.

Los corderos del grupo Base presentaron un balance negativo y la retención de fósforo fue menor ($p < 0.05$) que la de los corderos que recibieron los demás tratamientos (Cuadro 2). La suplementación con CC no tuvo efecto sobre la retención de fósforo en los corderos suplementados con fósforo, pero aumentó la cantidad de fósforo retenido en los corderos del grupo Base+ en comparación con los corderos alimentados únicamente con la dieta base (Base). El aumento de la retención de P en corderos de Base+ podría deberse a la estimulación de la enzima renal 1α -hidroxilasa producida por la baja absorción de P en el intestino (Horst, 1986). La falta de respuesta a CC para la retención de P en corderos suplementados con P podría deberse a que los efectos de la suplementación de P y CC no fueron aditivos (Braithwaite, 1980). Las cantidades de P retenidas no fueron diferentes ($p > 0.05$) entre corderos suplementados con 1 o 2 g de P/d, y los corderos suplementados solo con CC pudieron almacenar cantidades similares de P a las retenidas por los corderos suplementados con 2 g de P/d. Challa y Braithwaite (1988b) encontraron un límite en la cantidad de P retenida cuando la concentración de P en sangre aumenta a cierto nivel (> 50 mg/L) ya que se supera el umbral renal para P y la excreción de P en la orina aumenta sustancialmente (Lovendahl y Sehested, 2016). Sin embargo, se observaron grandes diferencias entre los corderos individuales en la forma en que distribuyen las cantidades de P eliminadas a través de la orina y la saliva, especialmente cuando las concentraciones de P en las dietas difieren (Lovendahl y Sehested, 2016; Grace, 1981).

La retención de calcio fue negativa en todos los tratamientos. No obstante, la cantidad de Ca retenida fue menor ($P = 0.009$) en los corderos del tratamiento base que en los del resto de los tratamientos (Cuadro 3). La retención negativa de Ca se redujo sustancialmente en los corderos de los tratamientos suplementados con 1 y 2 g de P/día y en el tratamiento no suplementado con P pero suplementado con CC (Base+). La ingesta promedio de Ca fue de $93 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal, inferior a la sugerida ($250 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal) por Hodge (1973) como adecuada para corderos jóvenes, y a los requerimientos considerados por el NRC (1985, 2007) de 165 y $125 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal, respectivamente, para corderos de 40 kg. Los resultados del presente estudio concuerdan con los de Challa y Braithwaite (1988a), quienes reportaron que la retención de Ca en terneros aumentó con dietas altas en P, incluso cuando la ingesta de Ca era adecuada. La retención de Mg en corderos del grupo base presentó un balance negativo menor ($p > 0.05$) que en los corderos de los tratamientos suplementados con P. El suplemento de P redujo el balance negativo de Ca y también aumentó la retención corporal de Mg (Cuadro 3). No se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en la concentración de P en suero sanguíneo entre los tratamientos, a pesar de

las diferencias en la ingesta de P (Cuadro 2), las muestras estuvieron por encima de 45 mg/L, que es una concentración considerada normal (McDowell, 1997). La concentración de P en sangre se mantuvo mediante la alimentación o la resorción ósea. McMeniman y Little (1974) también reportaron que no hubo diferencias en las concentraciones de P en sangre entre corderos suplementados con P, con P + melaza o no suplementados. Sin embargo, el grado de mineralización ósea fue mayor en los grupos suplementados que en el grupo control. Erickson et al. (2002) reportaron que los datos de P plasmático fueron bastante variables en respuesta a los tratamientos dietéticos de P en terneros de engorde alimentados con dietas que contenían 0,16, 0,22, 0,28, 0,34 y 0,40% de P. Por el contrario, Challa et al. (1989) reportaron una alta correlación positiva entre la concentración de P sérico y la cantidad de P absorbido en terneros jóvenes. En este último estudio, un factor importante a considerar es la edad de los animales, ya que los rumiantes muy jóvenes pueden depender más del fósforo (P) contenido en la dieta, que, de sus reservas corporales, en comparación con los rumiantes adultos (Wilkens y Muscher-Banse, 2020; Braithwaite, 1980). El contenido de P en sangre se ve afectado por diversos factores, y las tres principales hormonas que regulan el metabolismo del calcio (hormona paratiroidea, $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D_3 y calcitonina) desempeñan un papel importante y complejo en la regulación de la concentración de calcio y fósforo en sangre (Veira-Neto et al.,2024; Lobaugh, 1995; Goltzman, 2005).

Si bien se observó una tendencia a la reducción de la concentración de fosfatasa alcalina sérica en corderos de los grupos P2 y P2+, los valores no fueron significativamente diferentes ($p > 0.05$) entre los tratamientos (Cuadro 2). Cole (1992) tampoco encontró diferencias en la fosfatasa alcalina sérica ni en el fósforo y el magnesio inorgánicos al utilizar dietas bajas y altas en fósforo en corderos con baja concentración proteica en la dieta. La concentración de Ca y Mg en sangre (Cuadro 3) no fue diferente ($p > 0.05$) entre los tratamientos; se observó que el nivel de Ca en sangre se mantiene por la acción de las hormonas reguladoras, la alimentación y la resorción ósea.

Cuadro 3. Valores medios para las variables del metabolismo de calcio y magnesio en corderos¹

Variable	Base	Base ⁺	P1	P1 ⁺	P2	P2 ⁺	EE
Ca consumido, mg. d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	93	98	92	96	86	93	4
Ca urinario, mg/d	14 ^{ab}	9 ^b	8 ^b	10 ^b	9 ^b	17 ^a	2
Ca retenido, mg. d ⁻¹ . kg ⁻¹ PV	-39 ^b	-8 ^a	-8 ^a	-12 ^a	-16 ^a	-8 ^a	5
Ca retenido, %	-42 ^b	-7 ^a	-9 ^a	-12 ^a	-20 ^a	-9 ^a	5.5
Ca en suero s., mg/ L	104	104	98	99	91	104	4
Mg en orina, mg. d ⁻¹ .kg ⁻¹ PV	3.8 ^a	4.3 ^a	0.9 ^b	1.7 ^b	1.7 ^b	0.9 ^b	5

Variable	Base	Base ^a	P1	P1 ^a	P2	P2 ^a	EE
Mg retenido, %	-15 ^c	-4 ^{bc}	21 ^a	11 ^{ab}	-0.5 ^{ab}	12 ^{ab}	-
Mg en suero s., ppm	22	22	21	22	21	23	0.8

^{a,b,c} diferentes literales entre hileras muestran diferencias significativas ($p < 0.05$)

¹ Los valores son medias de siete corderos por tratamiento.

^a Tratamientos: Base^a (Dieta testigo más suplementación de Colecalciferol {CC} equivalente a 2500 UI de Vitamina D); P2^a (Dieta testigo más 2 g P/d más CC).

No se observaron diferencias ($p > 0.05$) en el contenido de P, Ca y Mg en el contenido óseo entre los tratamientos Base+ y P2+ cuando los resultados se expresaron en base a la materia fresca y seca o en mg/mL (Cuadro 4). Aparte de la falta de diferencias entre tratamientos, el nivel de mineralización ósea de los corderos en este estudio no pareció adecuado ya que se encontraron valores de 127 y 121 mg de P/mL de hueso fresco en los corderos de los tratamientos Base+ y P2+, respectivamente. Estas cantidades están por debajo de 140 mg/mL, que fue sugerido como indicio de mineralización ósea satisfactoria en corderos por McMeniman y Little (1974). Es posible que se haya producido una mineralización ósea deficiente en los corderos de todos los tratamientos, ya que los valores medios del balance de Ca fueron negativos en todos ellos (Cuadro 3), al igual que el del P en los corderos con la dieta base. El balance negativo de Ca podría deberse, en parte, a una ingesta de Ca inferior a los requerimientos tanto en el período preexperimental como en el experimental, y a una posible deficiencia en la ingesta de proteína, lo que podría haber restringido el suministro de proteínas necesarias para la matriz ósea y la síntesis de colágeno requerida en el proceso de mineralización ósea (Garner et al., 1996; Orwoll et al., 1992).

Los resultados de este estudio indican que los cambios en la ingesta de P en periodos cortos (menos de 3 meses) pueden no reflejarse en cambios significativos en las concentraciones de P, Ca y Mg en las muestras óseas. Este hallazgo concuerda con Genuth (1993), quien afirmó que, en el proceso de remodelación ósea, la fase de formación dura aproximadamente 3 meses. Erickson et al. (1999) tampoco encontraron diferencias en el contenido de ceniza ósea de novillos alimentados con dietas con concentraciones de P de 0.14 a 0.34% durante un período de 105 días.

Cuadro 4. Contenido mineral y gravedad específica de muestras de hueso de costilla de corderos después del sacrificio.

Variable ¹	*Base ^a	P2 ^a	EE
Contenido de cenizas en hueso, %	46.7	46.6	1.2
Gravedad específica	1.309	1.259	0.022
P en hueso, %, FB ²	9.7	9.6	0.4

Variable ¹	*Base*	P2*	EE
P en hueso, %, DM ³	13.6	13.2	0.7
P en cenizas de hueso, %	29.0	28.4	1.2
P en hueso, mg/cc	127	121	6
Ca en hueso, %, FB	11.2	11.5	0.3
Ca en hueso, %, DM	15.6	15.9	0.5
Ca en cenizas de hueso, %	33.4	34.1	0.5
Ca en hueso, mg/cc	146	145	5
Proporción Ca:P	1.16	1.21	0.04
Mg en hueso, %, FB	0.339	0.342	0.01
Mg en hueso, mg/cc	4.44	4.32	0.16

¹ Sin diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$)

¹ Los valores son medias de siete corderos por tratamiento

² Base Húmeda

³ Base Seca

Tratamientos: Base (Dieta control más suplementación de Colecalciferol {CC} equivalente a 2500 UI de Vitamina D); P2* (Dieta control más 2 g P/d más CC).

La cantidad de P fecal se correlacionó de manera alta ($R = 0.70$, $P = 0.001$) con la ingesta de P (Cuadro 5) y no se observaron correlaciones entre la creatinina urinaria y el P urinario. La falta de correlación, en parte, se debió a la gran variabilidad del P urinario entre los animales, especialmente en los suplementados con P. Esta técnica podría ser útil en animales alimentados con dietas bajas en P, ya que la excreción de P es menor y el coeficiente de variación es más bajo. En nuestro estudio, la retención de fósforo se correlacionó positivamente (Cuadro 5) con la ingesta de P, pero no con el contenido de P en el suero sanguíneo ($p > 0.05$). Challa et al. (1989) encontraron una correlación positiva entre la cantidad de P almacenado, el P sanguíneo y la ingesta de P en terneros en crecimiento alimentados con dietas que suministraban entre 10 y 100 mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV.

Cuadro 5. Correlación del fósforo en las diferentes variables.

	F P ^b	U P ^c	F P C ^d	B P ^e	T P E ^f	AP A ^g	P R ^h
P consumido ^a	0.70 **	0.46 **	0.69 **	0.29 NS	0.87 **	0.59 **	0.44 **
P fecal		-0.07 NS	0.77 **	0.26 NS	0.87 **	0.06 NS	-0.14 NS
P urinario			0.14 NS	0.26 NS	0.87 **	0.68 **	0.36 *
F P C				0.14 NS	0.82 **	0.03 NS	-0.08 NS

	F P ^b	U P ^c	F P C ^d	B P ^e	T P E ^f	A P A ^g	P R ^h
B P					0.32 *	0.11 ^{NS}	0.08 ^{NS}
T P E						0.21 ^{NS}	0.03 ^{NS}
A P A							0.84**

^a mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

^b P Fecal, mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

^c P Urinario, mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

^d Concentración de P fecal, %

^e P en suero sanguíneo

^f TPE = Total de P excretado
mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

^g Absorción Aparente de P, mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

^h Retención de P, mg.d⁻¹.kg⁻¹ PV

4. CONCLUSIONES

La suplementación de fósforo incrementa la absorción y retención de este elemento en corderos en mantenimiento alimentados con dietas bajas en fósforo, y la cantidad de este mineral suplementado debe limitarse a las necesidades del animal. La suplementación con colecalciferol en corderos no suplementados con fósforo incrementa la absorción y retención de este elemento, pero no tiene ningún efecto adicional en corderos suplementados con fósforo.

5. RECONOCIMIENTOS

A la University of Nebraska-Lincoln, a la Secretaría de Educación Pública y al CONACYT de México por todo el apoyo brindado.

REFERENCIAS

Abramowicz, B., Tomaszewska, E., Kurek, L., Brzezińska, O., Kłos, K., Urosevic, M., Kurek, L. 2026. **Phosphorus Metabolism and Function in Ruminants: Current Knowledge.** Animals-16-00130. <https://doi.org/10.3390/ani16010130>

AOAC International. (2012). **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL** (19th ed.). AOAC International. <https://www.worldcat.org/es/title/Official-methods-of-analysis-of-AOAC-International/oclc/817542290>

Braithwaite, G.D. 1979. **The effect of dietary intake of calcium and phosphorus on their absorption and retention by mature Ca-replete sheep.** J. Agric. Sci. (Camb.) 92: 337-342.

Braithwaite, G. D. 1980. **The effect of dose rate of 1α hydroxycholecalciferol on calcium and phosphorus in sheep.** Br. J. Nutr. 44: 83-190.

Challa, J., Braithwaite, G.D. 1988a. **Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 1. Studies of the effect of changes in the dietary phosphorus intake on phosphorus and calcium metabolism.** J. Agric. Sci. (Camb.) 110: 573-581.

Challa, J., Braithwaite, G.D. 1988b. **Phosphorus and calcium metabolism in growing calves with special emphasis on phosphorus homeostasis. 3. Studies of the effect of continuous intravenous infusion of different levels of phosphorus in ruminating calves receiving adequate dietary phosphorus.** J. Agric. Sci. (Camb.) 110: 591- 595.

Challa, J., G. D. Braithwaite, Dhanoa, M.S. 1989. **Phosphorus homeostasis in growing calves.** J. Agric. Sci. (Camb.), 112: 217-226.

Cole, N.A. 1992. Influence of postfast dietary crude protein and phosphorus content on nitrogen, phosphorus, calcium, and magnesium repletion in sheep. J. Anim. Sci 70: 2893-2900.

Diaz, R.S., Lopez, S., Patiño, R.M., Silva, J.S., Vitti, D.M., Pecanaa, M.R., Kebrab, E., France, J. 2013. **Calcium and phosphorus utilization in growing sheep supplemented with dicalcium phosphate.** *The Journal of Agricultural Science* , Volume 151 , Issue 3 , June 2013 , pp. 424 - 433 DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859612000585>

Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., Milton, C.T., Hanson, D., Calkins, C. 1999. **Effect of dietary phosphorus on finishing steer performance, bone status, and carcass maturity.** J. Anim.Sci.. 77: 2832-2836.

Erickson, G.E., Klopfenstein T. J., Milton, C.T., Brink, D.R., Orth, M.W , Whittet, KM. 2002. **Phosphorus requirements of finishing feedlot calves.** J. Anim. Sci., 80:1690-1695.

Future Beef. 2019. **Phosphorous supplementation of cattle in northern Australia.** *Animal Production. Nutrition.* <https://futurebeef.com.au/resources/phosphorus-supplementation-of-cattle-in-northern-australia/>

Garner, S.C., Anderson, J.B., Ambrose, W.W. 1996. **Skeletal tissues and mineralization.** In: ANDERSON, J.B., GARNER, S.C. (Eds) Calcium and phosphorus in health and disease. CRC Press. Inc. Boca Raton, Florida, p. 98-117.

Genuth, S.M. 1993. **Endocrine regulation of calcium and phosphorus metabolism.** In: Berne, R.M., and M.N. Levy. (Ed.). Physiology. Third Ed. Mosby yer book. St. Louis, MO, p. 876-896.

Goltzman, D. 2005. **Approach to hypercalcemia. In endotexts. Your endocrine source.** <http://www.endotext.com/parathyroid/parathyroid4/parathyroid4.htm>. read in march 06, 2007.

Grace, N.D. **Phosphorus kinetics in the sheep.** 1981. Br. J. Nutr, 45: 367-374.

Hodge, R.W. 1973. Calcium requirements of the young lamb. Estimation of the calcium requirements by the factorial method. Aust. J. Agric. Res. 24: 237-243.

Horst, R.L. 1986. **Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow.** J. Dairy Sci. 69: 604-616.

Lovendahl, P., Sehested, J. 2016. **Individual cow variation in urinary excretion of phosphorous.** J. Dairy Sci. 99:4580-4585. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10338>

Lobaugh, B. 1995. **Blood calcium and phosphorus regulation.** In: Anderson, J.J., and S.C. Garner. Calcium and phosphorus in health and disease. CRC press. Boca Raton, New York, London, Tokyo, p. 27-44.

- Mcdowell, L.R. 1997. **Minerals for grazing ruminants in tropical regions**. Bull. Third Ed. University Florida. Animal Sci. Department. Gainesville, Florida, 81 p.
- McMeniman, N.P., Little, D.A. 1974. **Studies on the supplementary feeding of sheep consuming mulga (*Acacia aneura*)**. 1. The provision of phosphorus and molasses supplements under grazing conditions. *Austr. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 14: 316- 321.
- Mejia-Haro, I., Espinoza, R., Mejia, A., Mejia, J. 1999. **Phosphorous and calcium status in goats grazing the semiarid region of Zacatecas, Mexico**. *J. Anim. Sci.*, 77 (Suppl. 1), p. 270 (Abstr.).
- Milton, J.T.B., Ternouth, J.H. 1985. **P metabolism in ruminants. II. Effects of inorganic P concentration upon food intake and digestibility**. *Aust. J. Res.*, 36: 637-645.
- Montgomery, J.L., Galyean, M.L., Horst, R.L., Morrow, K.J.Jr, Blanton, J.R., Wester, D.B., Miller, M.F. 2004. **Supplemental vitamin D3 concentration and biological type of beef steers I. Feedlot performance and carcass traits**. *J. Anim. Sci.*, 82: 2050-2058.
- National Research Council. NRC. 1985. **Nutrient Requirements of Sheep**. Sixth revised Edition. National Academy Press, Washington, D.C.
- National Research Council (NRC). (2007). **Nutrient requirements of small ruminants** (7th Ed.). National Academy Press. doi: <https://doi.org/10.17226/11654>
- Orwoll, E., Ware, M., Stribrska, L., Bickel, D., Sanchez, T., Andom, N., Li, H. 1992. **Effect of dietary protein deficiency on mineral metabolism and bone mineral density**. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 56(2):314-319.
- Rodehustcord, M., Heuvers, H., Peer, E. 2000. **Effect of organic matter digestibility on obligatory fecal phosphorus loss in lactating goats, determined from balance data**. *Animal Science*, 70: 561-568.
- Statistical Analysis System, 2013. **SAS/STAT User's Guide**. (Release 9.3). Cary, NC, USA. SAS Inst. Inc.
- ernouth, J.H., Bortolussi, G., Coates, D.B., Hendricksen, R.E., McLean, R.W. 1996. **The phosphorus requirements of growing cattle consuming forage diets**. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 126: 503-510.
- Ternouth, J.H., Coates, B. 1997. **Phosphorus homeostasis in grazing breeder cattle**. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 128: 331-337.
- Veira-Neto, A., Lean, J., Santos, J.E. 2024. **Mineral metabolism: Implications to health and productivity**. *Animals* 14 (8):1232.
- Vitti, D.M.S.S., Kebreab, E., Lopes, J.B., Abdalla, A.L., De Carvalho, F.F.R., De Resende, K.T., Crompton, L.A., France, J. 2000. **A kinetic model of phosphorus metabolism in growing goats**. *J. Anim. Sci.*, 78: 2706-2712.
- Wilkens, M.R., Muscher-Banse, A.S. 2020. Review: **Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants**. *Animal* 14: suppl. 1 p s29-s43.
- Zhou, F., Jamilian A., Prabahar, K., Hernández-Wolters, B., Kord-Varkaneh, H., Bai, D. 2004. **The effect of vitamin D2 supplementation on vitamin D levels in humans: A time and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials**. *Steroids* 25: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2024.109394>

CAPÍTULO 10

FUENTES GLUCONEOGÉNICAS PARA CONTRARRESTAR LOS EFECTOS DEL ESTRÉS TÉRMICO EN EL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO EN OVINOS DE PELO

Data de submissão: 21/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Cinthia Daniela Noriega-Espinoza

Estudiante de Maestría en
Ciencias Agropecuarias de la
Facultad de Medicina
Veterinaria y Zootecnia de la
Universidad Autónoma de Sinaloa
FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0003-1222-109X>

Jehieli Hanani Montes-Hernández

Estudiante de Maestría en
Ciencias Agropecuarias de la
FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0009-0000-5122-4715>

Emma Victoria Sánchez-Rivera

Estudiante de Maestría en
Ciencias Agropecuarias de la
FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0009-0002-0782-9586>

Jesús David Urías-Estrada

Profesor e Investigador de
Tiempo completo de la FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0001-6600-8417>

Elizama Ponce-Barraza

Profesora e Investigadora de Tiempo
completo de la FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0002-3261-5822>

Ana Mireya Romo-Valdez

Profesora e Investigadora de
Tiempo Parcial de la FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0002-9424-3235>

Jesús José Portillo-Loera

Profesor e Investigador de
Tiempo completo de la FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0002-5990-7841>

Javier Alonso Romo-Rubio¹

Profesor e Investigador de
Tiempo completo de la FMVZ-UAS
Culiacán, Sinaloa, México
<https://orcid.org/0000-0002-2364-2554>

RESUMEN: El estrés por calor (EC) induce alteraciones metabólicas en los ovinos de pelo, incrementando la demanda de glucosa y forzando la movilización de reservas proteicas. Esta revisión analiza el uso de propilenglicol (PPG) y propionato como estrategia para mitigar el balance energético negativo. El PPG actúa como un precursor gluconeogénico de

¹ Autor de correspondencia. Fraccionamiento San Benito, Culiacán Rosales, Sinaloa, México; CP 80246.

rápida absorción ruminal e intestinal, que estimula la liberación de insulina y reduce la lipólisis, mientras que el propionato, mediante su conversión en succinil-CoA, optimiza la gluconeogénesis hepática. La evidencia analizada indica que dosis de 1.5 a 3 mL de PPG/kg de peso corporal o niveles de 10 a 30 g de propionatos/kg MS de la dieta, permiten mantener la homeostasis glucogénica. Estos precursores gluconeogénicos pueden utilizarse como una estrategia nutricional para prevenir el catabolismo proteico y mejorar el rendimiento de ovino de pelo, criados en ambiente con alta carga calórica.

PALABRAS CLAVE: propilenglicol; propionato; estrés por calor; rumiantes.

GLUCONEOGENIC SOURCES TO COUNTERACT THE EFFECTS OF HEAT STRESS ON NEGATIVE ENERGY BALANCE IN HAIR SHEEP

ABSTRACT: Heat stress (HS) induces metabolic alterations in hair sheep, increasing glucose demand and forcing the mobilization of protein reserves. This review analyzes the use of propylene glycol (PPG) and propionate as a strategy to mitigate negative energy balance. PPG acts as a gluconeogenic precursor that is rapidly absorbed in the rumen and intestine, stimulating insulin release, and reducing lipolysis; meanwhile, propionate optimizes hepatic gluconeogenesis through its conversion into succinyl-CoA. The evidence indicates that dosages of 1.5 to 3 mL of PPG/kg of body weight, or levels of 10 to 30 g of propionates/kg of dietary dry matter (DM), help maintain glucose homeostasis. These gluconeogenic precursors can serve as a nutritional strategy to prevent protein catabolism and improve the performance of hair sheep raised in environments with high heat loads.

KEYWORDS: propylene glycol; propionates; heat stress; ruminants.

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el estrés por calor (EC) ha emergido como un factor crítico que limita la productividad ganadera. Éste, es común en las regiones tropicales y subtropicales; sin embargo, el cambio climático puede aumentar la frecuencia de las olas de calor y extender las condiciones del EC en regiones geográficas donde sólo ocurre en ciertas épocas del año, como en el caso de las regiones templadas (Johnson, 2018). Se ha observado, que la temperatura ambiental elevada, combinada con alta humedad relativa, comprometen la capacidad de los rumiantes para disipar el calor corporal, alterando el metabolismo energético (Espinosa-Cervantes y Cordova-Izquierdo, 2022). Como consecuencia de estas alteraciones metabólicas, los animales sometidos a EC incrementan su dependencia de la glucosa, la cual es parcialmente cubierta mediante la conversión de aminoácidos glucogénicos en el hígado (Hamzaoui *et al.*, 2020). En este contexto, se han empleado estrategias nutricionales destinadas a mejorar la oferta de glucosa, destacando el uso de precursores gluconeogénicos como el propilenglicol (PPG) y propionatos (Carrillo-Herrera *et al.*, 2015; Hamzaoui *et al.*, 2020). En el caso particular

de los rumiantes, los precursores glucogénicos influyen en la dinámica de fermentación debido a los cambios en los metabolitos intermediarios requeridos en el metabolismo oxidativo, los cuales afectan positivamente el empleo de la energía (Murillo-Ortiz *et al.*, 2018). El PPG ha sido utilizado durante mucho tiempo como una fuente glucogénica en animales de producción, especialmente en enfermedades metabólicas como la cetosis (Kalyesubula *et al.*, 2019). Además, varios estudios en vacas lecheras han demostrado que la administración oral de PPG es eficaz para aumentar la glucosa en sangre y disminuir los ácidos grasos no esterificados (AGNE) y el β -hidroxibutirato (ABHB) sanguíneo (Nielsen y Ingvarsten, 2004; Osman *et al.*, 2008). Asimismo, el propionato aporta entre el 60 y 74% del carbono utilizado en la glucogénesis en vacas lecheras (Zhang *et al.*, 2015b). Dado el papel central de ambos compuestos en el metabolismo energético, la presente revisión tiene como objetivo documentar cómo la adición de propilenglicol y propionatos influye en el rendimiento de ovinos de pelo criados en ambientes con alta carga calórica.

2. ESTRÉS POR CALOR EN RUMIANTES Y ALTERACIONES FISIOLÓGICAS

El estrés es un estado de amenaza a la homeostasis, real o percibida, que puede desafiar el bienestar de un organismo (Joseph y Whirledge, 2017), se presenta cuando el animal sale de su zona de confort debido a cambios constantes en el ambiente, el manejo o la alimentación, lo que obliga a procesos de adaptación que requieren energía (que normalmente se destinaría a la producción), donde el ganado debe realizar ajustes fisiológicos adicionales para mantener el equilibrio interno (Herrera-Costabel, 2019).

La zona termoneutral para la mayoría de las razas ovinas se encuentra entre los 5 y 25°C; sin embargo, hay razas adaptadas que comienzan a experimentar EC por encima de los 30°C (Macías-Cruz *et al.*, 2016a). En México, existen tanto razas ovinas de lana como de pelo; no obstante, las razas de pelo presentan mayor tolerancia al EC debido a su origen en regiones de clima cálido, mientras que las razas de lana provienen de ambientes fríos o templados lo que las hace menos tolerantes a condiciones ambientales con altas temperaturas (Vicente *et al.*, 2020). La notable resistencia de los ovinos de pelo ante el EC se debe a un conjunto de adaptaciones genéticas y rasgos físicos que, al interactuar con respuestas fisiológicas, endócrinas y metabólicas, optimizan la regulación hídrica lo que permite que el animal conserve la normo termia (entre 38.3 y 39.9 °C) con una alta eficiencia energética (Macías-Cruz *et al.*, 2016b).

Según Marai *et al.* (2017), diversos factores meteorológicos como la radiación solar, la velocidad del viento y las precipitaciones influyen en el ambiente térmico; sin embargo, la temperatura ambiental y la humedad relativa son los determinantes críticos

del EC; por lo que, a partir de estas dos variables se calcula el índice de Temperatura-Humedad, mediante la ecuación: Este índice fue desarrollado originalmente para otras especies, pero se ha adoptado ampliamente en la ovino cultura debido a la carencia de un indicador específico para estos rumiantes; con la aplicación de esta fórmula, el confort térmico se ve comprometido a partir de las 22.2 unidades, categorizándose el estrés como moderado (22.2 a <23.3), severo (≥ 23.3 a <25.6) o extremo (≥ 25.6).

Como respuesta inmediata al incremento de los valores del ITH, los ovinos activan mecanismos de disipación de calor, siendo el incremento en la frecuencia respiratoria (jadeo) el primer signo visible del EC, el cual se complementa con un incremento en la frecuencia cardíaca para movilizar calor hacia la periferia corporal; así como, un mayor consumo de agua (Vicente *et al.*, 2020). Cuando la capacidad de disipación mediante el jadeo es superada por la carga térmica ambiental, se observa un aumento en la temperatura rectal, lo cual indica que el animal ha perdido su capacidad para mantener la normo termia (Bernabucci *et al.*, 2010). Otro efecto del EC es la reducción voluntaria de la ingesta de materia seca (MS), la cual ocurre como una estrategia adaptativa para disminuir el incremento de calor metabólico derivado de la fermentación ruminal y los procesos digestivos; esta hipofagia fisiológica, sumada al gasto energético extra requerido para activar los mecanismos de enfriamiento, provoca que el animal entre en un balance energético negativo, movilizandando reservas de grasa para cubrir sus necesidades vitales (Espinosa-Cervantes y Cordova-Izquierdo, 2022). Este déficit de energía es el punto de partida para una serie de ajustes internos complejos, en donde el estrés agudo provoca la liberación de cortisol para elevar los niveles de glucosa circulante mientras que el crónico reduce la actividad tiroidea e incrementa la insulina y la producción de proteínas de choque térmico, proceso que finalmente desencadena estrés oxidativo por el exceso de radicales libres que afectan órganos como el hígado y comprometen rendimiento del ovino (Nicolás-López *et al.*, 2021).

3. USO DE PRECURSORES GLUCONEOGENICOS EN RUMIANTES CON BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO

Debido a que el EC induce un balance energético negativo y la movilización de reservas grasas puede saturar la función hepática, se vuelve indispensable el uso de estrategias nutricionales que aporten energía sin incrementar el calor metabólico. Se ha informado, que la administración oral de precursores gluconeogénicos permite compensar el déficit energético, asegurando que el animal cuente con los recursos metabólicos necesarios para sostener tanto la termorregulación como la productividad

(Aguilar-González *et al.*, 2016). Los precursores de la glucosa, como el propilenglicol y el propionato de calcio, se han utilizado en el ganado lechero para corregir problemas metabólicos (Mendoza-Martínez *et al.*, 2016). Se ha observado, en hepatocitos bovinos aislados, que el propionato puede regular directamente su propio metabolismo mediante la sobre expresión del ARNm de las enzimas fosfoenolpiruvato carboxiquinasa citosólica (PCK1), fosfoenolpiruvato carboxiquinasa mitocondrial (PCK2) y piruvato carboxilasa (PC), enzimas clave para la estimulación de la gluconeogénesis a partir de propionato en rumiantes (Zhang *et al.*, 2016). El propionato es el principal precursor de la glucosa en rumiantes, promoviendo un balance energético positivo y efectos anticetogénicos (Drackley, 1999). Se utiliza como fuente de energía fácilmente disponible para corregir problemas metabólicos en el ganado lechero (Liu *et al.*, 2010). Además, el propionato, cuya captación hepática es preferencial y altamente eficiente, puede inhibir la oxidación lipídica hepática y la producción de cetonas (Patton *et al.*, 2004).

También, desde 1950, el PPG se ha utilizado para tratar la cetosis debido a sus propiedades gluconeogénicas (Nielsen y Ingvarsen, 2004; Lomander *et al.*, 2012). Se ha informado, que el PPG actúa proporcionando una fuente alternativa de glucosa mediante la gluconeogénesis, reduciendo así la dependencia de la movilización de lípidos y previniendo la acumulación excesiva de cuerpos cetónicos (Zhou *et al.*, 2023). Además, se ha sugerido que el PPG mejora la sensibilidad a la insulina y reduce la gluconeogénesis hepática a partir de aminoácidos, reservándolos para la síntesis de proteínas y otras funciones metabólicas (Zhao *et al.*, 2024).

4. PROPILENGLICOL (PPG)

El propilenglicol (PPG), también conocido como 1,2-propanodiol o monopropilenglicol, es un precursor glucogénico que favorece la producción del propionato ruminal y que se absorbe con rapidez para participar en la gluconeogénesis hepática (Ferraro *et al.*, 2009; Molina-Coto *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020). Una vez en el organismo del rumiante, este compuesto se transforma parcialmente en propionato a nivel ruminal mediante la fermentación microbiana, para posteriormente ser metabolizado en el hígado como piruvato y glucosa (Molina-Coto *et al.*, 2018). Específicamente, el PPG influye sobre el estado glucogénico a través de dos vías principales; en la primera, se fermenta en el rumen a ácido propiónico, el cual se convierte en las mitocondrias hepáticas en succinil-CoA para integrarse al ciclo de Krebs (Nielsen y Ingvarsen, 2004). En la segunda vía, el PPG se absorbe intacto y se metaboliza en el hígado a lactato mediante la acción de las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa

(Emery *et al.*, 1967; Kristensen y Raun, 2007), para luego convertirse en piruvato por la vía lactato deshidrogenasa (LDH) y finalmente en oxalacetato (Emery *et al.*, 1967; Nielsen y Ingvarsten, 2004; Kristensen y Raun, 2007). El principal efecto de la PPG es aumentar el estado glucogénico y bajar la concentración plasmática de ABHB (Bjerre-Harpøth *et al.*, 2015). El incremento de glucosa plasmática, tras la administración de PPG, estimula la secreción de insulina lo que actúa como una señal metabólica para reducir la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo hacia el hígado (Nielsen y Ingvarsten, 2004). Alon *et al.* (2020), informaron que el PPG también puede reducir la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) sin necesidad de aumentar la insulina, al inducir el ciclo de Krebs y acelerar la oxidación de acetil-CoA, facilitando la eliminación de AGNE del torrente sanguíneo y su alejamiento de la ruta cetogénica (Nielsen y Ingvarsten, 2004; Piantoni y Allen, 2015). Cuando el oxalacetato es insuficiente para que la enzima citrato sintasa se combine con el acetil-CoA, el exceso de acetil-CoA se destina a la síntesis de cetonas (Abuajamieh *et al.*, 2016). Por lo tanto, las propiedades anticetogénicas del PPG se deben en parte al aumento de la oxidación del acetil-CoA en el ciclo de Krebs y al suministro de glucosa gluconeogénica (Nielsen y Ingvarsten, 2004).

Se ha observado, que la infusión de PPG en el rumen aumenta la concentración de glucosa en sangre entre los 30 y 90 minutos posteriores al tratamiento (Piantoni y Allen, 2015). Además, la administración de PPG eleva drásticamente la concentración plasmática de lactato, manteniéndose alto desde 1 hasta 12 h después de la administración (Alon *et al.*, 2020).

Se ha observado también, que la suplementación con PPG ejerce una regulación significativa sobre el metabolismo del tejido adiposo mediante la modulación de genes lipogénicos clave, con efectos dependientes tanto de la dosis como del periodo de exposición (Yakan *et al.*, 2025). Estos mismos autores indicaron, que dosis de 1.5 y 3 mL de PPG por kg de peso vivo contribuyen a optimizar la partición energética, reducir desequilibrios metabólicos y promover la homeostasis celular, además de inducir modificaciones en el perfil de ácidos grasos en corderos. Se ha informado también, que la administración oral de este compuesto no provoca efectos adversos sobre la integridad funcional del hígado ni de los riñones, manteniendo los parámetros bioquímicos dentro de los rangos fisiológicos de referencia (Şahan y Hanedan, 2024). En ovinos, el uso de PPG constituye una alternativa eficaz para sustituir parcialmente fuentes energéticas convencionales como el maíz, particularmente durante fases críticas de adaptación. Su inclusión contribuye a cubrir las demandas energéticas, preservar los índices productivos y favorecer el equilibrio metabólico de los animales frente a condiciones de estrés (Rodríguez-Valverde *et al.*, 2023).

5. PROPIONATO

El propionato es considerado el principal sustrato de la gluconeogénesis en rumiantes, proceso clave para la formación de glucosa, la cual es requerida como fuente de energía en la síntesis de proteína (Arce-Recinos *et al.*, 2021). El ácido propiónico actúa como precursor primario en la síntesis hepática de glucosa y tiene la capacidad de suministrar hasta el 95% de este azúcar, el cual proporciona cerca del 80% de la energía metabolizable consumida por el animal (Flores-Santiago *et al.*, 2022). A diferencia de otros ácidos grasos volátiles, como el acetato o el butirato, el propionato es el único capaz de generar una síntesis neta de glucosa debido a que su estructura de tres carbonos le permite transformarse directamente en oxalacetato (Verma *et al.*, 2024). Específicamente, el propionato absorbido a través del epitelio ruminal es metabolizado en las mitocondrias hepáticas hasta convertirse en succinil-CoA, integrándose así al ciclo de Krebs para proseguir como sustrato para la vía gluconeogénica (Huertas-Molina *et al.*, 2020).

Respecto a los efectos sobre el desempeño productivo, estudios recientes indican que la suplementación con propionatos en la dieta de corderos mejora la ganancia diaria de peso (GDP) entre el 13.8 y 17.2% (Flores-Santiago *et al.*, 2022). Esta mejora en la GDP se acompaña de una optimización en la eficiencia alimenticia, lo que reduce los requerimientos de alimento para formar un kilogramo de peso vivo en un rango del 11.9 al 14.6% (Martínez-Aispuro *et al.*, 2018). Además, la administración de propionatos favorece el desarrollo de los órganos internos y del tracto gastrointestinal, lo que mejora la digestibilidad de la materia seca y de las fracciones fibrosas (FDN y FDA) (Zhang *et al.*, 2017).

Se ha propuesto que el uso de propionatos constituye una alternativa eficaz para optimizar la partición energética y preservar los índices productivos bajo condiciones de producción intensiva, particularmente en condiciones donde el estrés por calor puede comprometer el metabolismo energético (Mendoza-Martínez *et al.*, 2016). Su inclusión estratégica contribuye a cubrir las altas demandas de glucosa, promoviendo la homeostasis celular y favoreciendo el rendimiento de la canal, consolidándose como un mediador metabólico fundamental frente a desafíos nutricionales (Maldini *et al.*, 2019).

5.1. PROPIEDADES NUTRITIVAS DEL PROPIONATO DE CALCIO

El propionato de calcio ($(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO})_2\text{Ca}$) es una sal orgánica formada por la reacción entre hidróxido de calcio y ácido propiónico (Pongsavee, 2019). El compuesto existe en forma cristalina o en polvo; es soluble en agua y puede hidrolizarse en Ca_2^+ y ácido propiónico. La solución es alcalina, pero ejerce efectos bacteriostáticos en medios

ácidos. Se sintetiza principalmente mediante la reacción entre una fuente de calcio (CaCO_3 , CaO , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, huevo o concha de ostra) y ácido propiónico. Mediante esta reacción, el propionato de calcio (PrCa) generado se concentra, seca y deshidrata para obtener productos de calidad.

El propionato que se produce por la fermentación ruminal del almidón y otra materia orgánica es el principal precursor de la glucosa en rumiantes (Lemosquet *et al.*, 2009; Duplessis *et al.*, 2017) y su eliminación hepática contribuye hasta en un 60% a la liberación hepática de glucosa (Duplessis *et al.*, 2017). El ácido propiónico, que se hidroliza a partir del propionato de calcio y se forma en condiciones ácidas en el rumen, es absorbido por el epitelio ruminal, pasa al hígado a través de la vena porta y, a partir de este, se sintetiza glucosa. El propionato es un metabolito anaplerótico obligatorio para el ciclo de Krebs (Maldini *et al.*, 2019). Ingresa al ciclo de Krebs a través del succinato, proporcionando así carbonos que pueden permanecer en el ciclo o extraerse para la gluconeogénesis (White, 2015). Por lo tanto, el propionato de calcio puede utilizarse como un buen aditivo en rumiantes para la gluconeogénesis. Se ha demostrado que esta propiedad mejora el rendimiento de los corderos (Martínez-Aispuro *et al.*, 2018), ya que actúa como fuente de energía para los corderos de engorde (Lee-Rangel *et al.*, 2012) y mejora la calidad de la carne (Zhang *et al.*, 2015a); en vacas lecheras se puede utilizar como agente antimicrobiano, precursor de glucosa y fuente de calcio (Saftner *et al.*, 2003).

El ácido propiónico puede estimular la oxidación de acetil-CoA en el hígado (Maldini *et al.*, 2019). La oxidación de fuentes de energía en el hígado puede estimular la saciedad mediante la transmisión de señales a través de las aferencias vagales hepáticas a los centros de alimentación del cerebro (Kennedy y Allen, 2019). Oba y Allen (2003a), observaron que una infusión ruminal de propionato, a altas dosis, disminuyó linealmente el consumo de MS de vacas lecheras. Dosis altas de propionato aumentan los intermediarios del ciclo de Krebs, lo que estimula la oxidación de acetil-CoA y probablemente afecta el comportamiento alimentario y la satisfacción. Sin embargo, el propionato tuvo un efecto hipofágico menor cuando la concentración plasmática de glucosa estaba baja y un efecto hipofágico mayor cuando la concentración plasmática de glucosa estaba elevada (Oba y Allen, 2003b). Aunque aproximadamente el 85% del propionato se utiliza para la producción de glucosa en vacas lactantes, la oxidación del propionato también puede desempeñar un papel importante en la regulación del consumo de MS (Steinhour y Bauman, 1986).

Hormonas como la leptina, la grelina y la insulina pueden interactuar con los centros neuroendocrinos o reguladores del apetito. Estas hormonas han demostrado su influencia en diversos neuropéptidos hipotalámicos en diferentes modelos animales,

incluyendo ovejas (Henry, 2003; Relling *et al.*, 2010). Entre los neuropéptidos que aumentan el apetito se encuentran el neuropéptido Y (NPY) y el péptido relacionado con agouti (AgRP), mientras que los péptidos derivados del gen de la proopiomelanocortina (POMC) lo disminuyen (Valassi *et al.*, 2008). Se ha observado que la expresión de ARNm hipotalámico para NPY y AgRP es mayor en ovejas en ayunas en comparación con las alimentadas *ad libitum* (Adam *et al.*, 2002). Relling *et al.* (2010), sugirieron que la insulina podría controlar el consumo de MS regulando la expresión génica hipotalámica de NPY, AgRP y POMC en corderos; sin embargo, no se han observado efectos directos del propionato en la expresión de ARNm hipotalámico para los neuropéptidos NPY, AgRP y POMC (Relling *et al.*, 2012).

En cuanto a su aplicación práctica y dosificación, se ha sugerido la inclusión de 10 a 30 g de propionato por kg MS en ovinos en crecimiento (Flores-Santiago *et al.*, 2022). Asimismo, se ha reportado que la adición de este precursor en niveles de 1 a 2% de la ración permite la sustitución de hasta un 15% del grano en la dieta, manteniendo el comportamiento productivo y reduciendo la acumulación de ácidos orgánicos en el rumen (Mendoza-Martínez *et al.*, 2016). En otros rumiantes, como terneros, el suministro de 0.43 mol/día de este compuesto ha demostrado ser efectivo para promover el crecimiento (Zhang *et al.*, 2017).

5.2. USO DE PROPIONATO DE CALCIO EN BORREGOS

El propionato de calcio (PrCa) se ha utilizado en dietas para rumiantes como sustituto de los granos o como suplemento energético (Lee-Rangel *et al.*, 2012); se ha sugerido que puede ser añadido como aditivo en dietas para ovejas (Lee-Rangel *et al.*, 2012; Mendoza-Martínez *et al.*, 2016).

El propionato es el precursor gluconeogénico más importante para los rumiantes y puede mejorar el flujo de glucosa en los corderos (Van Houtert *et al.*, 1993); su suplementación mejora la acción de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa (Sano y Fujita, 2006); además, está involucrado en la deposición de grasa (Berthelot *et al.*, 2001) y el crecimiento muscular (Lee-Rangel *et al.*, 2012). Sin embargo, existe un límite fisiológico para la conversión del PrCa en glucosa (Steel y Leng, 1973), y debe añadirse a las dietas de rumiantes en dosis bajas debido a su efecto hipofágico (Oba y Allen, 2003b).

El PrCa se ha utilizado como sustrato energético en dietas para corderos en una dosis de hasta 20 g/kg de MS sin efectos adversos sobre las variables productivas ni la fermentación ruminal (Lee-Rangel *et al.*, 2012; Mendoza-Martínez *et al.*, 2016). Martínez-Aispuro *et al.* (2018), recomendaron añadir niveles de 13.77 g/kg de MS en la dieta de

corderos en engorde, con base en la mejora de las variables de rendimiento observadas. Esta dosis también incrementó las concentraciones de propionato ruminal y glucosa sérica. Cifuentes-Lopez *et al.* (2018), observaron que la adición de PrCa en dietas con base en alfalfa no afecta el consumo de alimento y el peso vivo de los corderos, pero mejora el rendimiento y los atributos deseables en la canal de corderos en finalización. Sin embargo, otros autores han indicado que la absorción excesiva de propionato podría disminuir la ingesta de MS (Allen *et al.*, 2005). También, su adición en dietas para novillos mejoró la fermentación ruminal y la digestibilidad del alimento (Liu *et al.*, 2009), lo que podría ser un beneficio adicional de su uso como nutriente para el crecimiento animal.

6. CONCLUSIONES

La suplementación dietética con propilenglicol y propionato, puede ser una herramienta eficaz para contrarrestar las alteraciones metabólicas inducidas por el estrés calórico. Estos compuestos no sólo actúan como fuentes de energía de alta disponibilidad, sino que intervienen directamente en la regulación del metabolismo lipídico y la homeostasis de la glucosa, factores que se ven severamente comprometidos durante la hipofagia fisiológica provocada por las altas temperaturas. No obstante, a pesar de los beneficios documentados en el desempeño productivo y la eficiencia alimenticia, se identifica una laguna de conocimiento respecto a la interacción específica de estos aditivos con razas de pelo bajo esquemas de estrés calórico extremo y prolongado, así como su impacto a largo plazo. El uso combinado de propilenglicol y propionato representa una estrategia prometedora para mejorar el rendimiento de ovinos de pelo en zonas cálidas, evitando que el animal sacrifique proteína para obtener energía. Se sugiere que las futuras líneas de investigación se centren en establecer protocolos de suplementación energética que mantengan un balance metabólico positivo bajo condiciones de estrés por calor, con el fin de asegurar la sostenibilidad económica y bienestar animal frente a los desafíos climáticos globales.

LITERATURA CITADA

ABUJAMIEH M, Kvidera SK, Fernandez MVS, Nayeri A, Upah NC, Nolan EA, Lei SM, DeFrain JM, Green HB, Schoenberg KM, Trout NWE, Baumgard LH. 2016. **Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein cows.** Res. Vet. Sci., 109:81-85. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.09.015>

ADAM CL, Archer ZA, Findlay PA, Thomas L, Marie M. 2002. **Hypothalamic gene expression in sheep for cocaine and amphetamine-regulated transcript, pro-opiomelanocortin, neuropeptide Y, agouti-related peptide and leptin receptor and responses to negative energy balance.** Neuroendocrinology; 75(4):250-256. <https://doi.org/10.1159/000054716>

AGUILAR-GONZÁLEZ M, Buitrón G, Shimada-Miyasaka A, Mora-Izaguirre O. 2016. **Estado actual de los sistemas bioelectroquímicos: factibilidad de su uso para aumentar la producción ruminal de propionato.** *Agrociencia*; 50:149-166. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v50n2/1405-3195-agro-50-02-00149.pdf>

ALLEN MS, Bradford BJ, Harvatine KJ. 2005. **The cow as a model to study food intake regulation.** *Annu. Rev. Nutr.*, 25:523-547. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.050304.092704>

ALON T, Rosov A, Lifshitz L, Dvir H, Gootwine E, Moallem U. 2020. **The distinctive short-term response of late-pregnant prolific ewes to propylene glycol or glycerol drenching.** *Journal of Dairy Science*; 103(11):10245-10257. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18451>

ARCE-RECINOS C, Chay-Canul AJ, Alarcón-Zúñiga B, Ramos-Juárez JA, Vargas-Villamil LM, Aranda-Ibáñez EM, Sánchez-Villegas NC, Lopes-Dias da Costa R. 2021. **Índices de eficiencia alimenticia en ovinos de pelo: calidad de la carne y genes asociados. Revisión.** *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*; 12(2):523-552. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12i2.5642>

BERTHELOT V, Bas P, Schmidely P, Duvaux-Ponter C. 2001. **Effect of dietary propionate on intake patterns and fatty acid composition of adipose tissues in lambs.** *Small Rumin Res.*, 40:29-39. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00217-0](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00217-0)

BJERRE-HARPØTH V, Storm AC, Eslamizad M, Kuhla B, Larsen M. 2015. **Effect of propylene glycol on adipose tissue mobilization in postpartum over-conditioned Holstein cows.** *J. Dairy Sci.*, 98(12):8581-8596. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8606>

BERNABUCCI U, Lacetera N, Baumgard LH, Rhoads RP, Ronchi B, Nardone A. 2010. **Metabolic and hormonal acclimatization to heat stress in domesticated ruminants.** *Animal*; 4(7):1167-1183. <https://doi.org/10.1017/S175173111000090X>

CARRILLO-HERRERA JD, Murillo M, Reyes O, Herrera E. 2015. **Efecto en la fermentación ruminal de becerros de un precursor glucogénico.** *Memoria de la XLII Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C.*, pp. 29-33. https://www.researchgate.net/profile/Jaime-Sanchez-13/publication/384678106_Memoria_AMPA_2015/links/6702ed95553d245f9e53fc27/Memoria-AMPA-2015.pdf#page=39

CIFUENTES-LOPEZ O, Lee-Rangel HA, Mendoza GD, Delgado-Sanchez P, Guerrero Gonzalez L, Chay-Canul A, Pinos-Rodriguez JM, Flores Ramirez R, Roque-Jiménez JA, Relling AE. 2021. **Effects of Dietary Calcium Propionate Supplementation on Hypothalamic Neuropeptide Messenger RNA Expression and Growth Performance in Finishing Rambouillet Lambs.** *Life*; 11(6):566. <https://doi.org/10.3390/life11060566>

DRACKLEY JK. 1999. **Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?** *J. Dairy Sci.*, 82(11):2259-2273. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75474-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75474-3)

DUPLESSIS M, Lapierre H, Ouattara B, Bissonnette N, Pellerin D, Laforest JP, Girard CL. 2017. **Whole-body propionate and glucose metabolism of multiparous dairy cows receiving folic acid and vitamin B12 supplements.** *J. Dairy Sci.*, 100(10):8578-8589. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13056>

EMERY RS, Brown RE, Black AL. 1967. **Metabolism of DL-1,2-Propanediol-2-14C in a Lactating Cow.** *The Journal of Nutrition*; 92(3):348-356. <https://doi.org/10.1093/jn/92.3.348>

ESPINOSA-CERVANTES R, Córdova-Izquierdo A. 2022. **Efectos metabólicos y moleculares del estrés calórico en el ganado.** *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*; 18(36):139-156. <https://sociedadesruralesojs.xoc.uam.mx/index.php/srpma/article/view/400/384>

FERRARO SM, Mendoza GD, Miranda LA, Gutiérrez CG. 2009. **In Vitro gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses.** Anim. Feed Sci. Technol., 154(1-2):112-118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.07.009>

FLORES-SANTIAGO E, González-Garduño R, Cobos-Peralta M, Mendoza-Pedrosa SI, Fuente JLADL, Cadena-Villegas S, Díaz-Sánchez E, Bárcena-Gama JR. 2022. **Productividad y características de la canal de ovinos suplementados con propionato de calcio.** Revista MVZ Córdoba; 27(2):e2525. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2525>

HAMZAOUI S, Caja G, Such X, Albanell E, Salama AAK. 2020. **Milk production and energetic metabolism of heat-stressed dairy goats supplemented with propylene glycol.** Animals; 10(12):2384. <https://doi.org/10.3390/ani10122384>

HENRY BA. 2003. **Links between the appetite regulating systems and the neuroendocrine hypothalamus: Lessons from the sheep.** J. Neuroendocrinol., 15(7):697-709. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.01049.x>

HERRERA-COSTABEL P. 2019. **Estrés calórico: ¿cómo afecta a los rumiantes?** Revista del Plan Agropecuario; 191:56-59. https://www.planagropecuario.org.uy/uploads/magazines/articulos/191_2972.pdf

HUERTAS-MOLINA OF, Londoño-Vásquez D, Olivera-Angel M. 2020. **Hipercetonemia: bioquímica de la producción de ácidos grasos volátiles y su metabolismo hepático.** Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica; 23(1):e1304. <https://doi.org/10.31910/rudcav23.n1.2020.1304>

JOHNSON JS. 2018. **Heat stress: impact on livestock well-being and productivity and mitigation strategies to alleviate the negative effects.** Animal Production Science; 58(8):1404-1413. <https://doi.org/10.1071/AN17725>

JOSEPH DN, Whirlledge S. 2017. **Stress and the HPA Axis: Balancing Homeostasis and Fertility.** International Journal of Molecular Science; 18(10):2224. <https://doi.org/10.3390/ijms18102224>

KALYESUBULA M, Rosov A, Alon T, Moallem U, Dvir H. 2019. **Intravenous infusions of glycerol versus propylene glycol for the regulation of negative energy balance in sheep: A randomized trial.** Animals; 9(10):731. <https://doi.org/10.3390/ani9100731>

KENNEDY KM, Allen MS. 2019. **Hepatic metabolism of propionate relative to meals for cows in the postpartum period.** Journal of Dairy Science; 102(9):7997-8010. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15907>

KRISTENSEN NB, Raun BML. 2007. **Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows.** Journal of Dairy Science; 90(10):4707-4717. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0295>

LEMOSQUET S, Raggio G, Lobley GE, Rulquin H, Guinard-Flament J, Lapierre H. 2009. **Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid.** Journal of Dairy Science; 92(12):6068-6082. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2018>

LEE-RANGEL HA, Mendoza GD, González SS. 2012. **Effect of calcium propionate and sorghum level on lamb performance.** Anim. Feed Sci. Tech., 177(3-4):237-241. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.08.012>

LIU Q, Wang C, Guo G, Yang WZ, Dong KH, Huang YX, Yang XM, He DC. 2009. **Effects of calcium propionate on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers.** The Journal of Agricultural Science; 147(2):201-209. <https://doi.org/10.1017/S0021859609008429>

LIU Q, Wang C, Yang WZ, Guo G, Yang XM, He DC, Dong KH, Huang YX. 2010. **Effects of calcium propionate supplementation on lactation performance, energy balance and blood metabolites in early lactation dairy cows.** J. Anim. Physiol., 94(5):605-614. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2009.00945.x>

LOMANDER H, Frössling J, Ingvarsten KL, Gustafsson H, Svensson C. 2012. **Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation – Effects on metabolic status, body condition, and milk yield.** Journal of Dairy Science; 95(5):2397-2408. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4535>

MACÍAS-CRUZ U, Gastélum MA, Avendaño-Reyes L, Correa-Calderón A, Mellado M. 2016a. **Physiological and metabolic responses of hair sheep ewes under heat stress.** Journal of Thermal Biology; 59:26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.04.009>

MACÍAS-CRUZ U, López-Baca MA, Vicente R, Mejía A, Álvarez FD, Correa-Calderón A, Meza-Herrera CA, Mellado M, Guerra-Liera JE, Avendaño-Reyes L. 2016b. **Effects of seasonal ambient heat stress (spring vs. summer) on physiological and metabolic variables in hair sheep located in an arid region.** International Journal of Biometeorology, 60(8):1279-1286. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1123-6>

MALDINI G, Kennedy KM, Allen MS. 2019. **Temporal effects of ruminal infusion of propionic acid on hepatic metabolism in cows in the postpartum period.** Journal of Dairy Science; 102(11):9781-9790. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16437>

MARAI IFM, El-Darawany A, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM. 2007. **Physiological traits as affected by heat stress in sheep - A review.** Small Ruminant Research; 71(1-3):1-12. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.003>

MARTÍNEZ-AISPURO JA, Sánchez-Torres MT, Mendoza-Martínez GD, Cordero-Mora JL, Figueroa-Velasco JL, Ayala-Monter MA. 2018. **Addition of calcium propionate to finishing lamb diets.** Veterinaria México; 5(4):1-9. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2018.4.470>

MENDOZA-MARTINEZ GD, Pinos-Rodriguez JM, Lee-Rangel HA, Hernandez-Garcia PA, Rojo-Rubio R, Relling A. 2016. **Effects of dietary calcium propionate on growth performance and carcass characteristics of finishing lambs.** Anim. Prod. Sci., 56:1194-1198. <http://dx.doi.org/10.1071/AN14824>

MOLINA-COTO R, Arroyo-Oquendo C, Carballo-Guerrero D, Elizondo-Salazar JA. 2018. **Respuesta a la suplementación con propilenglicol en vacas multi ovuladas, para la producción de embriones.** Agronomía Mesoamericana; 29(3):519-533. <https://archivo.revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/30837/33925>

MURILLO-ORTIZ M, Carrillo-Herrera JD, Pamanes-Carrasco G, Muro-Reyes A, Herrera-Torres E. 2018. **Patrones de fermentación ruminal en respuesta a la adición de un precursor glucogénico a la dieta de becerros en engorda.** Agroproductividad; 11(9):155-159. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/1230/1001/#:~:text=El%20objetivo%20fue%20evaluar%20el%20efecto%20de,productivo%20y%20los%20patrones%20de%20fermentaci%C3%B3n%20ruminal>

NICOLÁS-LÓPEZ P, Macías-Cruz U, Correa-Calderón A, Mellado-Bosque MA, Díaz-Molina R, Avendaño-Reyes L. 2021. **Ajustes asociados a la aclimatación y estrés oxidativo en ovinos bajo estrés calórico: una revisión.** ITEA-Información Técnica Económica Agraria; 117(5):494-512. <https://www.aida-itea.org/aida-itea/files/itea/revistas/2021/117-5/ITEA%20117-5.pdf#page=20>

NIELSEN NI, Ingvarsten KL. 2004. **Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis.** Animal Feed Science and Technology; 115:191-213. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.03.008>

OBA M, Allen MS. 2003a. **Dose-Response Effects of intraruminal infusion of propionate on feeding behavior of lactating cows in early or midlactation.** Journal of Dairy Science; 86(9):2922-2931. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73889-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73889-2)

OBA M, Allen MS. 2003b. **Extent of hypophagia caused by propionate infusion is related to plasma glucose concentration in lactating dairy cows.** J. Nutr., 133(4):1105-1112. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1105>

OSMAN MA, Allen PS, Mehyar NA, Bobe G, Coetzee JF, Koehler KJ, Beitz DC. 2008. **Acute metabolic responses of postpartal dairy cows to subcutaneous glucagon injections, oral glycerol or both.** Journal of Dairy Science; 91:3311-3322. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0726>

PATTON RS, Sorenson CE, Hippen AR. 2004. **Effects of dietary glucogenic precursors and fat on feed intake and carbohydrate status of transition dairy cows.** Journal of Dairy Science; 87(7):2122-2129. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70031-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70031-4)

PIANTONI P, Allen MS. 2015. **Evaluation of propylene glycol and glycerol infusions as treatments for ketosis in dairy cows.** Journal of Dairy Science; 98(8):5429-5439. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9476>

PONGSAVEE M. 2019. **Effects of 3300 del A-1061 Ter BRCA1 frameshift mutation and calcium propionate on oxidative stress and breast carcinogenesis.** Int. J. Mol. Epidemiol. Genet., 10(3):47-52. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6627784/pdf/ijmeg0010-0047.pdf>

RELLING AE, Lee K, Loerch SC, Reynolds CK. 2012. **Effects of glucose, propionate, and splanchnic hormones on neuropeptide mRNA concentrations in the ovine hypothalamus.** J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 96(4):648-654. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01192.x>

RELLING AE, Pate JL, Reynolds CK, Loerch SC. 2010. **Effect of feed restriction and supplemental dietary fat on gut peptide and hypothalamic neuropeptide messenger ribonucleic acid concentrations in growing wethers.** J. Anim. Sci., 88:737-748. <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2009-2316>

RODRÍGUEZ-VALVERDE LA, Gallegos-Santiago MA, Sánchez-Pérez JN, Rodríguez-Millán J, Molina-Gómez G, Robles-Estrada JC, Vásquez-Sarabia F, Félix-Bernal A, Dávila-Ramos H. 2023. **Sustitución de grano de maíz por precursores gluconeogénicos en desempeño productivo de ovinos en adaptación.** Memoria de la XXVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal (ALPA) y XLVII Reunión de la Asociación Mexicana de Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C. <https://doi.org/10.53588/alpa.310546>

SAFTNER RA, Bai J, Abbott JA, Lee YS. 2003. **Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks.** Postharvest Biol. Tech., 29(3):257-269. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00041-3](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00041-3)

ŞAHAN S, Hanedan B. 2024. **Effects of propylene glycol in different doses on metabolic parameters in dairy cows.** Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi; 19(1):13-21. https://www.researchgate.net/publication/380509504_Effects_of_propylene_glycol_in_different_doses_on_metabolic_parameters_in_dairy_cows#:~:text=Anahtar%20kelimeler:%20Propilen%20glikol%2C%20serum,2007

SANO H, Fujita T. 2006. **Effect of supplemental calcium propionate on insulin action to blood glucose metabolism in adult sheep.** Reprod Nutr Dev., 46(1):9-18. <https://doi.org/10.1051/rnd:2005064>

STEINHOOR WD, Bauman DE. 1986. **Propionate Metabolism: A New Interpretation.** In Aspects of Digestive Physiology in Ruminants. In Proceedings of the Satellite Symposium of the 30th International Congress of the International Union of Physiological Sciences, Ithaca, NY, USA, 21-23 July. pp. 238-256. <https://www.jstor.org/stable/10.7591/j.ctvr7f46j.16>

STEEL JW, Leng RA. 1973. **Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep. 2. Synthesis of glucose from ruminal propionate.** Br. J. Nutr., 30:475-89. <https://doi.org/10.1079/bjn19730054>

VAN HOUTERT MFJ, Nolan JV, Leng RA. 1993. **Protein, acetate and propionate for roughage-fed lambs. 2. Nutrient kinetics.** Anim Sci., 56(3):369-378. <https://doi.org/10.1017/S0003356100006413>

VERMA A, Bhagchandani T, Rai A, Nikita Sardarni UK, Bhavesh NS, Gulati S, Malik R, Tandon R. 2024. **Short-chain fatty acid (SCFA) as a connecting link between microbiota and gut-lung axis – A potential therapeutic intervention to improve lung health.** ACS Omega, 9(13):14648-14671. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05846>

VICENTE PR, Macías CU, Avendaño RL, Correa CA., López BMÁ, Lara RAL. 2020. **Impacto del estrés por calor en la producción de ovinos de pelo-Revisión.** Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias; 11(1):205-222. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4923>

WHITE HM. 2015. **The role of TCA cycle anaplerosis in ketosis and fatty liver in periparturient dairy cows.** Animals; 5:793-802. <https://doi.org/10.3390/ani5030384>

YAKAN A, Özkan H, Keçeli HH, Kaya U, Karaaslan I, Dalkiran S, Ünal N, Çamdeviren B, Güngör G, Küçükoflaz M. 2025. **Dose- and duration-dependent effects of propylene glycol on lipid metabolism-related mRNAs, proteins, and fatty acids in the adipose tissue of fattening Akkaraman lambs.** Food Science & Nutrition; 13(12):e71336. <https://doi.org/10.1002/fsn3.71336>

ZHAO H, Li L, Tan J, Wang Y, Zhang A, Zhao Y, Zhao Y, Jiang L. 2024. **Multi-omics reveals disrupted immunometabolic homeostasis and oxidative stress in adipose tissue of dairy cows with subclinical ketosis: A sphingolipid-centric perspective.** Antioxidants; 13(5):614. <https://doi.org/10.3390/antiox13050614>

ZHANG F, Nan X, Wang H, Zhao Y, Guo, Y., Xiong B. 2020. **Effects of propylene glycol on negative energy balance of postpartum dairy cows.** Animals; 10(9):1526. <https://doi.org/10.3390/ani10091526>

ZHANG XZ, Meng QX, Lu L, Cui ZL, Ren LP. 2015a. **The effect of calcium propionate supplementation on performance, meat quality, and mRNA expression of finishing steers fed a high-concentrate diet.** J. Anim. Feed Sci., 24:100-106. <https://www.jafs.com.pl/pdf-65634-5383?filename=The>

ZHANG Q, Koser SL, Bequette BJ, Donkin SS. 2015b. **Effect of propionate on mRNA expression of key genes for gluconeogenesis in liver of dairy cattle.** Journal of Dairy Science; 98(12):8698-8709. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9590>

Zhang Q, Koser SL, Donkin SS. 2016. **Propionate induces mRNA expression of gluconeogenic genes in bovine calf hepatocytes.** Journal of Dairy Science; 99:3908-3915. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10312>

ZHANG X, Wu X, Chen W, Zhang Y, Jiang Y, Meng Q. 2017. **Growth performance and development of internal organ, and gastrointestinal tract of calf supplementation with calcium propionate at various stages of growth period.** PLOS ONE, 12(6):e0179940. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179940>

ZHOU S, Chen M, Meng MMan, Xie W, Shen X, Li Z, Chang G. 2023. **Subclinical ketosis leads to lipid metabolism disorder by downregulating the expression of acetyl-coenzyme A acetyltransferase 2 in dairy cows.** Journal of Dairy Science; 106(12):9892-9909. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23602>

CAPÍTULO 11

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE CÚRCUMA (*Curcuma longa*) EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO DE CUYES (*Cavia porcellus*)

Data de submissão: 28/08/2026

Data de aceite: 14/09/2026

Verónica de los Ángeles Bónifaz Ramos
Universidad Técnica de Babahoyo
Ecuador
<https://orcid.org/0009-0000-6333-0187>

Ketty Beatriz Murillo Cano
Universidad Técnica de Babahoyo
Ecuador
<https://orcid.org/0000-0001-7935-5995>

John Javier Arellano Gómez
Universidad Técnica de Babahoyo
Ecuador
<https://orcid.org/0000-0002-5279-9315>

Yesenia Ivonne Malta García
Universidad Técnica de Babahoyo
Ecuador
<https://orcid.org/0009-0009-9959-7575>

Silvia Verónica Tinoco Cabrera
Universidad Estatal de Bolívar
Ecuador
<https://orcid.org/0009-0001-2593-9757>

María José Salinas Hinojosa
Universidad Estatal de Bolívar
Ecuador
<https://orcid.org/0009-0007-6442-2404>

RESUMEN: La presente investigación se llevó a cabo en el Cantón San Miguel de la Provincia de Bolívar y tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de diferentes niveles de cúrcuma (*Curcuma longa*) como promotor natural de crecimiento en la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus*) sobre los índices productivos. Se utilizaron 45 cuyes mejorados machos de 4 semanas de edad, los cuales se evaluaron durante 10 semanas, bajo un sistema de alimentación mixta (Forraje + Concentrado + Agua). Se aplicó tres tratamientos con tres repeticiones y 5 unidades experimentales por tratamiento dando un total de 45 animales, distribuidos bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) los resultados experimentales obtenidos fueron sometidos a un Análisis de Varianza para las diferencias (ANDEVA), y la comparación de Medidas según Tukey a los niveles de significancia de ($P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$). Se evaluó los parámetros productivos (Peso Inicial, Peso Final, Ganancia de peso Vivo, Rendimiento a la Canal) y se realizó el análisis Beneficio Costo. Los resultados indican que la investigación arranco con Pesos Iniciales homogéneos cuyo peso promedio fue de 450 gramos lo que permitió que la investigación se desarrollara sin variabilidad, en cuanto a la variable Peso Inicial, Ganancia de peso Vivo, Rendimiento a la Canal los mejores resultados se establecieron en el tratamiento (Animales alimentados con una adición de cúrcuma al 1%) T2, con un peso final de 1087,40 gramos, ganancia de peso de 723,07 gramos,

rendimiento a la canal con 65,49 % y un beneficio/ costo de 1,97 \$; razones suficientes para la utilización de cúrcuma como promotor de crecimiento en la alimentación de cuyes, recomendando a la vez realizar nuevas investigaciones con el empleo de Cúrcuma en diferentes niveles a los ya utilizados donde se realice pruebas de carácter organolépticas de la carne de los cobayos, a fin de determinar si existe diferencias con relación a la alimentación tradicional.

PALABRAS CLAVE: cuyes; Cúrcuma; alimentación; parámetros productivos; alfalfa.

EFFECT OF DIFFERENT LEVELS OF TURMERIC (*Curcuma longa*) ON THE PRODUCTIVE PERFORMANCE OF GUINEA PIGS (*Cavia porcellus*)

ABSTRACT: The present investigation was carried out in the San Miguel Canton of the Bolívar Province and had as objective to evaluate the effect of the use of different levels of turmeric (*Curcuma longa*) as a natural growth promoter in the diet of guinea pigs (*Cavia porcellus*) on the productive indices. 45 improved male guinea pigs of 4 weeks of age were used, which were evaluated for 10 weeks, under a mixed feeding system (Forage + Concentrate + Water). Three treatments with three repetitions and 5 experimental units per treatment were applied, giving a total of 45 animals, distributed under a Completely Random Design (DCA). The experimental results obtained were submitted to an Analysis of Variance for the differences (ANDEVA), and the comparison of Measurements according to Tukey at the significance levels of ($P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$). The productive parameters (Initial Weight, Final Weight, Live Weight Gain, Carcass Yield) were evaluated and the Cost Benefit analysis was carried out. The results indicate that the research started with homogeneous Initial Weights whose average weight was 450 grams, which allowed the research to be carried out without variability, in terms of the Initial Weight variable, Live Weight Gain, Carcass Yield, the best results were established in the treatment (Animals fed with an addition of turmeric at 1%) T2, with a final weight of 1087.40 grams, weight gain of 723.07 grams, yield to the carcass with 65.49% and a benefit / cost \$1.97; sufficient reasons for the use of turmeric as a growth promoter in the diet of guinea pigs, recommending at the same time to carry out new investigations with the use of turmeric at different levels to those already used where organoleptic tests of guinea pig meat are carried out, in order to determine if there are differences in relation to traditional food.

KEYWORDS: guinea pigs; turmeric; feeding; productive parameters; alfalfa.

1. INTRODUCCIÓN

El cuy o cobayo (*Cavia Porcellus*) es un mamífero herbívoro originario de los andes sudamericanos, de la zona de Perú, Ecuador, Bolivia y Colombia, representa una crianza fundamentada en la producción de carne debido a su alto nivel proteico y nutricional contribuyendo a la mejora de la dieta familiar (Francia, 2018).

El cobayo posee facilidad de adaptación a diferentes ecosistemas y sistemas de manejo, durante últimos años esta producción ha ido creciendo paulatinamente debido a su ciclo reproductivo a corto plazo, siendo así lo que hace llamativo a la formación

de microempresas familiares y brindando así seguridad económica y alimenticia a las comunidades rurales. Existen un promedio aproximado de 21 millones de cobayos, con una producción de 14'300 toneladas de carne de cuy al año, los que han sido suficientes para abastecer al mercado local (Francia, 2018).

En una producción de cuyes se llevan a cabo varias etapas entre las cuales están; selección de reproductores, empadre, gestación, parto, lactancia, destete, crianza y engorde. las etapas de crianza y engorde involucradas en este trabajo experimental se describen a continuación (Estrella, 2020).

Las instalaciones que se vayan a emplear deben satisfacer las necesidades de vida y producción de la especie, por lo que es fundamental diseñarlas de tal forma que permita controlar la temperatura, humedad, iluminación y circulación del viento. Para que la producción de cuyes sea rentable y sostenible, se debe planificar con anticipación, y antes de iniciar la crianza de cuyes, es necesario entender qué, cómo, dónde y qué se debe dedicar a este tipo de producción (Cando, 2021).

Para lograr que dichos cobayos obtengan buena producción y de la misma manera crezca rápidamente, los sistemas de alimentación y nutrición deberán cubrir los requerimientos en cada una de sus etapas tomando en cuenta que los nutrientes son sustancias que se encuentran en los alimentos y que el animal utiliza para mantenerse, crecer y reproducirse, los mismos que deberán ser suministrados en diferentes proporciones (Córdova, 2022).

En cualquier explotación pecuaria, la alimentación es fundamental porque un adecuado aporte de nutrientes favorece una buena producción. Como especie herbívora monogástrica, los cobayos tienen dos tipos diferentes de digestión: la digestión enzimática, que tiene lugar a nivel del estómago y el intestino delgado, y la digestión microbiana, que tiene lugar a nivel del ciego (Calapaqui & Mora, 2020).

Un nivel adecuado de compuestos como proteínas y carbohidratos ayuda al desarrollo productivo y reproductivo debido a que las proteínas son compuestos complejos que en el proceso digestivo se encarga de degradarlas para así generar aminoácidos los cuales son absorbidos y estos mismos se ensamblan para construirlas en proteínas en proteínas, que serán utilizadas en la construcción de tejidos como músculos, nervios y la piel. Los niveles de proteína bruta de dicha dieta no indican la calidad de las proteínas de los ingredientes, esto depende del nivel, equilibrio y la digestibilidad de los aminoácidos (Arias & Avilés, 2022).

El empleo de promotores de crecimiento afecta principalmente al status nutricional y fisiológico de los animales, buscando así mejorar su desempeño productivo,

logrando un desarrollo y crecimiento eficiente traducido a rentabilidad económica, los promotores de crecimiento en producción animal resulta importante porque constituye una herramienta eficaz para producir alimentos de forma más eficiente; además, de que mejoran los procesos metabólicos, modifican la fermentación ruminal, reducen la incidencia de problemas metabólicos y reducen la acumulación de grasa (Reinoso, 2016).

Los promotores de crecimiento se definen como compuestos orgánicos sintéticos, químicos o elementos inorgánicos que pueden ser utilizados como fuente de alimento o que a su vez ayudan a los animales a desarrollarse productivamente (Muñoz, 2021).

En la actualidad la utilización de promotores del crecimiento cabe mencionar que es un factor positivo para así mejorar el comportamiento los parámetros productivos y alcanzando buenos pesos finales. La cúrcuma es un alimento que hoy en la actualidad es utilizada como un promotor de crecimiento animal, permitiendo así de esta manera tener una relación entre los distintos componentes de la planta ya mencionada (Andrade, et al, 2022).

La cúrcuma es un alimento que se utiliza para promover naturalmente el crecimiento animal. Ayuda al mecanismo de acción al generar resistencia en los animales, lo que permite a los investigadores vincular los ingredientes activos de la planta con la acción y función del organismo animal. Se ha demostrado que el crecimiento y la salud de los conejillos de indias se benefician de fitobióticos como la cúrcuma (Ríos y Cuvi, 2020).

La cúrcuma es el extracto crudo y la curcumina es la sustancia purificada, ambos derivados de las raíces y tallos de la planta. La curcumina es un tinte amarillo oscuro (Muñoz 2021).

Los componentes principales de la cúrcuma es la curcumina (ácido turmérico) esta como se mencionó anteriormente es de color amarillo, insoluble en el agua, soluble en alcohol y éter; aceite esencial, almidón (entre un 30 y 40 %), resina, goma, aceite graso, oxalato de calcio (Saiz, 2014).

La cúrcuma se puede utilizar para tratar trastornos digestivos. Porque facilita y estimula la digestión adecuada de los alimentos, tiene propiedades antibacterianas, apoya la flora intestinal, también es un tónico digestivo clásico, estimulando la digestión, mientras apoya la coordinación muscular y apoya el intestino. trabajo intestinal coordinación muscular, esta acción facilita el transporte de sustancias a través del tracto digestivo y reduce la irritación de la pared intestinal (Carro & Ranilla, 2002).

La actividad proteolítica del rizoma de la cúrcuma se atribuye a la presencia de los péptidos sintéticos N-Cbz-Ile-Pro y N-Cbz-Phe-Leu así como de proteasas con alto

contenido en alamina y glutamato. Esta proteasa, que es del tipo cisteína, exhibió actividad antifúngica in vitro contra los hongos patógenos *Pythium aphanidermatum*, *Trichoderma viride* y *Fusarium sp.*, lo que indica una posible nueva opción de tratamiento para combatir infecciones relacionadas con dichos hongos (Laffita & Castillo, 2012).

Andrade et al. (2022) en su estudio sobre alimentación de cuyes con cúrcuma, evaluaron 0, 3 y 6 % de harina de cúrcuma, donde el 3 % presentó los mejores resultados: 999,3 g de peso final, 620,9 g de ganancia de peso, conversión alimenticia de 7,22, peso de canal de 710 g y rendimiento de 71,01 %. Además, se demostró que la inclusión de 3 % de harina de cúrcuma favoreció el comportamiento productivo y el rendimiento de canal de cuyes en engorde.

Guamán et al. (2023) trabajaron con 120 cuyes y 0; 0,6; 1,3 y 2,3 % de cúrcuma. El 1,3 % registró mayor peso final ($p < 0,001$) y tendencia a mayor rendimiento de canal (77 % frente a 73 % en control y T1); el 2,3 % logró el mejor índice de conversión, aproximadamente 2,4 frente a 3,6 del control. Se encontró una respuesta dependiente del nivel de inclusión, con ventajas productivas entre 1,3 y 2,3 % de *C. longa*.

Murillo et al. (2024) utilizaron cúrcuma a 10 g/kg de alimento (1 %) para la alimentación de cuyes. Aunque la canela obtuvo mayor ganancia y mejor conversión, la cúrcuma presentó el mayor rendimiento numérico de canal (67,55 %) y la mayor relación beneficio/costo (2,06), frente a 1,60 del control. Se determinó que la cúrcuma puede ser económicamente favorable como promotor fitogénico en cuyes.

Li et al (2023) evaluaron 50, 100 y 150 g/t de curcumina en conejos, donde la suplementación aumentó significativamente la ganancia de peso, digestibilidad de proteína, grasa y fibra, altura de vellosidades, actividades de amilasa/lipasa y porcentaje de canal. Se evidencio que 100 g/t es la dosis apropiada.

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto del uso de diferentes niveles de cúrcuma (*C. longa*) como promotor natural de crecimiento en la alimentación de cuyes (*C. porcellus*) sobre los índices productivos.

2. METODOLOGÍA

2.1. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE ESTUDIO

El trabajo de investigación se desarrolló en Ecuador, Provincia de Bolívar, en el Cantón San Miguel, Sector El Chasqui, ubicado a 3 km de la vía a Guaranda. La zona presenta un clima frío, con temperatura media de 16.5 °C, precipitación anual de 0.1 mm, humedad relativa de 78%, latitud de -1.7 S, longitud 1° 42' 0" Sur, 79° 1' 60" Oeste, altitud 2500 a 2600 m.s.n.m.

2.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

Se utilizó 45 Cobayos machos mejorados de 21 días de edad. Se empleó 2 tratamientos con suplementación a base de la Cúrcuma (*C. longa*) 0.5%/kg de alimento y 1%/kg de alimento como promotor natural de crecimiento incorporada a la dieta, frente a un tratamiento testigo.

2.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El desarrollo de la investigación fue de carácter Experimental, ya que nos permitió la manipulación consciente de las variables y observar el resultado o efecto de esta manipulación, frente a un tratamiento testigo y cuantificar la magnitud de respuesta.

2.4. TRATAMIENTOS

Tabla 1. Tratamientos aplicados en el experimento.

TRATAMIENTOS	COMPOSICIÓN DE LA DIETA
T0	300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal + Agua a voluntad
T1	300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 0.5% de cúrcuma/ kg de concentrado + Agua a voluntad
T2	300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 1% de cúrcuma / kg de concentrado+ Agua a voluntad

2.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El efecto del uso de los diferentes niveles de cúrcuma (*C. longa*) promotor natural de crecimiento en la alimentación de cuyes (*C. porcellus*) sobre los índices productivos, para ser comparada con un tratamiento testigo, bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA). Los resultados experimentales que se obtuvieron fueron sometidos a la Comparación de Medias según Tukey a los niveles de significancia de $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$.

2.6. MANEJO DEL EXPERIMENTO

2.6.1. Preparación de las jaulas

Dos semanas antes de la llegada de los cobayos se realizó la limpieza y desinfección de las jaulas utilizando Amonio cuaternario y Formaldehido en dosis de 5ml

por cada litro de agua, con la ayuda de una bomba de mochila se fumigo cada jaula que fueron destinadas para los cobayos. Tres días antes de la llegada se realizó el flameado de las jaulas para así disminuir el riesgo de alguna enfermedad de los cobayos, y que se encuentre en óptimas condiciones para su recepción.

2.6.2. Compra de los cobayos

Luego de identificado el lugar apropiado para la adquisición de los cobayos se trasladó a Ambato a la Parroquia Constantino Fernández a la propiedad del Sr. Marco Arguello, quien se dedica a la comercialización y explotación de los cobayos, los cuales fueron seleccionados para mi estudio, los cuales fueron entregados de 4 semanas de edad destetados y desparasitados.

2.6.3. Distribución de las unidades experimentales

Los animales dispuestos a la experimentación fueron distribuidos de acuerdo con el mapa de campo, con 45 animales distribuidos bajo un diseño completamente al azar en tres tratamientos con tres repeticiones y 5 animales por unidad experimental.

2.6.4. Codificación

Se procedió a etiquetar cada una de las jaulas con sus respectivos números de jaulas, tratamientos y repeticiones, utilizando hojas de papel plastificadas, con los siguientes códigos de evaluación: T0R1, T0R2, T0R3, T1R1, T1R2, T2R3, T2R1, T2R2, T2R3.

2.6.5. Recepción de los cobayos

En la fase de recepción se procedió a la toma del peso inicial y se procedió con la ubicación de los animales en cada unidad experimental para cumplir con la fase de cuarentena y seguir con la investigación.

2.6.6. Suministro de forraje

El forraje fue suministrado a razón de 3 veces por día (8 am, 1 pm y 6 pm) el cual se colocó en cada una de las jaulas durante toda la fase investigativa.

2.6.7. Suministro de Balanceado y Cúrcuma en polvo

Todos los días a las 8:00 am se les suministró Balanceado comercial “Avipaz”, añadiendo el porcentaje de cúrcuma correspondiente a cada tratamiento, con un promedio de 30 gramos de concentrado.

2.6.8. Suministro de agua

El suministro de agua se incorporó de acuerdo a las necesidades de los animales.

2.6.9. Manejo Biosanitario

Se realizó un manejo de bioseguridad de las instalaciones de forma diaria, con la limpieza y eliminación de desechos producidos en el experimento tanto en pisos como en las jaulas, seguido del proceso de desinfección de pisos con agua + cloro (10ml/20 litros de agua), para las desinfecciones más profundas se utilizó FULLTREX (Cada 100 ml contiene: Formól 20,0. Amonio Cuaternario 5,20. Alcohol Isopropílico 19,6. Sulfato de cobre 1 g.), en disolución de 5:10, las mismas que se realizaban cada 15 días para así evitar problemas de ácaros, piojos, pulgas, moscas, la disposición de un pediluvio al ingreso de las jaulas a fin de desinfectar el calzado.

2.6.10. Registros

Se llevaron registros semanales de los parámetros evaluados en la investigación.

3. RESULTADOS

3.1. GANANCIA DE PESO

En la variable ganancia de peso, según el ANDEVA se observa que los tratamientos fueron diferentes entre sí ($p < 0,05$). La media general fue 693,13 g y el coeficiente de variación 3,18 %.

Tabla 2. Análisis de varianza de la variable ganancia de peso.

FV	GL	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	2	8182,160000	4091,080000	8,443	0,0180
Error	6	2907,200000	484,533333		
Total, corregido	8	11089,360000			
CV (%) =	3,18				
Media general:		693,133333	Número de observaciones:	9	

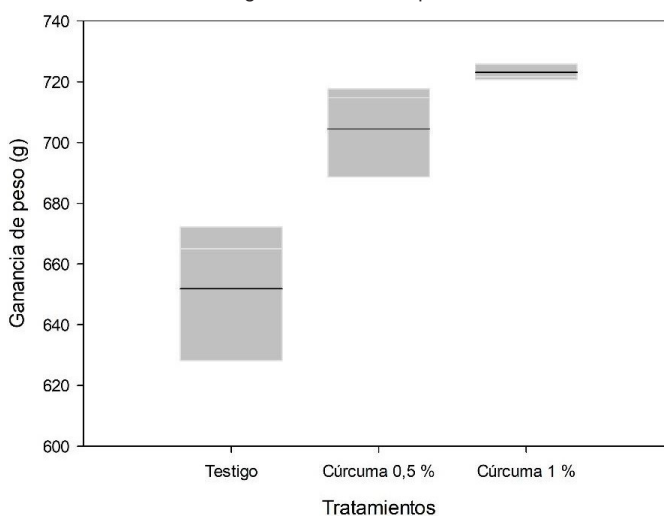
En la Tabla 3, según la comparación de media con la prueba de Tukey (0,05) se observa que la mayor ganancia de peso fue reportada en el T 2 con 723,07 g, seguido por T 1 con 704,47 g. Sin embargo, estos pesos no difieren entre sí ($p > 0,05$).

Tabla 3. Ganancia de peso de los animales estudiados.

Tratamientos	Ganancia de peso (g)	Tukey	
		(0,05)	(0,01)
T 0	651,87	b	ns
T 1	704,47	ab	ns
T 2	723,07	a	ns

T0: 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal + Agua a voluntad **T1:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 0.5% de cúrcuma/ kg de concentrado + Agua a voluntad **T2:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 1% de cúrcuma / kg de concentrado+ Agua a voluntad Medias seguidas con una letra común en la columna no son significativamente diferentes. **ns:** No significativo.

Figura 1. Ganancia de peso.



3.2. RENDIMIENTO A LA CANAL

Los valores registrados en esta variable no fueron diferentes entre tratamientos (Tabla 4), la media reportada fue 65,23 %, y el coeficiente de variación 2,22 %.

Tabla 4. Análisis de varianza de la variable rendimiento a la canal.

FV	GL	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	2	0,78	0,39	0,19	0,8346
Error	6	12,57	2,09		
Total, corregido	8	13,35			
CV (%) =	2,22				
Media general:	65,23	Número de observaciones:		9	

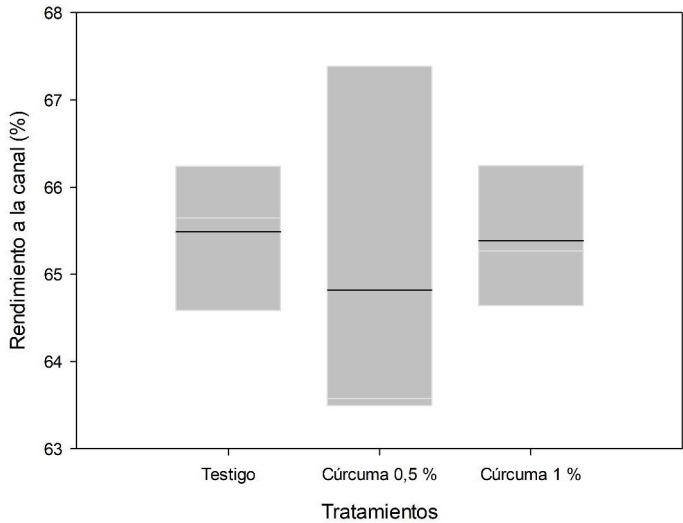
En la Tabla 5 se observa que los valores reportados en esta variable no fueron diferentes entre sí ($p>0,05$). Es decir, tanto el T 0 como el T 2 presentaron los mayores valores T 0. Sin embargo, no presentaron diferencia significativa con el T 1.

Tabla 5. Rendimiento a la canal de los animales estudiados.

Tratamientos	Rendimiento a la canal (%)	Tukey	
		(0,05)	(0,01)
T 0	64,82	ns	ns
T 1	65,39	ns	ns
T 2	65,49	ns	ns

T0: 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal + Agua a voluntad **T1:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 0.5% de cúrcuma/ kg de concentrado + Agua a voluntad **T2:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 1% de cúrcuma / kg de concentrado+ Agua a voluntad. Medias seguidas con una letra común en la columna no son significativamente diferentes. **ns:** No significativo.

Figura 2. Rendimiento a la canal.



3.3. CONVERSIÓN ALIMENTICIA

En la Tabla 6, el ANDEVA de la variable conversión alimenticia demuestra diferencia significativa ($p<0,05$) entre tratamientos. La media general fue 3,4 y el coeficiente de variación 2,82 %.

Tabla 6. Análisis de varianza de la conversión alimenticia.

FV	GL	SC	CM	F	P-valor
Tratamiento	2	0,101400	0,050700	5,531	0,0435
Error	6	0,055000	0,009167		
Total, corregido	8	0,156400			
CV (%)	2,82				
Media general	3,4000000	Número de observaciones: 9			

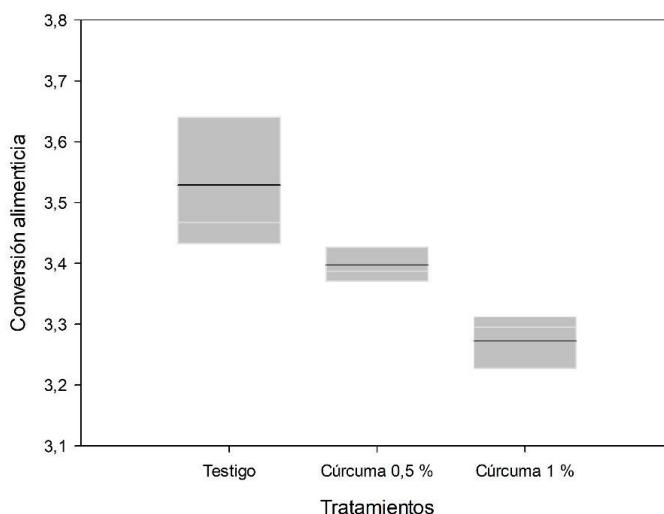
En la Tabla 7 se presentan las medias de los tratamientos estudiados. Según la comparación de media con la prueba de Tukey, la mayor relación entre consumo de alimentos y unidad de ganancia de peso fue reportada en el T 0 con 3,53. Este valor fue similar ($p>0,05$) a T 1 (3,40) y diferente ($p<0,05$) de T 2 (3,27).

Tabla 7. Conversión alimenticia de los animales estudiados.

Tratamientos	Conversión alimenticia (%)	Tukey	
		(0,05)	(0,01)
T 0	3,53	a	ns
T 1	3,40	ab	ns
T 2	3,27	b	ns

T0: 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal + Agua a voluntad **T1:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 0.5% de cúrcuma/ kg de concentrado + Agua a voluntad **T2:** 300g FV/día/UA en promedio por animal + 30g Concentrado en promedio por animal con el 1% de cúrcuma / kg de concentrado+ Agua a voluntad. Medias seguidas con una letra común en la columna no son significativamente diferentes. **ns:** No significativo.

Figura 3. Conversión alimenticia.



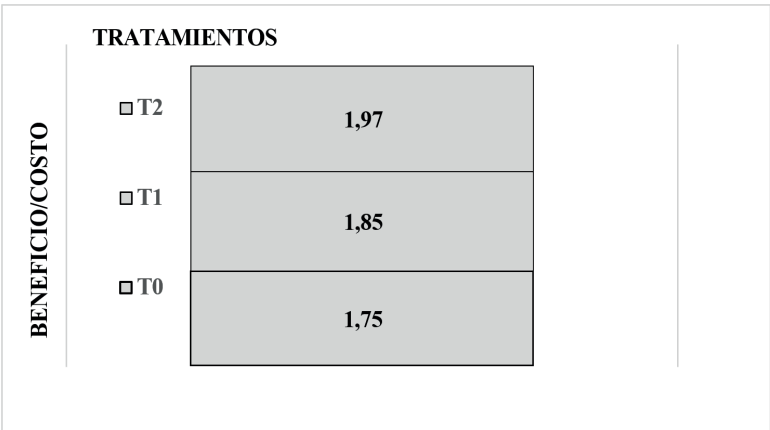
3.4. RELACIÓN BENEFICIO/COSTO

Tabla 8. Relación Beneficio/Costo.

TRATAMIENTOS	EGRESOS TOTALES	INGRESOS TOTALES	BENEFICIO/COSTO
T0	111,25	195	1,75
T1	113,25	210	1,85
T2	114,25	225	1,97

Según el análisis de relación Beneficio/Costo se pudo observar que el tratamiento con el que se obtuvo mayor ganancia fue el T2 (Animales alimentados con adición de cúrcuma al 1%) con \$1,97, seguido por el T1 (Animales alimentados con adición de cúrcuma al 0,5 %) con \$1,85 y finalmente el que tuvo menos rentabilidad fue el T0 (Tratamiento testigo) con \$1,75.

Figura 4. Relación costo beneficio.



4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permiten evidenciar que la incorporación de cúrcuma (*C. longa*) en la alimentación de cuyes durante la etapa de crecimiento y engorde produjo una respuesta favorable principalmente sobre la ganancia de peso, la conversión alimenticia y la relación beneficio/costo. En el experimento se emplearon niveles de 0,5 % y 1 % de cúrcuma, además de un tratamiento testigo, bajo un Diseño Completamente al Azar, lo cual permitió establecer el efecto de la suplementación sobre los parámetros productivos evaluados. En conjunto, los hallazgos sugieren que el nivel de 1 % presentó el comportamiento productivo más favorable, aunque no todas las variables mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

Respecto a la ganancia de peso, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0,018$), obteniéndose una media general de 693,13 g. El tratamiento T2, correspondiente a la inclusión de 1 % de cúrcuma, alcanzó la mayor ganancia con 723,07 g, seguido del T1 con 704,47 g y del tratamiento testigo con 651,87 g. La prueba de Tukey mostró que T2 se ubicó en el grupo de mayor respuesta, mientras que T0 presentó el valor inferior y T1 mantuvo un comportamiento intermedio. Estos resultados indican que la inclusión de cúrcuma hasta el nivel de 1 % puede favorecer el aprovechamiento de los nutrientes y traducirse en una mayor deposición de peso corporal.

Este comportamiento guarda concordancia con lo señalado por Andrade et al. (2022), quienes evaluaron niveles de 0, 3 y 6 % de harina de cúrcuma y encontraron que el 3 % produjo los mejores resultados productivos, alcanzando 620,9 g de ganancia de peso y 999,3 g de peso final. Los autores concluyeron que la inclusión de cúrcuma favoreció el comportamiento productivo de los cuyes en engorde. Aunque el nivel de inclusión utilizado por Andrade et al. (2022) fue superior al empleado en la presente investigación, ambos estudios coinciden en mostrar una respuesta favorable de los animales suplementados con cúrcuma. Esta diferencia en la dosis óptima puede estar relacionada con la composición de la dieta, el manejo, la edad de los animales y las condiciones particulares bajo las cuales se desarrolló cada experimento.

Los resultados también presentan similitud con los reportados por Guamán et al. (2023), quienes evaluaron niveles de 0; 0,6; 1,3 y 2,3 % de cúrcuma en 120 cuyes. En dicho estudio, el tratamiento con 1,3 % registró un mayor peso final, mientras que el nivel de 2,3 % presentó la mejor conversión alimenticia. La coincidencia entre ambos trabajos resulta relevante debido a que las concentraciones cercanas al 1 % comenzaron a expresar ventajas productivas. En la presente investigación, el 1 % fue suficiente para alcanzar la mayor ganancia de peso, lo que podría indicar que no necesariamente se requiere utilizar concentraciones elevadas para obtener una respuesta favorable; sin embargo, sería necesario evaluar niveles intermedios y superiores antes de establecer una dosis óptima definitiva.

En relación con el rendimiento a la canal, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0,8346$), con una media general de 65,23 %. Los valores fueron de 64,82 % para T0, 65,39 % para T1 y 65,49 % para T2. Aunque el tratamiento con 1 % de cúrcuma presentó el valor numéricamente superior, la diferencia fue reducida y no puede atribuirse estadísticamente al efecto de la suplementación. Por tanto, los resultados permiten afirmar que, bajo las condiciones estudiadas, la cúrcuma mejoró algunos parámetros de crecimiento, pero no modificó de manera significativa la proporción de rendimiento de la canal.

Este hallazgo coincide parcialmente con Murillo et al. (2024), quienes utilizaron 10 g de cúrcuma por kilogramo de alimento, equivalente aproximadamente al 1 %, y registraron con este aditivo el mayor rendimiento numérico de canal, con 67,55 %. La similitud entre ambos estudios radica en que el nivel de 1 % produjo una respuesta favorable desde el punto de vista numérico. Sin embargo, los resultados de la presente investigación muestran que esa ventaja no alcanzó significancia estadística. De manera semejante, Guamán et al. (2023) encontraron una tendencia a mayor rendimiento de canal con la suplementación, llegando aproximadamente al 77 % en determinados tratamientos. Esto indica que el efecto de la cúrcuma sobre el rendimiento de la canal podría ser más variable que su efecto sobre la ganancia de peso.

En cuanto a la conversión alimenticia, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p = 0,0435$). El tratamiento testigo registró una conversión de 3,53, el T1 presentó 3,40 y el T2 alcanzó 3,27. De acuerdo con la prueba de Tukey, T2 presentó una conversión significativamente inferior respecto de T0, mientras que T1 mostró un comportamiento intermedio. Debido a que una menor conversión alimenticia representa una mayor eficiencia en la utilización del alimento, estos resultados indican que los animales que recibieron 1 % de cúrcuma necesitaron proporcionalmente menos alimento para generar una unidad de ganancia de peso.

Esta respuesta coincide con lo observado por Guamán et al. (2023), quienes encontraron que la suplementación con 2,3 % de cúrcuma produjo la mejor conversión alimenticia, cercana a 2,4 frente a aproximadamente 3,6 en el grupo control. Asimismo, los resultados de Li et al. (2023) en conejos mostraron que la suplementación con curcumina incrementó la ganancia de peso y la digestibilidad de proteína, grasa y fibra, además de mejorar la morfología intestinal y la actividad de enzimas digestivas. Aunque esta última investigación corresponde a una especie diferente y utilizó curcumina en lugar de cúrcuma íntegra, aporta evidencia que permite plantear que los compuestos activos de la planta podrían mejorar el aprovechamiento de los nutrientes y, consecuentemente, la eficiencia alimenticia. Esta comparación debe realizarse con cautela debido a las diferencias de especie, dosis y presentación del producto utilizado.

Desde la perspectiva económica, los resultados también favorecieron al tratamiento con mayor inclusión de cúrcuma. La relación beneficio/costo aumentó progresivamente desde 1,75 en el tratamiento testigo hasta 1,85 con 0,5 % y 1,97 con 1 % de cúrcuma. Esto demuestra que el incremento en el costo derivado de incorporar cúrcuma a la dieta fue compensado por una mayor respuesta productiva y por los ingresos generados. El resultado coincide con Murillo et al. (2024), quienes reportaron una relación beneficio/

costo de 2,06 para la dieta suplementada con cúrcuma, frente a 1,60 obtenida en el tratamiento control. La cercanía entre los resultados económicos de ambos estudios fortalece la posibilidad de considerar la cúrcuma como una alternativa económicamente viable dentro de los promotores naturales empleados en la producción de cuyes.

5. CONCLUSIONES

Los parámetros productivos como Peso Final, Ganancia de Peso Vivo y Conversión Alimenticia se obtuvieron con T2 (1187,40g; 723,07g y 3,27), seguido por T1 (1176,07g, 704,47g y 3,40) y finalmente T0 (1083,27g, 651,87g y 3,53) respectivamente.

Para la variable Rendimiento a la Canal el mejor tratamiento fue con T2 (65,49 %) seguido por T1 (65,39 %) y finalmente T0 (64,82 %).

En cuanto al indicador Beneficio/ Costo el T2 fue el que registró la mejor respuesta desde el punto de vista económico con 1.97 \$.

Se recomienda investigar si el empleo de Cúrcuma afecta en las características organolépticas de la carne de los cobayos, para de esta manera verificar la generación del valor agregado de esta proteína de origen animal.

Difundir los resultados obtenidos en la presente investigación a nivel de grandes y pequeños productores, para que se aprovechen la utilización de aditivos alternativos orgánicos existentes en el mercado como promotores naturales de crecimiento, los cuales permiten obtener mayor beneficio en la explotación de cobayos.

BIBLIOGRAFÍA

Alcázar Peix, J. F. (1997). *Bases para la alimentación animal y la formulación manual de raciones*. Producciones Gráficas Génesis.

Andrade Yucailla, V., Ríos-Arias, D., Cui-Gamboa, C., Acosta-Lozano, N., Pinos, N. Q., & Masaquiza, D. (2022). Comportamiento productivo de *Cavia porcellus* en la fase de engorde con la inclusión de *Curcuma longa* como promotor de crecimiento. *Revista UTCiencia*, 8(3), 92–102. <https://investigacion.utc.edu.ec/index.php/utciencia/es/article/view/372>

Arias Bonilla, R. A., & Avilés Aguilar, S. M. (2022). *Valoración de la eficiencia reproductiva de cobayos mediante tres cruces entre la línea Perú, Inti y Andina, en la Granja Experimental Laguacoto II* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal de Bolívar]. Repositorio Digital de la Universidad Estatal de Bolívar. <https://dspace.ueb.edu.ec/items/49c09f8c-1e5b-44f9-a83e-0fbb9f3ee021>

Calapaqui Gaibor, K. G., & Mora García, E. R. (2020). *Evaluación de la digestibilidad de la harina de sangre bovina en cobayos en las fases de crecimiento y engorde* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal de Bolívar]. Repositorio Digital de la Universidad Estatal de Bolívar. <https://dspace.ueb.edu.ec/items/901b0011-2f95-4781-8e4f-66411a2a399a>

Cando Morán, J. F. (2021). *Efecto de los alimentos germinados para cuyes durante la etapa de crecimiento y engorde en el cantón Chaco, provincia de Napo* [Tesis de pregrado, Escuela Superior

- Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15640>
- Carro, M. D., & Ranilla, M. J. (2002). *Los aditivos antibióticos promotores del crecimiento de los animales: Situación actual y posibles alternativas*. Albéitar. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/01-aditivos_antibioticos_promotores.pdf
- Clapé Laffita, O., & Alfonso Castillo, A. (2012). Avances en la caracterización farmacotóxica de la planta medicinal *Curcuma longa* Linn. *MEDISAN*, 16(1), 97-114. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000100013
- Córdova Sailema, C. S. (2022). *Evaluación de la digestibilidad in vivo de tres especies de forraje verde hidropónico en cobayos de engorde* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal de Bolívar]. Repositorio Digital de la Universidad Estatal de Bolívar. <https://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/4181>
- Estrella Toledo, F. E. (2022). *Evaluación de diferentes niveles de fibra en la digestibilidad de cuyes (Cavia porcellus)* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17084>
- Garrido Paredes, H. D. (2018). *Utilización de Zingiber officinale (jengibre) como promotor de crecimiento en la alimentación de conejos de raza neozelandés en la etapa de crecimiento-engorde* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/8145>
- Guamán-Rivera, S. A., Herrera-Feijoo, R. J., Ruiz-Sánchez, C. I., & Correa-Salgado, M. de L. (2023). Concentración lipídica y respuestas productivas de cuyes (*Cavia porcellus*) suplementados con cúrcuma (*Curcuma longa*). *Código Científico Revista de Investigación*, 4(1), 787-807. <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v4/n1/145>
- Li, S., Wu, F., Zhao, M., Chen, B., & Chen, X. (2023). Effects of curcumin on the growth performance, apparent nutrient digestibility, intestinal morphology, digestive enzyme activity, and antioxidant capacity of meat rabbits. *Italian Journal of Animal Science*, 22(1), 222-229. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2178342>
- Muñoz Chela, A. D. (2021). *Promotores naturales de crecimiento en la producción de conejos* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15618>
- Murillo Cano, K. B., Arellano Gómez, J. J., Zambrano Moreira, R. R., & Calderón Tobar, Á. D. R. (2024). Valoración de los promotores de crecimiento naturales en la alimentación de cuyes (*Cavia porcellus*) para la eficiencia de los parámetros productivos. *Conocimiento Global*, 9(3), 263-277. <https://doi.org/10.70165/cglobal.v9i3.462>
- Reinoso, A. (2016). *Evaluación de la lincomicina como promotor de crecimiento de cuyes en la fase de crecimiento-engorde* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5383>
- Ríos Arias, D. M., & Cuvi Gamboa, C. T. (2020). *Evaluación de diferentes niveles de cúrcuma (Curcuma longa) como promotor de crecimiento para la alimentación de cuyes (Cavia porcellus)* [Tesis de pregrado, Universidad Estatal Amazónica]. Repositorio Digital de la Universidad Estatal Amazónica. <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/635>
- Saiz de Cos, P. (2014). Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca (Biología. Serie Botánica)*, 7(2), 84-99. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/27836/1/C%C3%9ARCUMA%20%20Paula%20Saiz.pdf>

CAPÍTULO 12

BIENESTAR ANIMAL EN GALLINAS PONEDORAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN PISO Y PASTOREO EN EL MAGDALENA MEDIO SANTANDEREANO¹

Data de submissão: 09/09/2026

Data de aceite: 21/09/2026

Yazmin Andrea Calvo Rodríguez

Instituto Universitario de la Paz-Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Barrancabermeja-Santander-Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-4182-5792>

Darwin Antonio García Rojas

Instituto Universitario de la Paz-Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Barrancabermeja-Santander-Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-9749-0055>

Elkin Orlando Romero Cárdenas

Instituto Universitario de la Paz-Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Barrancabermeja-Santander-Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-1062-3354>

Neidy Canchila Roa

Instituto Universitario de la Paz-Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Barrancabermeja-Santander-Colombia
<https://orcid.org/0009-0000-9124-6716>

Ricci Terraza Martínez

Instituto Universitario de la Paz-Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Barrancabermeja-Santander-Colombia
<https://orcid.org/0000-0001-8693-1276>

RESUMEN: El objetivo principal de este trabajo consistió en evaluar el bienestar animal en cuanto a la libertad de dolor, lesión y/o enfermedad en gallinas ponedoras sometidas a dos sistemas de producción semi-intensivo: piso y pastoreo. La investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Santa Lucía UNIPAZ. Se seleccionaron al azar 240 gallinas criollas del género *Gallus domesticus*, distribuidas en dos grupos de 120 animales con tres réplicas de 40 gallinas cada una. El grupo 1 estuvo en sistema de pastoreo (4 horas diarias, densidad 3 gallinas/m²) y el grupo 2 en sistema de piso (densidad 6 gallinas/m²), durante 60 días más 15 días de adaptación. Se evaluaron los indicadores: condición del plumaje, lesiones por canibalismo, lesiones en patas y mortalidad, mediante estadística no paramétrica (Chi cuadrado y comparación de proporciones, SPSS 21.0). Los resultados demostraron que el sistema de pastoreo presentó mejores indicadores de bienestar: condición buena del plumaje (69,6%), ausencia de lesiones por canibalismo (96,8%), ausencia de lesiones en patas (98,3%) y mortalidad (0%). El sistema de piso mostró menor desempeño: condición buena del plumaje (11,4%), ausencia

¹ Capítulo derivado a partir de la presentación del resumen titulado "Bienestar Animal en Gallinas Ponedoras en Sistemas de Producción Piso y Pastoreo en el Magdalena Medio Santandereano, presentado en el XVIII Encuentro Nacional y XI Internacional de Investigadores de las Ciencias Pecuarias-ENICIP 2025. Financiación a través de la convocatoria interna institucional para el fortalecimiento de la investigación, desarrollo tecnológico, innovación e investigación-creación en el Instituto Universitario de la Paz UNIPAZ 2024-2025. No se declaran conflictos de interés.

de lesiones por canibalismo (87,9%), ausencia de lesiones en patas (83,6%) y mortalidad (0,1%). Se concluye que el sistema de pastoreo favorece significativamente la libertad de dolor, lesión y/o enfermedad en gallinas ponedoras, constituyendo una alternativa viable para mejorar el bienestar animal en producciones avícolas.

PALABRAS CLAVE: bienestar animal; gallinas ponedoras; sistema de piso; sistema de pastoreo; cinco libertades.

ANIMAL WELFARE OF LAYING HENS IN FLOOR AND PASTURE-BASED PRODUCTION SYSTEMS IN THE MAGDALENA MEDIO REGION OF SANTANDER

ABSTRACT: The main objective of this work was to evaluate animal welfare in terms of freedom from pain, injury and/or disease in laying hens subjected to two semi-intensive production systems: floor and grazing. The research was carried out at the Santa Lucía UNIPAZ Research center. A total of 240 Creole hens of the genus *Gallus domesticus* were randomly selected and distributed into two groups of 120 animals with three replicates of 40 hens each. Group 1 was kept in a grazing system (4 hours/day, density 3 hens/m²) and group 2 in a floor system (density 6 hens/m²) for 60 days plus 15 adaptation days. Welfare indicators evaluated included plumage condition, cannibalism injuries, foot lesions, and mortality, using non-parametric statistics (Chi-square and proportion comparison, SPSS 21.0). Results showed that the grazing system presented better welfare indicators: good plumage condition (69.6%), absence of cannibalism injuries (96.8%), absence of foot lesions (98.3%), and mortality (0%). The floor system showed lower performance: good plumage condition (11.4%), absence of cannibalism injuries (87.9%), absence of foot lesions (83.6%), and mortality (0.1%). It is concluded that the grazing system significantly favors freedom from pain, injury and/or disease in laying hens, representing a viable alternative to improve animal welfare in poultry production.

KEYWORDS: animal welfare; laying hens; floor system; grazing system; five freedoms.

1. INTRODUCCIÓN

El bienestar animal en gallinas ponedoras constituye un eje fundamental en los sistemas de producción avícola modernos, especialmente en un contexto donde la demanda de proteína de origen animal continúa en aumento y los estándares éticos de producción son cada vez más exigentes. En Colombia, la avicultura es uno de los sectores agropecuarios más dinámicos. La producción de huevos es una actividad de relevancia económica y social significativa.

Se ha documentado que los sistemas de producción influyen sobre indicadores de salud como condición del plumaje, lesiones por canibalismo, estado de las patas e índices de mortalidad (Nielsen SS, 2023). El sistema de pastoreo ha demostrado ofrecer ventajas en términos de bienestar al permitir a las aves acceso a espacios abiertos, alimentación variada y la posibilidad de expresar conductas naturales.

Este capítulo analiza la influencia de los sistemas de producción de piso y pastoreo sobre la libertad de dolor, lesión y/o enfermedad en gallinas ponedoras criollas, a partir de una investigación realizada en el Centro de Investigación Santa Lucía del Instituto Universitario de la Paz (UNIPAZ), en Barrancabermeja, Colombia. Los hallazgos presentados contribuyen al cuerpo de conocimiento sobre bienestar avícola en condiciones tropicales y aportan evidencia empírica para la toma de decisiones en sistemas de producción sostenibles.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. BIENESTAR ANIMAL: CONCEPTOS Y FUNDAMENTOS

El bienestar animal es un concepto multidimensional que ha evolucionado significativamente desde sus primeras formulaciones. Broom (1986, citado por Alina, 2011) lo define como el estado en que un animal afronta las condiciones de su entorno, Hughes (1976, citado por Alija, 2011) lo concibe como un estado de completa salud mental y física en el que el animal se encuentra en armonía con su ambiente. Actualmente esta definición incluye dimensiones afectivas y cognitivas, reconociendo que los animales no solo experimentan estados físicos sino también emocionales (Mellor, 2020).

Las cinco libertades del bienestar animal, formuladas originalmente por el Comité Brambell y posteriormente adoptadas por el Farm Animal Welfare Council (FAWC), son el marco de referencia más ampliamente utilizado para evaluar el bienestar en animales de producción. En el contexto avícola, estas libertades adquieren una dimensión práctica concreta, dado que cada una de ellas puede ser operacionalizada a través de indicadores medibles y observables en las condiciones de alojamiento y manejo de las aves.

La libertad de dolor, lesión y/o enfermedad, implica la prevención de enfermedades y lesiones mediante diagnóstico oportuno, tratamiento adecuado y condiciones de alojamiento que minimicen los riesgos físicos para los animales. En gallinas ponedoras, esta libertad se evalúa a través de la condición del plumaje, lesiones por canibalismo o picaje, estado de las almohadillas plantares y dedos, e índices de mortalidad (Bilçik & Keeling, 2000).

2.2. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AVÍCOLA Y SU RELACIÓN CON EL BIENESTAR

Los sistemas de producción avícola se clasifican en intensivos y extensivos. Los sistemas intensivos incluyen la producción en jaulas y piso, los sistemas extensivos comprenden el pastoreo y la producción ecológica. Cada sistema genera condiciones particulares de alojamiento que inciden sobre el bienestar de las aves (Elson, 2015).

El sistema en piso se caracteriza por mantener a las aves confinadas dentro de un galpón, sobre una cama de material absorbente como viruta, cascarilla de arroz o aserrín. Aunque este sistema ofrece mayor libertad de movimiento que las jaulas convencionales, las altas densidades poblacionales y las condiciones de confinamiento generan situaciones de estrés, competencia por recursos y deterioro de la salud física de las aves. Las gallinas mantenidas en sistemas de piso presentan mayores tasas de lesiones en las almohadillas plantares, mayor prevalencia de picaje y canibalismo, y peores condiciones del plumaje en comparación con sistemas de pastoreo (Lay, y otros, 2011).

El sistema de pastoreo permite a las aves acceder a espacios abiertos donde pueden expresar comportamientos como el forrajeo, baño de polvo, picoteo del suelo y exploración del entorno. Estos comportamientos afectan positivamente el bienestar físico y psicológico de las aves, reduciendo los niveles de estrés y la incidencia de comportamientos anómalos. La exposición a la luz solar natural, la alimentación variada y el ejercicio físico contribuyen al fortalecimiento del sistema inmunológico y a la mejora de la condición corporal general (Shields, Shapiro, & Rowan, 2017).

2.3. INDICADORES DE BIENESTAR EN GALLINAS PONEDORAS

La evaluación del bienestar animal en gallinas ponedoras requiere el uso de indicadores objetivos que permitan comparar las condiciones de diferentes sistemas productivos. Los indicadores más utilizados son:

Condición del plumaje: Un plumaje en buen estado refleja ausencia de estrés crónico, adecuada nutrición y baja prevalencia de comportamientos de picaje. El deterioro del plumaje se asocia a condiciones de hacinamiento, estrés social y deficiencias nutricionales (Nielsen SS, 2023).

Lesiones por canibalismo: Es un comportamiento anómalo desencadenado por el estrés, alta densidad poblacional, falta de enriquecimiento ambiental y deficiencias nutricionales. Las lesiones resultantes comprometen seriamente la salud y bienestar de las aves afectadas (Michel V, 2022).

Lesiones en las patas, incluyendo las alteraciones de las almohadillas plantares (pododermatitis) y las deformaciones de los dedos, son frecuentemente utilizados para evaluar el impacto del sistema de alojamiento sobre la salud física de las aves. La humedad excesiva de la cama, superficies abrasivas y falta de ejercicio son factores predisponentes para el desarrollo de estas lesiones (Lay, y otros, 2011).

Mortalidad: indicador extremo del bienestar animal, refleja las condiciones críticas de salud en una población avícola. Si bien una mortalidad baja no garantiza por sí sola un buen nivel de bienestar, tasas elevadas indican problemas graves de manejo, sanidad o condiciones de alojamiento inadecuadas.

3. METODOLOGÍA

3.1. UBICACIÓN DEL ESTUDIO

La investigación se realizó en el núcleo académico y de investigación de aves del Centro de Investigación Santa Lucía, propiedad del Instituto Universitario de la Paz (UNIPAZ). Las coordenadas geográficas del sitio son: latitud 7° 03' 48", longitud 73° 55' 50", con una altitud de 75,94 m s.n.m., humedad relativa del 77% y temperatura promedio de 32°C.

3.2. ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se seleccionaron al azar 240 gallinas ponedoras de línea criolla del género *Gallus domesticus*, subespecie *morus* y subespecie *ecaudatus*. Los animales fueron distribuidos en dos grupos de 120 gallinas cada uno, subdivididos en tres réplicas (R1, R2, R3) de 40 animales. Todos los animales fueron sometidos a un período de adaptación de 15 días y un protocolo de vacunación.

Los tratamientos evaluados fueron:

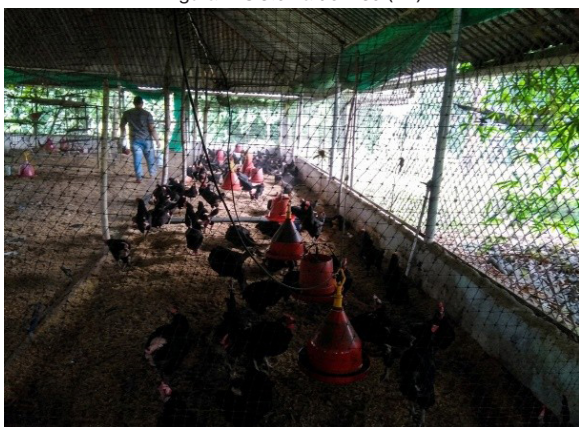
- **T1:** Sistema de producción en pastoreo (4 horas diarias, de 6:00 a 10:00 a.m., en tres potreros de 13,33 m² con densidad de 3 gallinas/m²).
- **T2:** Sistema de producción en piso (confinamiento continuo en tres corrales de 6,6 m² con densidad de 6 gallinas/m²).

La duración del experimento fue de 60 días. La alimentación en ambos grupos se basó en concentrado comercial marca ITALCOL, líneas ponedoras (Prepico 100 ®), suministrado a ración según tabla de alimentación por peso, con agua a voluntad. El grupo de pastoreo complementó su dieta con gramas naturales, leguminosas y arvenses disponibles en los potreros.

Figura 1. Sistema de Pastoreo (T1).



Figura 2. Sistema de Piso (T2).



3.3. VARIABLES EVALUADAS

Se evaluaron los siguientes indicadores de la libertad de dolor, lesión y/o enfermedad, tomando el 10% de los animales de cada réplica:

- **Condición del plumaje:** evaluación semanal con escala cualitativa (buena, regular, crítica, muy crítica), considerando las regiones del cuello, cabeza, puntas de alas y cola (Appleby MC, 1993).
- **Lesiones por canibalismo:** evaluación diaria con escala numérica (0: sin lesión; 1: lesión leve; 3: lesión crítica; 5: lesión muy crítica), observando pechugas, cloacas, crestas, alas y ojos.
- **Lesiones en patas:** evaluación diaria con la misma escala numérica, observando almohadillas plantares y dedos.
- **Mortalidad:** registro diario, calculado con la fórmula: $\% \text{ mortalidad} = (\text{N}^\circ \text{ aves muertas} \div \text{N}^\circ \text{ aves iniciales}) \times 100$.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis mediante estadística no paramétrica utilizando el programa SPSS versión 21.0. Para las variables condición del plumaje, lesiones por canibalismo y lesiones en patas se aplicó la prueba de Chi cuadrado de Pearson para determinar la asociación con el sistema de producción, y el coeficiente de contingencia (V de Cramer y Phi) para establecer el grado de asociación. Para la variable mortalidad se utilizó la prueba de comparación de proporciones.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CONDICIÓN DEL PLUMAJE

Los resultados obtenidos para la condición del plumaje evidenciaron diferencias entre los dos sistemas de producción evaluados. En el sistema de pastoreo, el 69,6% de las aves (501 de 720 observaciones) presentó condición buena del plumaje, en el sistema de piso este porcentaje fue del 11,4% (82 de 720 observaciones). Las condiciones crítica y muy crítica del plumaje fueron más frecuentes en el sistema de piso, con porcentajes del 46,3% y 12,2% respectivamente, frente al 2,9% y 0,1% registrados en el sistema de pastoreo.

La prueba de Chi cuadrado de Pearson confirmó la existencia de una asociación estadísticamente significativa entre el sistema de producción y la condición del plumaje 662,128 (gl=3, $p<0,001$). El coeficiente V de Cramer fue de 0,678, indicando una asociación moderada y directamente proporcional entre ambas variables, lo que significa que el sistema de pastoreo favorece la condición del plumaje.

Figura 3. Aspecto y Condición del Plumaje.



Tabla 1. Tabulación cruzada de condición del plumaje por sistema de producción.

Condición del Plumaje	Piso (n)	Piso (%)	Pastoreo (n)	Pastoreo (%)	Total (n)
Buena	82	11,4%	501	69,6%	583
Regular	217	30,1%	197	27,4%	414
Crítica	333	46,3%	21	2,9%	354
Muy crítica	88	12,2%	1	0,1%	89
Total	720	100%	720	100%	1440

Los resultados son consistentes con los hallazgos reportados por Romano et al 2025, quienes evaluaron gallinas Lohmann Brown en sistema free-range y no registraron ninguna incidencia de lesiones en el plumaje, concluyendo que el acceso al exterior resulta satisfactorio en términos de confort y bienestar. Fiorilla et al 2024, al comparar gallinas criollas (autóctonas) con una línea comercial híbrida en distintos sistemas de alojamiento, encontraron que el tipo de sistema (housing system) tuvo un efecto significativo sobre los patrones de comportamiento y la condición del plumaje, siendo este resultado relevante para el presente estudio dado que también se trabajó con gallinas criollas *Gallus domesticus*. El deterioro del plumaje observado en el sistema de piso puede atribuirse a la mayor densidad poblacional, la restricción del espacio y la limitación para expresar comportamientos naturales, factores que generan estrés crónico y aumentan la frecuencia de comportamientos agonísticos entre las aves.

4.2. LESIONES POR CANIBALISMO

En cuanto a las lesiones por canibalismo, el sistema de pastoreo mostró mejores indicadores de bienestar. El 96,8% de las aves en pastoreo (697 de 720 observaciones) no presentó lesiones por canibalismo, frente al 87,9% (633 de 720 observaciones) en el sistema de piso. Las lesiones leves fueron más frecuentes en el sistema de piso (9,4%) que en pastoreo (2,6%). Las lesiones críticas fueron más prevalentes en piso (2,5%) que en pastoreo (0,6%). En el sistema de pastoreo no se registraron casos de lesión muy crítica, en el sistema de piso se presentó un caso (0,1%).

Figura 4. Lesiones por Canibalismo.



Tabla 2. Tabulación cruzada de lesiones por canibalismo por sistema de producción.

Lesión por Canibalismo	Piso (n)	Piso (%)	Pastoreo (n)	Pastoreo (%)	Total (n)
Sin lesión	633	87,9%	697	96,8%	1330
Lesión leve	68	9,4%	19	2,6%	87
Lesión crítica	18	2,5%	4	0,6%	22
Lesión muy crítica	1	0,1%	0	0,0%	1
Total	720	100%	720	100%	1440

La prueba de Chi cuadrado arrojó un valor de 40,586 ($gl=3$, $p<0,001$), confirmando la asociación estadísticamente significativa entre el sistema de producción y las lesiones por canibalismo. El coeficiente V de Cramer fue de 0,168, indicando una asociación baja, lo que sugiere que el sistema de producción influye levemente sobre la aparición de lesiones por canibalismo.

Putt et al. (2025), en su estudio sobre la producción australiana de huevos cage-free, documentan que los brotes severos de picaje de plumas y canibalismo ocurren en sistemas free-range cuando el manejo no es adecuado, señalando que el acceso al exterior por sí solo no garantiza la ausencia de estos comportamientos anómalos si no se acompaña de buenas prácticas de manejo (control de densidad, enriquecimiento ambiental y manejo de la luz). Este hallazgo es coherente con los resultados del presente estudio, donde el sistema de pastoreo, aunque significativamente superior, tampoco alcanzó el 100% de ausencia de lesiones (96,8%), lo que sugiere que otros factores de manejo continúan interviniendo. Denis et al. (2025), al comparar colonias enriquecidas vs sistemas de aviario (piso de múltiples niveles) en granjas comerciales canadienses, encontraron que el daño general al plumaje no mostró diferencias significativas entre ambos sistemas cuando

se consideraron todas las edades combinadas, aunque sí se observó mayor daño en la región cloacal en colonias enriquecidas. Esto indica que la relación entre sistema de alojamiento y canibalismo/picaje es más compleja de lo que sugiere una comparación simple piso-pastoreo, dependiendo también de la región corporal evaluada y el manejo específico de cada granja.

La mayor prevalencia de lesiones por canibalismo en el sistema de piso del presente estudio puede explicarse por la interacción entre la densidad poblacional, el estrés social y la limitación del espacio, factores ampliamente documentados en la literatura contemporánea sobre bienestar avícola.

4.3. LESIONES EN LAS PATAS

Los resultados para lesiones en las patas mostraron diferencias marcadas entre los dos sistemas evaluados. En el sistema de pastoreo, el 98,3% de las aves (708 de 720 observaciones) no presentó lesiones en las patas y el 1,7% (12 aves) mostró lesiones leves. No se registraron casos de lesión crítica ni muy crítica en el sistema de pastoreo. En el sistema de piso el 83,6% de las aves (602 de 720) no presentó lesiones, el 11,9% (86 aves) mostró lesiones leves, el 4,0% (29 aves) presentó lesiones críticas y el 0,4% (3 aves) lesiones muy críticas.

Tabla 3. Tabulación cruzada de lesiones en patas por sistema de producción.

Lesiones en Patas	Piso (n)	Piso (%)	Pastoreo (n)	Pastoreo (%)	Total (n)
Sin lesión	602	83,6%	708	98,3%	1310
Lesión leve	86	11,9%	12	1,7%	98
Lesión crítica	29	4,0%	0	0,0%	29
Lesión muy crítica	3	0,4%	0	0,0%	3
Total	720	100%	720	100%	1440

La prueba de Chi cuadrado arrojó un valor de 96,455 (gl=3, $p<0,001$), y el coeficiente V de Cramer fue de 0,259, indicando una asociación baja pero estadísticamente significativa entre el sistema de producción y las lesiones en las patas.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Romano et al. (2025), quienes no registraron ninguna incidencia de pododermatitis en gallinas Lohmann Brown mantenidas en sistema de pastoreo, bajo condiciones climáticas favorables dentro de la zona termoneutral. Uçar, Boz y Sarica (2023), trabajando con especies distintas (pavos reales/faisanes y gallinas de Guinea), encontraron que la humedad de la cama (litter moisture) fue significativamente menor en el sistema free-range, aunque esto no siempre

se tradujo en menor puntaje de dermatitis plantar (FPD) en todas las especies evaluadas, sugiriendo que la relación entre humedad de cama y lesión podal puede estar mediada por otros factores como la edad y la especie.

Figura 5. Lesiones en Patas.



Denis et al. (2025), encontraron que las gallinas alojadas en sistemas de aviario (piso de múltiples niveles) presentaron una probabilidad significativamente mayor de dermatitis plantar (FPD) y de fracturas de quilla en comparación con colonias enriquecidas (jaulas enriquecidas), un resultado que en principio parecería contradecir la superioridad esperada de los sistemas sin jaula. Este hallazgo matiza la conclusión general: no es la simple ausencia de jaula la que mejora la salud podal, sino específicamente el acceso a sustrato natural y espacio abierto tipo pastoreo, como el evaluado en el grupo T1 de esta investigación, y no cualquier sistema “alternativo” de piso o aviario. Esto refuerza la relevancia de distinguir, entre piso confinado y pastoreo genuino con acceso a potrero. Las lesiones podales observadas en el sistema de piso del presente estudio pueden atribuirse a la humedad de la cama, la falta de ejercicio y las superficies de alojamiento que no favorecen el desgaste natural de las garras.

4.4. MORTALIDAD

Los resultados fueron favorables en ambos sistemas, no obstante, en el sistema de piso se registró una sola muerte durante todo el período experimental, equivalente al 0,1% de la población. En el sistema de pastoreo no se registró ninguna muerte, con una mortalidad del 0%.

Tabla 4. Mortalidad por sistema de producción.

Sistema de Producción	Nº de muertes	% Mortalidad
Piso	1	0,1%
Pastoreo	0	0,0%

Los resultados son consistentes con las tendencias reportadas, donde los sistemas de pastoreo tienden a presentar menores tasas de mortalidad que los sistemas de confinamiento. Baugh (2026), evaluó cómo el diseño del sistema de aviario influye sobre la mortalidad y el picaje severo de plumas a largo plazo en gallinas en sistema de piso, encontrando que las diferencias de diseño dentro de un mismo tipo de sistema (aviario) pueden generar variaciones relevantes en las tasas de mortalidad, lo que sugiere que la mortalidad no depende únicamente de la categoría general del sistema (piso, aviario, pastoreo) sino también de decisiones específicas de diseño e manejo dentro de cada sistema. La baja mortalidad general registrada en ambos sistemas puede atribuirse al corto período experimental (60 días) y a las condiciones sanitarias controladas del centro de investigación.

5. CONCLUSIONES

El sistema de pastoreo demostró ser significativamente superior al sistema de piso en todos los indicadores de bienestar evaluados, confirmando que el acceso a espacios abiertos, la posibilidad de expresar comportamientos naturales y la menor densidad poblacional son factores determinantes para garantizar la libertad de dolor, lesión y/o enfermedad en gallinas ponedoras.

El sistema de piso genera condiciones que comprometen el bienestar animal al restringir el movimiento, incrementar el estrés social y favorecer la aparición de lesiones físicas. Los indicadores de salud obtenidos en este sistema fueron consistentemente inferiores a los del sistema de pastoreo, lo que sugiere la necesidad de implementar medidas de enriquecimiento ambiental y reducción de la densidad poblacional para mejorar el bienestar de las aves confinadas.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda considerar la implementación del sistema de pastoreo como alternativa viable para mejorar el bienestar animal y, potencialmente, la calidad de los productos obtenidos. Se recomienda evaluar el efecto de los sistemas de producción sobre parámetros productivos (producción de huevos, calidad del huevo, conversión alimenticia) y sobre otras libertades del bienestar animal. Se sugiere explorar estrategias

de enriquecimiento ambiental en sistemas de piso que contribuyan a mitigar los efectos negativos del confinamiento sobre el bienestar de las aves.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alina, A. S. (2011). Bienestar animal. *Vet México*, 137-142.

Appleby MC, S. S. (1993). Nesting, dust bathing and perching by laying hens in cages: effects of design on behaviour and welfare. *Br Poult Sci*, 34(5), 835-47. doi:doi: 10.1080/00071669308417644

Baugh, K. S. (2026). Influence of aviary design on measures of production, egg quality, mortality, floor eggs, feed delivery, and body weight. *Journal of Applied Poultry Research*, 35(2), 1-10. doi:https://doi.org/10.1016/j.japr.2026.100663

Bilčík, B., & Keeling, L. (2000). Relación entre el picoteo de plumas y el picoteo del suelo en gallinas ponedoras y el efecto del tamaño del grupo. *Ciencia aplicada del comportamiento animal*, 68(1), 55-66. doi:https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00089-7

Denis, E., Halander, A., Godbout, S., & Boulianne, M. (2025). Alternative housing systems have mixed impacts on health and welfare of laying hens. *Poultry Science*, 104(7), 1-8. doi:https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105235

Elson, H. (2015). Bienestar avícola en sistemas de producción intensivos y extensivos. *World's Poultry Science Journal*, 71(3), 449-460. doi:https://doi.org/10.1017/S0043933915002172

Fiorilla, E., Ozella, L., Sirri, F., Zampiga, M., Piscitelli, R., . . . Mugnai, C. (2024). Effects of housing systems on behaviour and welfare of autochthonous. *Applied Animal Behaviour Science*, 274, 1-9. doi:https://doi.org/10.1016/j.applanim.2024.106247

Guillén, D., Carné, L., Ferro, J., & Harguindeguy, G. (2015). *MANUAL DE BIENESTAR ANIMAL: UN ENFOQUE PRÁCTICO PARA EL BUEN MANEJO DE ESPECIES DOMÉSTICAS DURANTE SU TENENCIA, PRODUCCIÓN, CONCENTRACIÓN, TRANSPORTE Y FAENA*. Buenos Aires: SANESA.

Lay, D., Fulton, Hester, Karcher, Kjaer, Mench, . . . Porter. (2011). Bienestar de las gallinas en diferentes sistemas de alojamiento. *Ciencia avícola*, 90(1), 278-294. doi:https://doi.org/10.3382/ps.2010-00962

Mellor, D. B. (2020). El modelo de cinco dominios de 2020: Inclusión de las interacciones humano-animal en las evaluaciones del bienestar animal. *Animals*, 10(10), 1870. doi:https://doi.org/10.3390/ani10101870

Michel V, B. J. (2022). The Relationships between Damaging Behaviours and Health in Laying Hens. *Animals (Basel)*, 12(8), 986. doi:doi: 10.3390/ani12080986

Nielsen SS, Á. J.-B. (2023). Dictamen científico sobre el bienestar de las gallinas ponedoras en las granjas. *EFSA Journal*, 21(2), 188 pp. doi:https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7789

Putt, R. B. (2025). Huevos en el suelo en la producción australiana de huevos de gallinas criadas en libertad. *Animals*, 15(13), 1967. doi:https://doi.org/10.3390/ani15131967

Romano, G., Demattê, L., Nascimento, M., Dos Santos, E., Dela, G., Cyrillo, M., & Oliveira, K. (2025). Bienestar animal en sistemas de cría en libertad: Integración de aspectos ambientales, conductuales y fisiológicos en gallinas ponedoras Lohmann Brown. *Research, Society and Development*, 14(3), 1-22. doi:https://doi.org/10.33448/rsd-v14i3.48502

Shields, S., Shapiro, P., & Rowan, A. (2017). Una década de progreso hacia el fin del confinamiento intensivo de animales de granja en los Estados Unidos. *Animals*, 7(5), 40. doi:https://doi.org/10.3390/ani7050040

CAPÍTULO 13

EVALUATION OF A CHEMICALLY DEFINED EQUINE SEMEN EXTENDER FOR PROLONGED REFRIGERATED PRESERVATION OF BUCK SEMEN

Data de submissão: 21/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Olvido Blanco

Centro de Selección y
Reproducción Animal (CENSYRA)
Cam. Sta. Engracia, S/N, 06007
Badajoz, España

<https://orcid.org/0009-0002-0313-3952>

Andrés Domingo

Centro de Selección y
Reproducción Animal (CENSYRA)
Cam. Sta. Engracia, S/N, 06007
Badajoz, España

<https://orcid.org/0000-0002-0522-0438>

Carolina Silva

Escola Superior de Biociências de Elvas
Universidade Politécnica de Portalegre
Praça do Município 11, 7300-110
Portalegre, Portugal
VALORIZA – Research Centre for
Endogenous Resource Valorization
Portalegre Polytechnic University
Portalegre, Portugal

<https://orcid.org/0000-0002-9230-3919>

Elvira Matilla-Pinto¹

Escola Superior de Biociências de Elvas
Universidade Politécnica de Portalegre
Praça do Município 11, 7300-110
Portalegre, Portugal
VALORIZA – Research Centre for
Endogenous Resource Valorization
Portalegre Polytechnic University
Portalegre, Portugal

<https://orcid.org/0000-0001-6639-3300>

Andreia Agostinho

Escola Superior de Biociências de Elvas
Universidade Politécnica de Portalegre
Praça do Município 11, 7300-110
Portalegre, Portugal

Gema Vara

Centro de Selección y
Reproducción Animal (CENSYRA)
Cam. Sta. Engracia, S/N, 06007
Badajoz, España
<https://orcid.org/0009-0006-4363-6406>

Isaac Torrado

Centro de Selección y
Reproducción Animal (CENSYRA)
Cam. Sta. Engracia, S/N, 06007
Badajoz, España
<https://orcid.org/0009-0005-9308-928X>

¹ Corresponding author.

ABSTRACT: The preservation of refrigerated buck semen is an essential component of artificial insemination programmes, genetic improvement and the conservation of animal genetic resources. Although conventional extenders are widely used, information regarding chemically defined extenders for long-term liquid preservation of buck semen remains limited. This study evaluated the

effect of Beyond®, a chemically defined extender originally developed for stallion semen, on the quality of refrigerated semen from Florida and Verata bucks during 96 h of storage. Thirty semen ejaculates from 11 adult bucks were diluted in Beyond® and stored at 5 °C. Sperm quality was evaluated at 0, 24, 48, 72 and 96 h using a Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) system. The proportion of rapid progressive spermatozoa together with curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL) and average path velocity (VAP) were assessed. Data were analysed using a linear mixed-effects model with ejaculate included as a random effect. Storage time significantly affected all kinematic parameters and the proportion of rapid progressive spermatozoa ($P < 0.001$), whereas neither breed nor the breed $\times$ storage time interaction exerted significant effects. Curvilinear velocity remained comparatively stable throughout the storage period, while VSL and VAP gradually declined, suggesting that impairment of sperm movement efficiency precedes the complete loss of progressive motility. Despite these temporal changes, Beyond® maintained high levels of sperm motility and favourable kinematic characteristics throughout the 96-h refrigeration period. These findings indicate that chemically defined extenders such as Beyond® constitute a promising alternative for liquid preservation of buck semen and support their potential application in artificial insemination programmes aimed at improving reproductive efficiency while contributing to the conservation and dissemination of valuable caprine genetic resources, encouraging future in vitro and in vivo studies to validate and optimize its application under field conditions.

KEYWORDS: artificial insemination; buck semen; chemically defined extender; refrigerated storage; sperm kinematics.

AVALIAÇÃO DE UM DILUIDOR DE SÉMEN EQUINO QUIMICAMENTE DEFINIDO PARA A CONSERVAÇÃO REFRIGERADA PROLONGADA DE SÉMEN CAPRINO

RESUMO: A conservação de sémen caprino refrigerado constitui uma ferramenta essencial para a inseminação artificial, a disseminação do progresso genético e a preservação de recursos zoogenéticos. Apesar da ampla utilização de diluidores convencionais, a informação disponível sobre diluidores quimicamente definidos para a conservação prolongada de sémen caprino permanece limitada. O presente estudo avaliou o efeito do diluidor Beyond®, originalmente desenvolvido para sémen equino, na qualidade do sémen refrigerado de bodes das raças autóctones espanholas Florida e Verata durante 96 horas de armazenamento. Foram utilizados 30 ejaculados de 11 caprinos adultos, diluídos em Beyond® e conservados a 5 °C, sendo avaliados imediatamente após a diluição e após 24, 48, 72 e 96 horas de refrigeração através de um Sistema de Análise Computorizada de Sémen (CASA). Foram determinados a percentagem de espermatozoides rápidos progressivos, assim como os parâmetros cinemáticos velocidade curvilínea (VCL), velocidade retilínea (VSL) e velocidade média do percurso (VAP). Os dados foram analisados recorrendo a um modelo linear de efeitos mistos, considerando o ejaculado como efeito aleatório. O tempo de conservação influenciou significativamente todos os parâmetros cinemáticos e a percentagem de espermatozoides rápidos progressivos ($P < 0.001$), não tendo sido observadas diferenças significativas entre as raças nem interação raça $\times$ tempo de conservação. Embora o parâmetro VCL tenha permanecido relativamente estável durante o período experimental, os valores médios de VSL e VAP apresentaram

uma diminuição progressiva, sugerindo que a eficiência do movimento espermático se deteriora antes da perda completa da motilidade progressiva. Estes resultados indicam que o diluidor Beyond® foi capaz de manter níveis elevados de motilidade e qualidade cinemática durante quatro dias de refrigeração. Os resultados demonstram que os diluidores quimicamente definidos como o Beyond® representam uma alternativa promissora para a conservação líquida de sêmen caprino, podendo contribuir para melhorar os programas de inseminação artificial e a conservação de recursos genéticos caprinos, motivando investigações futuras *in vitro* e *in vivo* que permitam validar e otimizar a sua aplicação em condições de campo.

PALAVRAS-CHAVE: conservação seminal; diluidor; refrigeração; reprodução assistida; sêmen caprino.

1. INTRODUCTION

1.1. IMPORTANCE OF GOAT PRODUCTION, NATIVE BREEDS AND ASSISTED REPRODUCTION

Goat production represents one of the oldest and most widely distributed livestock systems worldwide, contributing substantially to food security, rural economies and the sustainable use of natural resources. According to the Food and Agriculture Organization (FAO), the global goat population has increased steadily over recent decades, reflecting the remarkable adaptability of this species to diverse environmental conditions, including marginal areas where other domestic ruminants exhibit limited productive performance. Besides their recognised role in the production of milk, meat, fibre and skins, goats are of particular importance for maintaining agricultural biodiversity through the conservation of locally adapted breeds that constitute valuable reservoirs of genetic variation (FAO, 2015).

In Mediterranean countries, and particularly in the Iberian Peninsula, native goat breeds have evolved under highly heterogeneous environmental conditions, resulting in populations characterised by considerable genetic diversity and adaptation to local production systems. These breeds represent not only an important cultural and economic heritage but also a strategic resource for improving resilience against climate change, emerging diseases and changing production demands (Ramachandran & Sejian, 2022). Consequently, the conservation of their genetic resources has become a priority within both national and international breeding programmes (Pérez & Mateos, 1996).

Among Spanish autochthonous breeds, the Florida and Verata goats are recognised for their productive performance, reproductive efficiency and adaptation to extensive and semi-extensive management systems. The Florida breed has experienced remarkable genetic improvement during recent decades and currently constitutes one of

the most productive dairy goat breeds in Spain, whereas the Verata breed represents an important reservoir of genetic diversity associated with traditional production systems (Martínez-Trancón, 2020). Maintaining the genetic variability of these populations requires the implementation of efficient reproductive technologies capable of facilitating the dissemination of superior genetics while preserving breed integrity (Pérez & Mateos, 1996).

Artificial insemination (AI) is considered one of the most effective reproductive biotechnologies available for accelerating genetic progress in domestic livestock. Besides facilitating the rapid dissemination of genetically superior males, AI contributes to reducing the transmission of reproductive diseases, decreases the need for transporting breeding animals and enables more efficient management of breeding programmes. In endangered or numerically limited breeds, AI also plays a fundamental role in genetic conservation by allowing the long-term preservation and strategic use of valuable male germplasm (Bodu et al., 2025).

Despite its recognised advantages, the routine application of AI in goats remains considerably lower than in cattle and other livestock species. This limitation cannot be attributed exclusively to reproductive management but also to biological characteristics inherent to caprine semen, particularly its sensitivity to storage conditions and the difficulties associated with maintaining sperm quality during transport and short-term preservation (Leboeuf et al., 2000). Consequently, the success of AI programmes depends not only on appropriate reproductive management but also on the availability of semen doses capable of preserving functional competence from collection to insemination (Xu et al., 2009).

The preservation of semen has therefore become a cornerstone of modern caprine reproduction. While cryopreservation represents the preferred option for long-term storage within gene banks and conservation programmes, refrigerated semen remains particularly attractive for routine AI because it avoids the cellular damage frequently associated with freezing and thawing procedures, requires less specialised equipment and generally provides satisfactory fertility when insemination is performed within relatively short storage periods. Moreover, chilled semen facilitates the exchange of genetic material between breeding centres while reducing logistical costs and simplifying semen handling under field conditions (Leboeuf et al., 2000; Xu et al., 2009; Bodu et al., 2025).

However, maintaining sperm quality during refrigerated storage continues to represent one of the principal challenges in caprine reproductive biotechnology. Progressive reductions in sperm motility, membrane integrity, mitochondrial activity and fertilising capacity frequently occur during storage, limiting both semen shelf life and

the geographical distribution of genetically valuable males (Sharma et al., 2025). These limitations have stimulated continuous research into preservation strategies capable of extending sperm longevity while maintaining cellular functionality, with particular emphasis on the development of increasingly efficient semen extenders (Bodu et al., 2025).

Consequently, improving semen preservation protocols remains an essential objective for increasing the practical application of AI in goats and for supporting sustainable genetic improvement programmes. Although substantial progress has been achieved over recent decades, the optimisation of semen extenders continues to represent one of the most active areas of research in caprine reproduction. Understanding how these formulations have evolved, together with the biological mechanisms responsible for sperm deterioration during storage, provides the necessary framework for evaluating innovative preservation strategies developed in other domestic species.

1.2. CHALLENGES ASSOCIATED WITH REFRIGERATED PRESERVATION OF BUCK SEMEN

The success of artificial insemination programmes using chilled semen largely depends on the ability to preserve sperm viability and functionality throughout storage and transport. Although refrigeration considerably slows cellular metabolism compared with ambient temperature, it does not completely arrest the biochemical and structural changes that progressively impair sperm function. Consequently, sperm quality deteriorates over time, reducing fertilising potential and limiting the practical use of refrigerated semen in breeding programmes (Xu et al., 2009; Sadeghi et al., 2020).

Among domestic livestock species, buck semen presents particular challenges for liquid preservation due to its unique biochemical characteristics. One of the most distinctive features of caprine seminal plasma is the presence of enzymes secreted by the bulbourethral glands, particularly phospholipase A and related lipases, which readily hydrolyse phospholipids present in egg yolk and milk-based extenders. This enzymatic activity generates toxic lipid metabolites, including lysophospholipids and free fatty acids, which destabilise sperm membranes, reduce motility and accelerate sperm degeneration during storage. Consequently, extenders successfully applied in other livestock species cannot always be directly transferred to goats without considering these species-specific interactions (Xu et al., 2009; Bodu et al., 2025).

In addition to these biochemical interactions, spermatozoa are highly specialised cells characterised by a plasma membrane rich in polyunsaturated fatty acids, which contributes to the membrane fluidity required for normal sperm function but simultaneously

increases susceptibility to oxidative and temperature-induced damage. During cooling, alterations in membrane lipid organisation may induce cold shock, leading to changes in membrane permeability, disruption of ion homeostasis and impairment of membrane-associated processes essential for sperm function. These structural alterations may ultimately contribute to reduced mitochondrial activity and progressive loss of sperm motility (Bodu et al., 2025).

Oxidative stress constitutes another major factor limiting semen preservation. Although spermatozoa physiologically produce low concentrations of reactive oxygen species (ROS), excessive ROS generation during storage may overwhelm antioxidant defence mechanisms and promote lipid peroxidation, protein oxidation and DNA damage. Because mature spermatozoa possess limited cytoplasmic antioxidant capacity and restricted repair mechanisms, oxidative damage may accumulate during preservation, ultimately compromising membrane integrity, mitochondrial function and fertilising competence (Bodu et al., 2025; Kumar et al., 2025).

Mitochondrial dysfunction plays a central role in this process. The sperm midpiece contains numerous mitochondria involved in oxidative phosphorylation and ATP production required to sustain sperm movement. During liquid storage, progressive mitochondrial dysfunction may reduce energy availability and contribute to the deterioration of sperm motility and functional competence. In goat spermatozoa, prolonged liquid storage has been associated with a time-dependent decline in motility, decreased mitochondrial membrane potential and increased ROS production and mitochondria-dependent apoptosis (Liu et al., 2019). Similarly, refrigerated storage has been associated with deterioration of mitochondrial membrane potential and sperm motility as storage time increases (Sadeghi et al., 2020). Preserving mitochondrial function and limiting oxidative damage therefore represent important objectives in the development of semen preservation strategies.

Beyond simple motility assessment, refrigeration also affects several sperm attributes directly associated with fertilisation. Membrane destabilisation, premature capacitation-like changes, acrosomal damage and alterations in chromatin stability may all occur during storage, even when conventional motility remains apparently acceptable. Consequently, evaluating semen quality exclusively through total motility may underestimate the extent of subcellular damage accumulated during preservation. For this reason, increasing attention has been directed towards complementary assessments including membrane integrity, mitochondrial activity, oxidative stress biomarkers, DNA fragmentation and computer-assisted sperm analysis (CASA), providing a more comprehensive evaluation of sperm functionality (Dorado et al., 2010).

Sperm quality may also be influenced during the early post-collection period, even before prolonged storage becomes relevant. Hahn et al. (2019) demonstrated that both temperature and time elapsed after collection affected several quality parameters in undiluted buck semen, highlighting the importance of controlling pre-processing conditions when designing semen preservation protocols. The duration of refrigerated storage further influences the rate of sperm deterioration. Previous studies have consistently demonstrated progressive declines in sperm quality, including motility and kinematic parameters, as storage time increases, although the magnitude of these changes depends on factors such as storage temperature, extender composition, sperm concentration and semen processing conditions. Xu et al. (2009) demonstrated that the preservation of buck sperm during liquid storage was strongly influenced by storage temperature and extender formulation, with chemically defined media supporting prolonged sperm survival at 5 °C. Similarly, Sadeghi et al. (2020) reported progressive deterioration of sperm motility, kinematics and mitochondrial function during refrigerated storage, with better preservation at 5 °C than at 17 °C. Together, these findings reinforce the concept that successful liquid semen preservation requires an integrated approach combining appropriate storage conditions with effective biochemical protection (Xu et al., 2009; Sadeghi et al., 2020).

Collectively, these physiological and biochemical constraints explain why maintaining high-quality refrigerated buck semen remains considerably more challenging than in several other domestic species. They also justify the continuous search for improved extender formulations capable of protecting spermatozoa against cold shock, oxidative stress and membrane destabilisation while preserving their fertilising potential throughout storage. Consequently, the development of increasingly efficient semen extenders has become one of the principal research priorities in caprine reproductive biotechnology, leading to the progressive evolution of preservation media over recent decades.

1.3. EVOLUTION OF SEMEN EXTENDERS FOR GOAT SEMEN PRESERVATION

The successful preservation of buck semen depends largely on the ability of semen extenders to maintain sperm viability and functionality throughout storage. Beyond their role as simple dilution media, modern extenders constitute highly specialised preservation systems designed to protect spermatozoa against cold shock, osmotic stress, oxidative damage and microbial contamination while providing an appropriate biochemical environment to sustain cellular metabolism. Consequently, the development of semen extenders has evolved considerably over the last decades, progressing

from relatively simple formulations to increasingly sophisticated media incorporating chemically defined components and functional additives (Xu et al., 2009; Bodu et al., 2025; Sharma et al., 2025).

The principal objectives of a semen extender are to provide osmotic and pH stability, supply energy substrates for sperm metabolism, protect plasma membranes during cooling, reduce oxidative damage and inhibit bacterial proliferation during storage. To achieve these functions, extenders generally contain buffering agents, sugars, cryo- or membrane-protective substances, antibiotics and, in many formulations, biological components capable of stabilising membrane phospholipids (Xu et al., 2009).

Historically, Tris-based extenders supplemented with egg yolk became the reference medium for buck semen preservation due to their capacity to maintain sperm motility and viability during both refrigeration and cryopreservation. Egg yolk provides low-density lipoproteins and phospholipids that interact with the sperm plasma membrane, reducing cold shock and stabilising membrane architecture during temperature decline. Similarly, skimmed milk-based extenders have been extensively used because milk proteins exert protective effects on sperm membranes while simultaneously buffering changes in pH and osmotic pressure (Xu et al., 2009).

Despite their widespread use, extenders containing egg yolk or milk present important limitations in goats. As previously discussed, phospholipase A and related lipases secreted by the bulbourethral glands hydrolyse phospholipids present in these biological components, generating toxic metabolites that negatively affect sperm survival. Consequently, procedures such as seminal plasma removal by centrifugation or the development of alternative extender formulations have become common strategies to minimise these detrimental interactions (Xu et al., 2009; Neila-Montero et al., 2022).

The removal of seminal plasma before semen dilution has therefore received considerable attention as a means of reducing lipase-mediated damage while preserving the beneficial effects of conventional extenders. Optimised centrifugation protocols have demonstrated that high sperm recovery can be achieved without compromising sperm quality when appropriate centrifugal forces and durations are applied. Although these approaches increase laboratory processing time, they have contributed substantially to improving semen preservation in small ruminants and remain routinely employed in many artificial insemination centres (Neila-Montero et al., 2022).

During the last decade, growing concerns regarding the sanitary risks, compositional variability and batch-to-batch inconsistency associated with animal-derived products have stimulated the development of alternative extenders based on plant-derived

phospholipids. Soybean lecithin has emerged as one of the most extensively investigated substitutes for egg yolk, offering improved standardisation while eliminating the potential risk of pathogen transmission associated with biological ingredients. Several studies have demonstrated that lecithin-based extenders are capable of maintaining satisfactory sperm motility and membrane integrity during refrigerated storage, although their effectiveness may vary according to formulation and storage conditions (Xu et al., 2009).

Research has also increasingly focused on the incorporation of functional additives designed to mitigate oxidative stress and enhance sperm longevity. Antioxidants such as resveratrol, glutathione, melatonin, vitamins C and E, cysteine and N-acetylcysteine have been evaluated with the aim of limiting reactive oxygen species production and protecting membrane lipids against peroxidative damage. Although improvements in selected sperm quality parameters have frequently been reported, results remain variable depending on antioxidant concentration, storage duration and semen processing protocols, indicating that no universal formulation has yet been established (Bodu et al., 2025).

Beyond antioxidants, innovative strategies involving natural bioactive compounds have recently attracted increasing scientific interest. Thiangthientham et al. (2024), for example, demonstrated that sesame oil could partially replace egg yolk in buck semen extenders while maintaining acceptable sperm quality during preservation, highlighting the potential of plant-derived lipid sources as membrane protectants. Likewise, Alcay et al. (2020) investigated lecithin-based extenders supplemented with rainbow trout seminal plasma, reporting encouraging results for post-thaw sperm quality and suggesting that biologically active molecules from alternative sources may contribute to improving sperm protection during preservation. These studies illustrate the continuous search for novel extender formulations capable of combining biological efficacy with improved standardisation and biosafety (Alcay et al., 2020; Thiangthientham et al., 2024). More recently, Kumar et al. (2025) reported that supplementation of a Tris-based extender with rosemary aqueous extract or sericin improved several post-thaw quality parameters in Pantja buck semen, including sperm functional characteristics and antioxidant status. These findings further illustrate the growing interest in incorporating functional bioactive compounds into semen extenders to mitigate oxidative damage during preservation.

Parallel advances in analytical technologies have substantially improved the evaluation of extender performance. Computer-assisted sperm analysis (CASA) systems now provide objective measurements of sperm kinematics, including velocity parameters, trajectory descriptors and sperm subpopulation analyses that extend far beyond conventional assessments of total and progressive motility. In goats, CASA has facilitated

the identification of distinct motile sperm subpopulations associated with differences in fertilising potential, thereby allowing a more detailed comparison of preservation media and storage protocols (Dorado et al., 2010). Consequently, modern extender development increasingly relies not only on maintaining sperm survival but also on preserving specific kinematic patterns considered essential for optimal reproductive performance.

Despite these important advances, no consensus has yet been reached regarding the optimal formulation for refrigerated buck semen. Most commercially available extenders continue to represent modifications of traditional Tris-, milk- or lecithin-based media, and their effectiveness remains strongly influenced by individual male variability, storage temperature and semen handling procedures. Furthermore, relatively few chemically defined extenders have been specifically developed for goats, contrasting with the extensive commercial innovation observed in other domestic species, particularly horses (Bodu et al., 2025).

This disparity suggests that significant opportunities may exist for transferring preservation technologies successfully developed in other species to caprine reproduction. Indeed, while goat semen preservation has primarily focused on refining conventional formulations, equine reproductive biotechnology has undergone remarkable progress through the development of highly specialised commercial extenders specifically designed to maximise sperm longevity during refrigerated storage. Understanding these advances may therefore provide valuable insights for identifying alternative preservation strategies applicable to buck semen.

Although extender development has traditionally focused on improving post-storage sperm motility, current formulations are increasingly designed to preserve multiple aspects of sperm functionality, including membrane integrity, mitochondrial activity and oxidative balance.

1.4. LESSONS FROM EQUINE REPRODUCTION: DEVELOPMENT OF ADVANCED COMMERCIAL EXTENDERS

Compared with caprine reproduction, the preservation of chilled stallion semen has undergone a remarkably rapid technological evolution over the last three decades. The widespread implementation of artificial insemination in the equine industry, together with the high genetic and economic value of breeding stallions and the increasing international exchange of fresh and chilled semen, has stimulated the development of specialised preservation media capable of maintaining sperm quality for extended periods. As a consequence, equine reproduction currently benefits from a broad range of commercially

available semen extenders whose composition has been progressively refined through both experimental research and field validation (Rečková et al., 2022; Brito et al., 2025).

One of the milestones in this evolution was the introduction of INRA96®, a skim milk-based extender originally developed by the French National Institute for Agricultural Research (INRA). Owing to its buffering capacity, membrane-protective properties and reproducible performance, INRA96® rapidly became one of the most widely used extenders for refrigerated stallion semen and has frequently served as the reference medium against which newly developed formulations are compared. Numerous studies have demonstrated its ability to maintain acceptable sperm motility and fertility during short-term storage, establishing it as a benchmark in equine semen preservation (Rečková et al., 2022; Brito et al., 2025).

The continuous demand for longer storage periods and improved reproductive outcomes subsequently promoted the commercial development of additional extenders, including EquiPlus®, BotuSemen Gold® and several proprietary formulations specifically designed to optimise sperm survival during transport. Comparative studies have shown that these extenders differ in their ability to preserve motility, membrane integrity and sperm kinematics during refrigeration, highlighting that extender composition remains one of the principal determinants of post-storage semen quality. Rečková et al. (2022), for example, compared four commercially available extenders and demonstrated significant differences in sperm quality throughout refrigerated storage, emphasising that extender selection should be considered a critical component of semen preservation protocols rather than a merely technical decision.

More recently, research has shifted towards the development of chemically defined extenders, representing a new generation of preservation media designed to minimise the variability associated with biological ingredients while improving standardisation, biosafety and reproducibility. These formulations avoid the use of animal-derived components whenever possible and instead rely on carefully selected synthetic or highly purified compounds capable of maintaining membrane stability, cellular metabolism and osmotic balance during prolonged storage. This strategy not only reduces batch-to-batch variation but also facilitates quality control and decreases the potential risk of pathogen transmission associated with traditional biological supplements (Brito et al., 2025).

Among these next-generation formulations, Beyond® represents one of the most recent commercially available chemically defined extenders developed for the liquid storage of stallion semen. Unlike traditional extenders containing animal-derived biological components, Beyond® is based on a chemically defined formulation designed to minimise

batch-to-batch variability while improving standardisation, biosafety and reproducibility. Brito et al. (2025) reported that this extender effectively maintained sperm quality during prolonged refrigerated storage, providing reproductive outcomes comparable to, or under certain conditions superior to, those achieved with conventional commercial extenders. Importantly, the authors emphasised not only its ability to preserve sperm longevity but also the advantages associated with eliminating undefined biological ingredients, thereby facilitating greater consistency between production batches. The development of these advanced preservation systems illustrates how sustained research investment in equine reproduction has generated highly specialised extender technologies that may have applications beyond the species for which they were originally designed.

The remarkable progress achieved in equine semen preservation contrasts with the comparatively limited availability of commercially specialised extenders for goats. While caprine research has primarily focused on modifying traditional Tris-, milk- or lecithin-based formulations through the incorporation of antioxidants or alternative lipid sources, relatively few studies have explored the direct application of preservation technologies originally developed in other domestic species. Consequently, the commercial innovation observed in equine reproduction has not yet been fully translated into caprine reproductive biotechnology (Bodu et al., 2025).

Nevertheless, the concept of the cross-species application of semen preservation technologies has gained increasing scientific interest. A representative example is provided by Cavalcanti et al. (2023), who evaluated the equine extender INRA96® for short-term canine semen preservation and demonstrated that it successfully maintained sperm quality when compared with conventional canine extenders. Although species-specific physiological differences must always be considered, this study supports the broader concept that preservation technologies developed for one species may provide valuable alternatives for others when the underlying mechanisms of sperm protection are conserved.

From a biological perspective, semen extenders are designed to preserve fundamental cellular structures and metabolic pathways that are largely shared among mammalian spermatozoa. Although species-specific differences undoubtedly exist regarding seminal plasma composition, membrane lipid organisation and sperm metabolism, the principal mechanisms responsible for protecting sperm cells against cold shock, oxidative stress and osmotic imbalance are common across domestic species. Consequently, evaluating extenders outside the species for which they were originally developed should not be regarded as an empirical approach but rather as a rational strategy based on conserved principles of sperm physiology and preservation biology.

Within this context, assessing an equine chemically defined extender for the preservation of refrigerated buck semen represents a logical continuation of current research trends in reproductive biotechnology. Rather than attempting to develop entirely new formulations, adapting technologies that have already undergone extensive optimisation in another domestic species may accelerate innovation while reducing both development time and experimental costs. This approach is particularly attractive for caprine reproduction, where commercially available extender options remain relatively limited despite the growing demand for efficient semen preservation protocols.

1.5. KNOWLEDGE GAP, STUDY RATIONALE AND OBJECTIVES

Despite the substantial progress achieved in the preservation of chilled buck semen, current preservation strategies continue to rely predominantly on adaptations of conventional extender formulations. Although numerous modifications involving alternative lipid sources, antioxidants and chemically defined additives have improved specific sperm quality parameters, the number of commercially available extenders specifically developed for caprine semen remains limited. Consequently, identifying preservation strategies capable of extending sperm longevity while maintaining functional competence continues to represent one of the principal challenges in caprine reproductive biotechnology (Xu et al., 2009; Bodu et al., 2025).

Conversely, equine reproduction has benefited from decades of continuous investment in the optimisation of semen preservation technologies, resulting in the development of several commercially available extenders specifically designed for refrigerated storage. Comparative studies have demonstrated that these extenders differ in their ability to maintain sperm motility, membrane integrity and fertility, while recent chemically defined formulations have further improved standardisation, biosafety and storage performance (Rečková et al., 2022; Brito et al., 2025). These advances raise the possibility that technologies successfully validated in stallion semen could also contribute to improving semen preservation in other domestic species.

The concept of technology transfer between species has gained increasing attention within reproductive biotechnology. Rather than developing entirely new formulations for each species, evaluating extenders that have already demonstrated efficacy under comparable preservation conditions may accelerate innovation while reducing development time and costs. Evidence supporting this approach has already been reported in canine reproduction, where the equine extender INRA96® successfully preserved sperm quality during short-term storage (Cavalcanti et al., 2023). However,

similar studies remain scarce in goats, particularly regarding the evaluation of modern chemically defined extenders.

Based on this rationale, the present study investigated the suitability of Beyond®, a chemically defined semen extender originally developed for chilled stallion semen, for the refrigerated preservation of semen collected from Florida and Verata bucks. Sperm quality was evaluated during refrigerated storage using conventional semen quality parameters together with computer-assisted sperm analysis (CASA), allowing a comprehensive assessment of sperm motility and kinematic characteristics over time. By exploring the cross-species application of an equine semen preservation technology to caprine reproduction, this study aims to contribute to the development of more efficient, standardised and commercially applicable protocols for refrigerated buck semen preservation.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. EXPERIMENTAL DESIGN

This prospective experimental study was designed to evaluate the ability of a chemically defined equine semen extender to preserve the quality of refrigerated buck semen during liquid storage. Semen quality was monitored over a storage period of 96 h using conventional and computer-assisted sperm analysis (CASA) parameters in order to characterise sperm longevity under refrigerated conditions.

Unlike previous preliminary analyses, the present study focused exclusively on refrigerated semen preservation under controlled laboratory conditions. Comparisons involving different transport systems or frozen semen were intentionally excluded to allow a more robust evaluation of the preservation capacity of the extender during liquid storage. Furthermore, semen samples obtained from Florida and Verata bucks were analysed separately in order to investigate the response of two Spanish autochthonous breeds representing different productive and genetic backgrounds.

Each ejaculate obtained during the study was considered an independent experimental observation, regardless of whether repeated ejaculates originated from the same male on different collection dates. This approach reflects routine semen production in artificial insemination centres, where ejaculates collected at different times are processed independently for artificial insemination.

Sperm quality was evaluated immediately after semen processing (0 h) and after 24, 48, 72 and 96 h of storage at 5 °C. These time points were selected to characterise the progressive decline in sperm quality throughout refrigerated storage and to

determine the capacity of the extender to maintain sperm functionality over an extended preservation period.

2.2. ANIMALS AND SEMEN COLLECTION

The study was conducted at the Centro de Selección y Reproducción Animal (CENSYRA, Badajoz, Spain) during the breeding season using sexually mature bucks routinely included in the artificial insemination programme. Animals belonged to the Florida and Verata breeds and were managed according to the standard husbandry practices established at the centre, including housing, nutrition and health monitoring.

A total of 30 ejaculates obtained from 11 adult bucks (7 Florida and 4 Verata) were included in the study. Because ejaculates were collected on different dates throughout the breeding season, each ejaculate was considered an independent experimental unit.

Semen was collected using an artificial vagina in the presence of an oestrous teaser female by experienced technicians following the routine collection procedures implemented at CENSYRA. Immediately after collection, ejaculates were subjected to a standard macroscopic and microscopic evaluation to determine their suitability for processing.

Only ejaculates fulfilling the minimum quality requirements routinely established by the centre for artificial insemination processing were included in the study. Initial semen evaluation included ejaculate volume, sperm concentration, mass motility and individual motility. Ejaculates presenting abnormalities or insufficient seminal quality were excluded before semen processing.

Because semen production in artificial insemination centres is performed on a routine basis throughout the breeding season, individual bucks contributed more than one ejaculate during the study period. Consequently, each ejaculate represented an independent experimental unit corresponding to a different collection event.

2.3. SEMEN PROCESSING AND REFRIGERATED STORAGE

Following the initial semen evaluation, ejaculates meeting the quality criteria established for processing were diluted using Beyond® (Minitube, Tiefenbach, Germany), a chemically defined semen extender originally developed for the refrigerated preservation of stallion semen. Semen processing was performed according to the manufacturer's recommendations to obtain the final insemination doses used throughout the experiment.

After dilution, semen samples were gradually cooled to 5 °C and maintained under refrigerated conditions for a total period of 96 h. Refrigeration was performed under

controlled laboratory conditions to minimise temperature fluctuations throughout storage. This experimental design allowed the evaluation of sperm longevity under standardised refrigeration conditions while eliminating potential confounding factors associated with transport or different cooling systems.

Sperm quality was evaluated immediately after semen processing (0 h) and after 24, 48, 72 and 96 h of refrigerated storage. These evaluation times were selected to characterise the progressive effects of liquid preservation on sperm function and to determine the ability of the extender to maintain sperm quality throughout an extended storage period.

Throughout the experiment, all semen samples were processed using identical laboratory procedures and storage conditions in order to ensure that any observed changes in sperm quality were attributable to storage duration rather than differences in sample handling. Before refrigerated storage, semen samples were diluted to the concentration routinely used for artificial insemination doses at CENSYRA. The same processing protocol, extender concentration and storage conditions were applied to all ejaculates throughout the experiment to ensure methodological consistency between samples.

2.4. SPERM QUALITY ASSESSMENT

Sperm quality was evaluated immediately after semen processing (0 h) and after 24, 48, 72 and 96 h of refrigerated storage at 5 °C. The assessment included both conventional seminal evaluation and computer-assisted sperm analysis (CASA) to characterise sperm longevity throughout the storage period. Immediately after semen collection, ejaculate volume, sperm concentration, mass motility (MM) and individual motility (IM) were determined as part of the routine quality control procedures performed before semen processing. Only ejaculates fulfilling the minimum quality standards established by the artificial insemination centre were included in the study.

Computer-assisted sperm analysis (CASA) was performed using the Integrated Semen Analysis System (ISAS®, Proiser R+D S.L., Paterna, Spain). Before analysis, semen samples were gently homogenised and equilibrated at 37 °C. An aliquot of diluted semen was loaded into a pre-warmed counting chamber, and sperm movement was recorded following the standard operating procedures routinely implemented at CENSYRA. The evaluated CASA parameters included the proportion of rapid progressive spermatozoa (calculated as the number of rapid progressive spermatozoa divided by the sum of rapid progressive and static spermatozoa), curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity

(VSL) and average path velocity (VAP). Rapid progressive spermatozoa were classified according to the default thresholds defined in the ISAS® software configuration used at CENSYRA. These parameters were selected because they provide complementary information on sperm motility and kinematic performance and are widely recognised as reliable indicators of sperm quality and functionality during refrigerated storage, allowing a comprehensive assessment of sperm longevity under liquid preservation conditions (Sadeghi et al., 2020; Iusupova et al., 2022).

2.5. STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were performed using Jamovi (The Jamovi Project, Sydney, Australia). Each ejaculate was considered an independent experimental observation. Repeated measurements obtained from the same ejaculate throughout refrigerated storage were analysed using linear mixed-effects models (LMMs) to account for the correlation between observations over time. Breed (Florida and Verata), storage time (0, 24, 48, 72 and 96 h) and their interaction were included as fixed effects, whereas ejaculate was included as a random effect.

Data distribution was assessed using the Shapiro–Wilk test and homogeneity of variances using Levene's test. Percentage data were analysed after arcsine square-root transformation when appropriate. Descriptive statistics are presented as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). Whenever significant effects were detected, pairwise comparisons were performed using Tukey's post hoc test. Statistical significance was established at $P < 0.05$.

3. RESULTS

3.1. INITIAL SEMEN QUALITY

A total of 30 ejaculates obtained from 11 adult bucks (7 Florida and 4 Verata) fulfilled the inclusion criteria and were included in the study. The initial seminal characteristics of both breeds are summarised in Table 1.

Florida bucks produced a significantly greater ejaculate volume than Verata bucks ($P = 0.030$), whereas no significant differences between breeds were detected for sperm concentration, mass motility or individual motility ($P > 0.05$). Overall, ejaculates from both breeds exhibited satisfactory seminal quality before dilution and were considered suitable for subsequent refrigerated storage and sperm quality assessment.

Table 1. Initial seminal characteristics of Florida and Verata bucks before semen processing and refrigerated storage.

Parameter	Florida (n = 17 ejaculates)	Verata (n = 13 ejaculates)	P-value
Ejaculate volume (mL)	0.97 ± 0.14	0.61 ± 0.09	0.030
Sperm concentration (×10 ⁶ sperm/mL)	6199.41 ± 326.53	6849.92 ± 291.58	0.148
Mass motility (0–5)	4.31 ± 0.07	4.31 ± 0.07	0.980
Individual motility	0.82 ± 0.01	0.83 ± 0.01	0.864

Table 1: Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). The experimental unit was the ejaculate. Ejaculate volume, mass motility and individual motility were compared between breeds using the Mann–Whitney *U* test because their distributions departed from normality. Sperm concentration was analysed using an independent-samples Student's *t*-test. Statistical significance was established at *P* < 0.05.

3.2. EFFECT OF REFRIGERATED STORAGE ON THE PROPORTION OF RAPID PROGRESSIVE SPERMATOZOA

The proportion of rapid progressive spermatozoa was significantly affected by refrigerated storage time (*P* < 0.001), whereas breed had no significant overall effect (*P* = 0.592). Although the breed × storage time interaction approached statistical significance (*P* = 0.058), it did not reach the predefined significance threshold, indicating a similar temporal response in both breeds. Both breeds exhibited the highest proportion of rapid progressive spermatozoa immediately after semen processing. In Florida ejaculates, this proportion decreased from 92.49 ± 1.86% at 0 h to 82.88 ± 3.93% after 24 h and subsequently remained relatively stable until 96 h. Verata ejaculates showed a more gradual decline, reaching 77.08 ± 3.89% at the end of the storage period (Table 2).

Table 2. Percentage of rapid progressive spermatozoa during refrigerated storage in Florida and Verata bucks.

Storage time (h)	Florida (n = 17 ejaculates)	Verata (n = 13 ejaculates)
0	92.49 ± 1.86	91.75 ± 1.14
24	82.88 ± 3.93	88.22 ± 1.67
48	83.47 ± 3.08	84.61 ± 2.63
72	83.67 ± 3.56	82.45 ± 2.13
96	83.54 ± 3.84	77.08 ± 3.89

Table 2. Percentage of rapid progressive spermatozoa in semen from Florida and Verata bucks during refrigerated storage. Data are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). Percentages were calculated for each ejaculate as the number of rapid progressive spermatozoa divided by the sum of rapid progressive and static spermatozoa, multiplied by 100. The effect of breed, storage time and their interaction was evaluated using linear mixed-effects model (LMM) applied to arcsine square-root-transformed proportions, with ejaculate included as a random effect to account for repeated measurements over time. Statistical significance was established at *P* < 0.05.

3.3. CHANGES IN SPERM VELOCITY PARAMETERS DURING REFRIGERATED STORAGE

The sperm velocity parameters were significantly affected by refrigerated storage time (all $P < 0.001$), whereas no significant overall effect of breed was detected for VCL ($P = 0.080$), VSL ($P = 0.523$) or VAP ($P = 0.352$). Likewise, no significant breed $\times$ storage time interaction was observed for any of the evaluated kinematic parameters (VCL: $P = 0.661$; VSL: $P = 0.257$; VAP: $P = 0.604$). Curvilinear velocity (VCL), straight-line velocity (VSL) and average path velocity (VAP) showed a progressive decline throughout the 96 h storage period, indicating a gradual deterioration in sperm movement during liquid preservation.

Table 3. Sperm velocity parameters during refrigerated storage in Florida and Verata bucks.

Storage time (h)	Breed	VCL ($\mu\text{m/s}$)	VSL ($\mu\text{m/s}$)	VAP ($\mu\text{m/s}$)
0	Florida	155.66 $\pm$ 5.26	113.85 $\pm$ 4.82	131.50 $\pm$ 5.55
	Verata	142.15 $\pm$ 6.02	109.44 $\pm$ 5.29	123.88 $\pm$ 6.42
24	Florida	136.55 $\pm$ 3.33	101.90 $\pm$ 2.41	117.83 $\pm$ 3.46
	Verata	126.82 $\pm$ 4.51	98.53 $\pm$ 3.45	111.07 $\pm$ 4.36
48	Florida	129.95 $\pm$ 3.13	88.28 $\pm$ 2.52	106.52 $\pm$ 2.97
	Verata	120.87 $\pm$ 3.38	78.56 $\pm$ 4.45	95.30 $\pm$ 4.43
72	Florida	130.80 $\pm$ 3.46	77.34 $\pm$ 2.45	101.50 $\pm$ 2.71
	Verata	124.48 $\pm$ 2.66	67.38 $\pm$ 4.57	88.05 $\pm$ 4.81
96	Florida	131.74 $\pm$ 3.43	69.66 $\pm$ 2.57	93.89 $\pm$ 2.32
	Verata	128.22 $\pm$ 3.09	54.82 $\pm$ 3.91	81.75 $\pm$ 3.85

Table 3: Data are expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM). VCL, curvilinear velocity; VSL, straight-line velocity; VAP, average path velocity. The experimental unit was the ejaculate. The effects of breed, storage time and their interaction were analysed using a linear mixed-effects model (LMM), with ejaculate included as a random effect to account for repeated measurements over time. Statistical significance was established at $P < 0.05$.

4. DISCUSSION

4.1. REFRIGERATED SEMEN PRESERVATION REMAINS A MAJOR CHALLENGE IN CAPRINE REPRODUCTION

Artificial insemination using refrigerated semen represents one of the most practical reproductive technologies for genetic dissemination in goats, particularly within breeding programmes based on native or endangered breeds. Compared with cryopreservation, chilled semen avoids many of the structural and functional alterations associated with freezing and thawing, while reducing processing costs and simplifying semen handling under field conditions. Nevertheless, maintaining sperm quality during liquid storage continues to be one of the principal limitations affecting

the widespread application of this technology in caprine reproduction (Leboeuf et al., 2000; Xu et al., 2009).

The present study confirmed that refrigerated storage progressively compromises sperm quality over time, as reflected by the reduction in the proportion of rapid progressive spermatozoa and by the deterioration of sperm kinematic parameters. These findings agree with previous reports describing time-dependent declines in sperm motility and velocity during chilled storage of buck semen (Xu et al., 2009; Batista et al., 2011; Sadeghi et al., 2020; Iusupova et al., 2022). Such deterioration has been associated with the cumulative effects of membrane destabilisation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and progressive impairment of cellular energy metabolism, all of which may reduce the capacity of spermatozoa to maintain vigorous forward movement during prolonged liquid storage (Liu et al., 2019; Sadeghi et al., 2020).

An interesting observation in the present study was that the greatest reduction in the proportion of rapid progressive spermatozoa occurred during the early stages of storage, whereas subsequent changes were comparatively less pronounced. This pattern suggests that the initial cooling phase may represent the period of greatest physiological stress for buck spermatozoa, after which the surviving population appears to remain relatively stable under refrigerated conditions. Similar trends have been reported in previous studies evaluating liquid preservation of caprine semen and emphasise the importance of optimising both cooling protocols and extender composition to minimise early sperm damage (Batista et al., 2011; Iusupova et al., 2022).

Although storage time exerted a marked influence on sperm quality, breed had only a limited effect on most evaluated variables. Previous studies have shown that biological factors such as season, endocrine status and ejaculate characteristics may also influence semen quality and preservation capacity in bucks (Gallego-Calvo et al., 2015). Nevertheless, under the experimental conditions of the present study, the response to refrigerated preservation was largely determined by storage duration rather than breed-related differences. Nevertheless, individual variability among ejaculates remains an important source of biological variation in semen preservation studies and should always be considered when interpreting the results of reproductive biotechnologies.

Overall, the present findings reinforce the concept that extending the functional lifespan of refrigerated buck semen remains a priority for improving the efficiency of artificial insemination programmes. Rather than focusing exclusively on preventing sperm death, modern preservation strategies should aim to maintain sperm functionality throughout storage, particularly those characteristics most closely associated with fertilising capacity, such as progressive movement and sperm kinematics.

4.2. CHEMICALLY DEFINED EXTENDERS AND CROSS-SPECIES PRESERVATION STRATEGIES: OPPORTUNITIES FOR CAPRINE SEMEN PRESERVATION

The continuous development of chemically defined semen extenders represents one of the most important advances in reproductive biotechnology during the last decade. Unlike conventional formulations containing biologically derived ingredients such as egg yolk or skimmed milk, chemically defined extenders are designed to provide a controlled and reproducible biochemical environment while minimising the variability associated with animal-derived products. Besides improving batch-to-batch consistency, these formulations reduce the sanitary risks linked to biological components and facilitate quality control during commercial production (Brito et al., 2025).

These characteristics may be particularly advantageous for caprine semen preservation. Goat seminal plasma contains phospholipase A and other lipolytic enzymes secreted by the bulbourethral glands that readily hydrolyse phospholipids present in egg yolk- and milk-based extenders, generating lysophospholipids and free fatty acids that negatively affect sperm membranes and progressively impair sperm function during storage (Xu et al., 2009). Consequently, the use of preservation media that avoid undefined biological components may reduce these detrimental biochemical interactions while providing a more stable extracellular environment for sperm survival.

Within this context, the chemically defined equine extender evaluated in the present study maintained a remarkably high proportion of rapid progressive spermatozoa throughout the 96 h storage period, with values remaining above 80% in Florida bucks and close to this threshold in Verata bucks until the end of refrigeration. Although direct comparisons among studies should be interpreted cautiously because of differences in semen processing, CASA settings and preservation protocols, these results compare favourably with previous reports of buck semen preserved under refrigerated conditions using different extender formulations (Xu et al., 2009; Sadeghi et al., 2020; Iusupova et al., 2022).

Importantly, the present findings should not be interpreted as evidence that one commercial extender is universally superior to existing formulations. Rather, they support the broader concept that chemically defined preservation systems originally developed for another domestic species may provide effective protection for buck spermatozoa when the fundamental mechanisms governing membrane stability, osmotic regulation and cellular metabolism are conserved. This interpretation is consistent with the growing interest in cross-species applications of reproductive technologies and reinforces the concept that innovation in semen preservation may

arise not only from developing entirely new formulations but also from the rational adaptation of technologies that have already undergone extensive optimisation in other species (Cavalcanti et al., 2023; Brito et al., 2025).

From a practical perspective, the use of chemically defined extenders also offers advantages beyond sperm quality itself. Improved formulation standardisation, greater reproducibility between production batches and the absence of animal-derived components facilitate quality assurance and may contribute to more consistent reproductive outcomes under routine field conditions. These aspects are increasingly recognised as essential requirements for modern artificial insemination programmes, particularly in breeding centres responsible for the large-scale production and distribution of refrigerated semen doses.

4.3. BIOLOGICAL INTERPRETATION OF SPERM KINEMATICS DURING REFRIGERATED STORAGE

Beyond the proportion of motile spermatozoa, sperm kinematic parameters provide valuable information regarding the functional competence of sperm cells during preservation. Computer-assisted sperm analysis (CASA) allows the objective evaluation of different components of sperm movement, each reflecting distinct aspects of flagellar activity and swimming behaviour that may be associated with fertilising potential (Dorado et al., 2010; Iusupova et al., 2022).

The present study demonstrated that refrigerated storage progressively affected sperm kinematics, although the magnitude of deterioration differed among the evaluated parameters. Curvilinear velocity (VCL) remained comparatively stable throughout storage, whereas straight-line velocity (VSL) and average path velocity (VAP) exhibited a more pronounced and continuous decline. This pattern suggests that refrigerated storage did not immediately compromise the ability of spermatozoa to generate flagellar movement, but rather progressively reduced the efficiency with which that movement was translated into forward progression.

The differential response of these kinematic parameters provides additional information on the functional consequences of prolonged refrigerated storage. Similar alterations in sperm kinematics have been described in caprine semen during preservation. Barbas et al. (2018) demonstrated that semen processing, cooling and cryopreservation substantially modified sperm velocity, trajectory and the distribution of motile sperm subpopulations in buck ejaculates. Although cryopreservation imposes a more severe cellular challenge than refrigerated storage, these findings support the concept that

changes in sperm trajectory and kinematic organisation may provide sensitive indicators of preservation-induced functional deterioration (Barbas et al., 2018).

From a physiological perspective, these findings are consistent with the progressive cellular alterations known to occur during liquid storage. Mitochondrial dysfunction and the associated impairment of cellular energy metabolism may compromise flagellar activity and sperm movement before motility is completely abolished. In buck semen, prolonged liquid storage has been associated with increased oxidative stress, decreased mitochondrial membrane potential and progressive loss of sperm motility (Liu et al., 2019), while refrigerated storage has also been shown to induce time-dependent deterioration of mitochondrial function and sperm kinematics (Sadeghi et al., 2020). Consequently, the comparatively preserved VCL observed in the present study alongside declining VSL and VAP may indicate that spermatozoa retain movement activity while progressively losing the capacity to maintain an efficient forward trajectory.

This distinction may be biologically relevant because successful fertilisation depends not only on sperm movement itself but also on the ability to maintain sustained forward progression through the female reproductive tract. Therefore, reductions in VSL and VAP may represent earlier indicators of functional deterioration than decreases in total motility alone. These observations reinforce the importance of incorporating CASA-derived kinematic parameters into semen preservation studies, as conventional motility assessments may overlook subtle functional changes that precede complete loss of sperm viability (Santolaria et al., 2015; Iusupova et al., 2022; Nagata et al., 2018).

Interestingly, despite the progressive decline in kinematic parameters, no significant effect of breed or breed $\times$ storage time interaction was detected. This suggests that Florida and Verata bucks responded similarly to refrigerated preservation under the conditions evaluated, indicating that storage time rather than genetic background was the principal factor influencing sperm movement. Breed- and season-related differences in semen characteristics have been reported in goats, including native Iberian breeds (Pérez & Mateos, 1996; Gallego-Calvo et al., 2015; Barbas et al., 2024). However, Barbas et al. (2024), analysing more than 1,000 ejaculates from four Portuguese native goat breeds, showed that although breed and season influenced several ejaculate characteristics, semen processing exerted a particularly marked effect on sperm quality. These observations are consistent with the present findings, in which the effect of refrigerated storage was considerably more pronounced than breed-related variability.

Overall, the kinematic profile observed in the present study indicates that prolonged refrigeration progressively reduces sperm movement efficiency rather than

immediately abolishing motility. This finding supports the concept that maintaining sperm functionality during storage requires preservation strategies capable of protecting not only membrane integrity but also the metabolic and biomechanical mechanisms responsible for coordinated progressive movement (Sadeghi et al., 2020; Heydari et al., 2021; Brito et al., 2025).

4.4. PRACTICAL IMPLICATIONS, STUDY LIMITATIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

The ability to maintain acceptable sperm quality for several days under refrigerated conditions may have important practical implications for goat breeding programmes. Extended semen longevity could facilitate the transport of genetic material between geographically distant farms, reduce the need for immediate insemination after semen collection and improve the logistical flexibility of artificial insemination programmes. These advantages may be particularly relevant for local and endangered breeds, where the number of breeding males is limited and reproductive centres may be located far from farms. In this context, reproductive biotechnologies based on semen preservation can contribute to the sustainable management and dissemination of valuable genetic resources (FAO, 2015; Leboeuf et al., 2000; Barbas et al., 2024).

The use of chemically defined extenders may provide additional advantages in terms of standardisation, reproducibility and biosecurity. Conventional semen extenders frequently contain biological components such as egg yolk or milk derivatives, whose composition may vary between batches and which may introduce undesirable biological variability. Chemically defined formulations offer greater control over extender composition and may therefore facilitate the development of more reproducible semen preservation protocols (Xu et al., 2009; Bodu et al., 2025). The successful application of Beyond® in the present study further suggests that extender technologies developed for one domestic species may potentially be adapted to others when the underlying physiological requirements of sperm preservation are sufficiently compatible (Brito et al., 2025; Cavalcanti et al., 2023; Rečková et al., 2022). In addition to compositional variability, the microbiological consequences of semen processing should also be considered. Mocé et al. (2023) demonstrated that dilution, refrigeration and subsequent storage of buck semen at 4 °C substantially modified the seminal bacterial community, with the extender itself contributing markedly to these changes. These findings further support the interest in well-standardised extender formulations and highlight microbiological stability as an additional aspect to consider when developing protocols for prolonged liquid semen preservation.

Nevertheless, several limitations of the present study should be acknowledged. The number of animals and ejaculates evaluated was relatively limited, and the experiment focused primarily on CASA-derived motility and kinematic parameters. Although these variables provide valuable information on sperm functionality, they do not fully characterise the cellular alterations that may occur during prolonged refrigerated storage. Future studies should therefore incorporate complementary assessments of plasma and acrosomal membrane integrity, mitochondrial membrane potential, oxidative status, DNA integrity and other functional biomarkers to provide a more comprehensive evaluation of sperm preservation.

Moreover, the present study evaluated semen quality *in vitro*, and the maintenance of favourable motility and kinematic characteristics cannot by itself demonstrate preserved fertilising capacity. Artificial insemination trials will therefore be required to determine whether semen stored for extended periods in chemically defined extenders retains acceptable fertility under field conditions. This distinction is particularly relevant because CASA-derived parameters may contribute to the prediction of sperm functionality and fertility, but they should not be considered substitutes for reproductive outcomes (Santolaria et al., 2015; Nagata et al., 2018). Importantly, the practical relevance of refrigerated buck semen has been demonstrated under field conditions, as semen doses maintained at 4 °C can retain adequate *in vitro* quality and *in vivo* fertility when appropriate cooling procedures are applied (Mocé et al., 2020).

Future studies should also investigate the influence of factors such as sperm concentration, individual male variability, season and reproductive status on the response of buck semen to chemically defined extenders. Seasonal variation has been shown to affect semen characteristics and preservation responses in goats (Gallego-Calvo et al., 2015; Barbas et al., 2024), while sperm concentration and storage conditions may substantially influence the success of liquid preservation (Sadeghi et al., 2020). Evaluating these factors in larger populations and across different breeds would help determine the robustness and general applicability of the preservation strategy described here.

Overall, the present findings provide a basis for further optimisation of chemically defined extenders for prolonged liquid storage of buck semen. Combining extended refrigerated preservation with comprehensive sperm functional assessment and subsequent fertility trials may contribute to the development of practical, standardised and reproducible protocols for artificial insemination and genetic resource conservation in goats.

5. CONCLUSION

The present study provides evidence that refrigerated storage progressively affects sperm motility and kinematic characteristics in buck semen, with storage time representing the principal factor influencing sperm quality under the evaluated conditions. Despite this time-dependent deterioration, the chemically defined extender assessed in the present study preserved a high proportion of rapid progressive spermatozoa together with favourable sperm kinematic characteristics throughout 96 h of refrigerated storage, indicating its suitability for extended liquid semen preservation.

Importantly, the limited influence of breed on the evaluated parameters suggests that the preservation strategy exerted a greater impact on sperm quality than breed-related variability under the experimental conditions of this study. These findings reinforce the concept that the efficiency of semen preservation depends not only on maintaining sperm viability but also on preserving the functional characteristics of sperm movement that are essential for fertilisation.

Beyond the evaluation of a single commercial formulation, the present work supports a broader scientific concept: preservation technologies successfully developed for one domestic species may also prove effective in another when the physiological mechanisms underlying sperm survival are shared. Rather than focusing exclusively on the development of new extenders for each livestock species, the rational evaluation and adaptation of existing preservation technologies may constitute a scientifically robust, economically sustainable and rapidly applicable strategy for improving refrigerated semen preservation.

Future studies should integrate advanced sperm functional biomarkers, including plasma membrane integrity, mitochondrial function, oxidative status and DNA integrity, together with in vivo fertility trials, to determine whether the preservation of sperm quality observed during refrigeration ultimately translates into improved reproductive performance under field conditions. Such investigations will contribute to optimising semen preservation protocols and further establish the value of cross-species technological transfer as an innovative approach in animal reproductive biotechnology.

REFERENCES

- Alcay, S., Toker, M. B., Onder, N. T., Gokce, E., Ustuner, B., & Nur, Z. (2020). Goat semen cryopreservation with rainbow trout seminal plasma supplemented lecithin-based extender. *Cryobiology*, 92, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.01.003>
- Barbas, J. P., Leahy, T., Horta, A. E., & García-Herreros, M. (2018). Sperm kinematics and subpopulational responses during the cryopreservation process in caprine ejaculates. *Cryobiology*, 82, 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.03.005>

Barbas, J. P., Baptista, M. C., Carolino, N., Simões, J., Margatho, G., Pimenta, J., Claudino, F., Ferreira, F. C., Grilo, F., & Pereira, R. M. L. N. (2024). Effect of breed and season in buck semen cryopreservation: The Portuguese Animal Germplasm Bank. *Veterinary Sciences*, 11(7), 326. <https://doi.org/10.3390/vetsci11070326>

Batista, M., Niño, T., Santana, M., Álamo, D., Castro, N., Reyes, R., González, F., Cabrera, F., & Gracia, A. (2011). Influence of the preservation temperature (37, 20, 4, -196 °C) and the mixing of semen over sperm quality of Majorera bucks. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(2), 281–288. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01659.x>

Bodu, M., Hitit, M., Greenwood, O. C., Murray, R. D., & Memili, E. (2025). Extender development for optimal cryopreservation of buck sperm to increase reproductive efficiency of goats. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1554771. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1554771>

Brito, L. F. C., Linardi, R. L., Rosales, L. A. S., Balamurugan, N. S., Hernández-Avilés, C., & Ramírez-Agámez, L. (2025). Evaluation of a chemically defined, long-term extender for liquid storage of stallion semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 60(9), e70126. <https://doi.org/10.1111/rda.70126>

Cavalcanti, T. P., Pereira, A. G., Bezerra, L. G. P., Moreira, S. S. J., Silva, A. M., Matos, Y. G., Jorge-Neto, P. N., & Silva, A. R. (2023). Short-term preservation of canine sperm-binding ability and other metrics using the INRA-96 in comparison to Tris-egg yolk extender. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(9), 1320–1329. <https://doi.org/10.1111/rda.14448>

Dorado, J., Muñoz-Serrano, A., & Hidalgo, M. (2010). The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. *Animal Reproduction Science*, 121(1–2), 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.04.182>

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). *The second report on the state of the world's animal genetic resources for food and agriculture*. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. <https://www.fao.org/3/i4787e/i4787e.pdf>

Gallego-Calvo, L., Gatica, M. C., Santiago-Moreno, J., Guzmán, J. L., & Zarazaga, L. A. (2015). Seasonal changes in reproductive activity, sperm variables and sperm freezability in Blanca Andaluza bucks. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(4), e0403. <https://doi.org/10.5424/sjar/2015134-8168>

Hahn, K., Failing, K., & Wehrend, A. (2019). Effect of temperature and time after collection on buck sperm quality. *BMC Veterinary Research*, 15, 355. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2135-y>

Heydari, M., Qasemi-Panahi, B., Moghaddam, G., Daghigh-Kia, H., & Masoudi, R. (2021). Conservation of buck's spermatozoa during cooling storage period through cooling medium supplementation with L-carnitine. *Archives of Razi Institute*, 76(6), 1797–1802. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.356398.1836>

Iusupova, K., Batista-Arteaga, M., Martín-Martel, S., Díaz-Bertrana, M. L., & Rodríguez-Lozano, O. (2022). Effect of the donor's age and type of extender (egg yolk versus clarified egg yolk) over the sperm quality of Majorera bucks preserved at 4 °C: In vitro results and fertility trials. *Reproduction in Domestic Animals*, 57(5), 524–531. <https://doi.org/10.1111/rda.14090>

Kumar, S., Gupta, H. P., Prasad, S., Ambwani, T. K., Sharma, R. K., & Singh, J. L. (2025). Studies on the quality and antioxidant status of cryopreserved Pantja buck semen supplemented with aqueous extract of rosemary and sericin in Tris extender. *Biopreservation and Biobanking*, 23(4), 354–363. <https://doi.org/10.1089/bio.2024.0082>

Leboeuf, B., Restall, B., & Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 113–141. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00156-1](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00156-1)

Liu, T., Han, Y., Zhou, T., Zhang, R., Chen, H., Chen, S., & Zhao, H. (2019). Mechanisms of ROS-induced mitochondria-dependent apoptosis underlying liquid storage of goat spermatozoa. *Aging*, 11(18), 7880–7898. <https://doi.org/10.18632/aging.102295>

Martínez-Trancón, M., Parejo, J. C., Rabasco, A., Padilla, P., & Padilla, J. A. (2020). Genetic diversity, population genetic structure and conservation management of Spanish Verata goat breed. *Small Ruminant Research*, 187, 106106. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106106>

Mocé, E., Lozano-Palazón, S. A., Martínez-Granell, M. M., Mocé, M. L., & Gómez, E. A. (2020). Effect of the refrigeration system on in vitro quality and in vivo fertility of goat buck sperm. *Animals*, 10(12), 2399. <https://doi.org/10.3390/ani10122399>

Mocé, M. L., Esteve, I. C., Gómez, E. A., Pérez-Fuentes, S., & Mocé, E. (2023). Microbial composition of goat buck's ejaculates is modified by the process of preparing and storing refrigerated semen doses. *Theriogenology*, 209, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.06.013>

Nagata, M. P. B., Endo, K., Ogata, K., Yamanaka, K., Egashira, J., Katafuchi, N., Yamanouchi, T., Matsuda, H., Goto, Y., Sakatani, M., Hojo, T., Nishizono, H., Yotsushima, K., Takenouchi, N., Hashiyada, Y., & Yamashita, K. (2018). Live births from artificial insemination of microfluidic-sorted bovine spermatozoa characterized by trajectories correlated with fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(14), E3087–E3096. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717974115>

Neila-Montero, M., Riesco, M. F., Montes-Garrido, R., Palacín-Martínez, C., Chamorro, C., de Paz, P., Álvarez, M., Anel, L., & Anel-López, L. (2022). An optimized centrifugation protocol for ram sperm ensuring high sample yield, quality and fertility. *Theriogenology*, 191, 179–191. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.08.006>

Pérez, B., & Mateos, E. (1996). Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueña breeds. *Small Ruminant Research*, 22(2), 163–168. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(96\)00887-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(96)00887-5)

Ramachandran, N., Sejian, V. (2022) Climate resilience of goat breeds in India: A review. *Small Ruminant Research*, 208, 106630. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2022.106630>.

Rečková, Z., Filipčík, R., Soušková, K., Kopec, T., Hošek, M., & Pešan, V. (2022). The efficiency of different types of extenders for semen cooling in stallions. *Animal Bioscience*, 35(5), 670–676. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0300>

Sadeghi, S., Del Gallego, R., García-Colomer, B., Gómez, E. A., Yániz, J. L., Gosálvez, J., López-Fernández, C., & Silvestre, M. A. (2020). Effect of sperm concentration and storage temperature on goat spermatozoa during liquid storage. *Biology*, 9(9), 300. <https://doi.org/10.3390/biology9090300>

Santolaria, P., Vicente-Fiel, S., Palacín, I., Fantova, E., Blasco, M. E., Silvestre, M. A., & Yániz, J. L. (2015). Predictive capacity of sperm quality parameters and sperm subpopulations on field fertility after artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction Science*, 163, 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.10.001>

Sharma, A., Anand, M., Pareek, S., Yadav, S., Yadav, B., Dhariya, R., Kumar, A., & Rashmi. (2025). *Semen extenders in caprine reproduction: Composition, application and future prospects*. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 10(6 Suppl. A), 39–44. <https://doi.org/10.22271/veterinary.2025.v10.i6Sa.2359>

Thiangthientham, P., Kallayanatham, W., Juntautsa, S., & Leethongdee, S. (2024). Sesame oil as a partial substitute for egg yolk in goat semen extenders. *Animal Reproduction Science*, 266, 107500. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107500>

Xu, C.-L., Zhou, J.-B., Zhao, B.-T., Lan, G.-C., Luo, M.-J., Chang, Z.-L., Sui, H.-S., & Tan, J.-H. (2009). Liquid storage of goat semen in chemically defined extenders. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(5), 771–778. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01071.x>

This research was funded by Fundação para a Ciência e a Tecnologia (grant UID/05064/2025 - <https://doi.org/10.54499/UID/05064/2025>).

CAPÍTULO 14

PRESENTACIÓN CLÍNICA Y POST MORTEM DE *COENDOU RUFESCENS* CON PERITONITIS SÉPTICA Y LESIONES MULTIORGÁNICAS¹

Data de submissão: 25/08/2026

Data de aceite: 10/09/2026

Jesús David Echeverri-López

Biólogo, Especialista
Centro de Atención y Valoración de
Fauna Silvestre, CORNARE
El Santuario, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-5043-0282>

Viviana Elena Castillo-Vanegas

Médica veterinaria, MSc
Vitalab Diagnóstico Veterinario SAS
Rionegro, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0000-0003-2047-7220>

Laura María Laverde-Trujillo

Médica Veterinaria, MSc
Diagnóstico Histopatológico Veterinario
Medellín, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0009-0001-8371-816X>

Oscar Daniel Zapata-Zapata²

Médico Veterinario
Centro de Atención y Valoración de
Fauna Silvestre, CORNARE
El Santuario, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0009-0009-5281-2442>

Juliana Jaramillo-Cárdenas

Médica Veterinaria Zootecnista, MSc
Centro de Atención y Valoración de
Fauna Silvestre, CORNARE
El Santuario, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0009-0003-0489-4267>

Camilo Muñoz-Collazos

Médico Veterinario
Centro de Atención y Valoración de
Fauna Silvestre, CORNARE
El Santuario, Antioquia, Colombia
<https://orcid.org/0009-0000-4454-8201>

¹ Una versión resumida de este caso fue presentada en el XVIII Encuentro Nacional y XI Internacional de Investigadores de las Ciencias Pecuarias (ENICIP 2025) y publicada en las memorias del evento. El presente capítulo amplía la descripción clínica, anatomopatológica y la discusión del caso.

² Autor de correspondencia.

RESUMEN: Se describe la presentación clínica y los hallazgos post mortem de una hembra adulta de *Coendou rufescens* rescatada en una construcción del municipio de Rionegro, Antioquia, Colombia. El ejemplar ingresó con depresión, docilidad inusual, condición corporal disminuida, hipotermia, mucosas pálidas y secas, ausencia de acicalamiento, dolor abdominal, prueba de sucusión positiva, secreción perivulvar y una proliferación córnea en el tercer dedo del miembro anterior izquierdo. El hemograma reveló anemia severa microcítica e hipocrómica, leucocitosis con neutrofilia

y trombocitosis marcada; la química sérica evidenció aumento de las actividades de alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa. Se instauraron fluidoterapia, soporte nutricional, antibioticoterapia con amikacina y nutracéuticos. Aunque presentó mejoría aparente durante las primeras 72 horas, murió al cuarto día. En la necropsia se encontró efusión abdominal turbia con fibrina y una lesión de aspecto ulcerativo en la primera porción del duodeno. Histológicamente se observaron ulceración duodenal transmural con compromiso de la serosa, gastroenteritis linfoplasmocitaria grave, colonias bacterianas en la serosa intestinal, lipidosis y congestión hepáticas, nefrosis con trombosis glomerular, y edema, hemorragia y enfisema pulmonares. La lesión digital correspondió a una masa de queratina compacta, densa y ortoqueratótica compatible con callo córneo. La integración de los hallazgos sustentó peritonitis séptica secundaria a una lesión gastrointestinal grave, acompañada de lesiones multiorgánicas. La proliferación córnea, el sobrecrecimiento ungueal y la docilidad sugirieron exposición previa a condiciones de cautiverio, aunque este antecedente no pudo confirmarse. Este caso amplía la información clínica y patológica disponible para una especie escasamente documentada.

PALABRAS CLAVE: callo córneo; fauna silvestre; puercoespín; úlcera duodenal.

CLINICAL AND POST-MORTEM PRESENTATION OF *COENDOU RUFESCENS* WITH SEPTIC PERITONITIS AND MULTIORGAN LESIONS

ABSTRACT: This report describes the clinical and post-mortem presentation of an adult female *Coendou rufescens* rescued from a building in Rionegro, Antioquia, Colombia. On admission, the animal showed depression, unusual docility, reduced body condition, a temperature of 34.7 °C, pale and dry mucous membranes, lack of grooming, abdominal pain, a positive succussion test, perivulvar discharge, and a keratinized proliferation on the third digit of the left forelimb. Hematology revealed severe microcytic hypochromic anemia, leukocytosis with neutrophilia, and marked thrombocytosis. Serum biochemistry showed increased alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities. Fluid therapy, nutritional support, amikacin, and nutraceuticals were administered. Despite apparent improvement during the first 72 hours, the animal died on day four. Post-mortem examination revealed turbid abdominal effusion containing fibrin and an ulcerative lesion in the proximal duodenum. Histologically, there was transmural duodenal ulceration involving the serosa, severe lymphoplasmacytic gastroenteritis, bacterial colonies on the intestinal serosa, hepatic lipidosis and congestion, nephrosis with glomerular thrombosis, and pulmonary edema, hemorrhage, and emphysema. The digital lesion consisted of compact, dense, orthokeratotic keratin consistent with a corneum callus. The combined findings supported septic peritonitis secondary to severe gastrointestinal injury, accompanied by multiorgan lesions. The corneum callus, overgrown claws, and docile behavior suggested previous exposure to captive conditions, although this history could not be confirmed. This case expands the limited clinical and pathological information available for this poorly documented species.

KEYWORDS: corneum callus; duodenal ulcer; porcupine; wildlife.

1. INTRODUCCIÓN

El puercoespín de cola corta, *Coendou rufescens* (Gray, 1865), es un roedor neotropical de la familia Erethizontidae asociado con bosques subtropicales, templados y altoandinos. Su distribución comprende la región andina desde Colombia y Ecuador hasta Perú, con una población aislada en Bolivia. En Colombia se ha registrado en las tres cordilleras, y los modelos de distribución señalan que el país alberga una proporción importante del hábitat potencial de la especie (Narváez-Romero et al., 2018; Ramírez-Chaves et al., 2020, 2022).

Aunque presenta hábitos principalmente nocturnos y arbóreos, *Coendou rufescens* también puede desarrollar actividad diurna y desplazarse por el suelo. Su dieta está compuesta por material vegetal, incluidas hojas, corteza, frutos y semillas. Su registro en vías y ambientes urbanos o periurbanos evidencia el contacto ocasional con infraestructura humana, aspecto relevante para interpretar el hallazgo del ejemplar dentro de una construcción. La baja detectabilidad y el reducido número de individuos evaluados clínicamente han limitado el conocimiento de su biología, fisiología y enfermedades (Ramírez-Chaves et al., 2020, 2022). Los reportes sanitarios en *Coendou* se refieren principalmente a agentes infecciosos, entre ellos poxvirus y bacterias transmitidas por artrópodos (Guerra et al., 2022; Hora et al., 2021; Mancilla-Agrono et al., 2022; Silva et al., 2023).

En roedores silvestres mantenidos bajo cuidado humano, las alteraciones de dieta, sustrato, actividad y conducta pueden generar lesiones infrecuentes en vida libre. Entre ellas se han descrito callosidades córneas en guatines *Dasyprocta spp.* y acuchíes *Myoprocta acouchy* sometidos a presión repetitiva sobre superficies duras (Fowler & Cubas, 2001). No se identificaron descripciones clínicas previas de una lesión comparable en *C. rufescens*. Asimismo, la información sobre enfermedad gastrointestinal grave, peritonitis y respuesta sistémica a la infección en puercoespines neotropicales es limitada.

El objetivo de este capítulo es describir la evolución clínica, los resultados hematológicos y bioquímicos, el tratamiento y los hallazgos macro y microscópicos de una hembra adulta de *C. rufescens* con peritonitis séptica y lesiones multiorgánicas, además de documentar un callo córneo digital como posible indicador de exposición crónica a condiciones inadecuadas de cautiverio.

2. DESCRIPCIÓN DEL CASO

2.1. ANAMNESIS Y EVALUACIÓN CLÍNICA

El 24 de octubre de 2024 ingresó al Centro de Atención y Valoración de Fauna Silvestre de la Corporación Autónoma Regional de las Cuencas de los Ríos Negro y

Nare (CAV CORNARE), en El Santuario, Antioquia, una hembra adulta de *C. rufescens*, identificada con el CNI 12MA241145. El ejemplar había sido reportado en el sector de Santa Elena del municipio de Rionegro después de ser encontrado dentro de una construcción y fue recuperado por la unidad de emergencias de fauna silvestre. No se dispuso de información sobre el tiempo de permanencia en el lugar, la dieta previa ni una eventual tenencia en cautiverio.

El peso de ingreso fue de 1.045 g, el paciente se encontraba hipotérmico con una temperatura rectal de 34,7 °C y una condición corporal de 2/5. Se observó depresión y una docilidad inusual durante la manipulación, acompañada de vocalizaciones. Las mucosas estaban pálidas y secas, las púas de la región perirrostral se encontraban empastadas y no se observó conducta de acicalamiento. El ejemplar podía desplazarse; sin embargo, durante la palpación abdominal presentó dolor, evidenciado por prensa abdominal y una prueba de succusión positiva, compatible con presencia de líquido. También se evidenció secreción blanco-cremosa en la región perivulvar.

En el miembro anterior izquierdo se identificó sobrecrecimiento ungueal en los dedos primero y segundo, así como una proliferación córnea prominente y curvada en el tercer dedo. Debido a su consistencia y configuración se plantearon como diagnósticos diferenciales iniciales una neoplasia de tejidos blandos y un callo córneo. Se observaron heces en el contenedor de transporte, lo cual indicó tránsito intestinal reciente.

Figura 1. Hallazgos clínicos en una hembra adulta de *Coendou rufescens*. A) Proliferación córnea prominente y curvada en el tercer dedo del miembro anterior izquierdo. B) Aspecto de la lesión durante la evaluación post mortem, acompañada de sobrecrecimiento ungueal. Fotografías: Juliana Jaramillo-Cárdenas.



2.2. PRUEBAS DE LABORATORIO

El hemograma mostró anemia grave microcítica e hipocrómica, con recuento eritrocitario de $1,72 \times 10^6/\text{mm}^3$, hematocrito de 12,9 %, hemoglobina de 4,7 g/dl, volumen corpuscular medio de 74,8 fl y hemoglobina corpuscular media de 27,2 pg. En el frotis se registraron anisocitosis, poiquilocitosis, hipocromía y policromasia leves. La presencia de eritrocitos nucleados junto con los valores bajos de hematocrito, hemoglobina y recuento de glóbulos rojos, sugieren hallazgos compatibles con anemia regenerativa. Se desconocen tiempos de maduración celular para esta especie.

El recuento leucocitario fue de $46,6 \times 10^3/\text{mm}^3$, con neutrofilia absoluta y relativa de $36,81 \times 10^3/\text{mm}^3$ y 79 %, respectivamente, hallazgos sugestivos de leucocitosis severa de carácter inflamatorio agudo. Se observó linfocitosis absoluta de $8,85 \times 10^3/\text{mm}^3$, aunque el porcentaje relativo fue bajo (19 %) comparado con la línea neutrofílica, y recuento plaquetario de $3.711 \times 10^3/\text{mm}^3$, compatible con trombocitosis marcada. El recuento de proteínas plasmáticas diferenciadas fue de 6,16 g/dl, con albúmina de 3,57 g/dl, globulinas de 2,19 g/dl y relación albúmina/globulina de 1,63.

En la química sérica se documentaron actividades de alanina aminotransferasa (ALT) de 141 U/l y aspartato aminotransferasa (AST) de 556 U/l, así como una concentración de creatinina de 0,4 mg/dl. Debido a la ausencia de intervalos validados para *C. rufescens*, estos resultados se interpretaron de manera descriptiva y se contrastaron con datos publicados para otros *Coendou* y roedores histricomorfos, sin emplearlos como umbrales diagnósticos (Chiacchio et al., 2014; Moreau et al., 2003). Los intervalos inicialmente aportados por el laboratorio procedían de primates neotropicales y no se consideraron comparadores taxonómicamente apropiados.

2.3. TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

Se instauró fluidoterapia intravenosa con solución de NaCl al 0,9 % y dextrosa al 5 % a 20 ml/kg cada 12 horas, y una solución de aminoácidos y electrolitos (Aminolyte®) a 5 ml/kg cada 24 horas. La antibioticoterapia consistió en amikacina a 6 mg/kg por vía intravenosa cada 12 horas. Como soporte se administraron Liv.52® a 0,5 ml/kg por vía oral cada 24 horas, CANATOX® a 0,1 ml/kg por vía oral cada 12 horas, Hemolitan® a 0,1 ml/kg por vía oral cada 24 horas y vitamina C a 50 mg/kg por vía oral cada 24 horas. La prescripción fue planteada por seis días, pero no se completó debido al desenlace.

Durante las primeras 72 horas se registró una evolución clínica aparentemente favorable. No obstante, el ejemplar murió de manera súbita, cuatro días después del ingreso. La necropsia se realizó al día siguiente y se recolectaron muestras para evaluación citológica e histopatológica. El informe citológico definitivo del líquido abdominal no

estuvo disponible para la elaboración de este manuscrito; sin embargo, en los registros clínicos se consignaron características compatibles con peritonitis séptica.

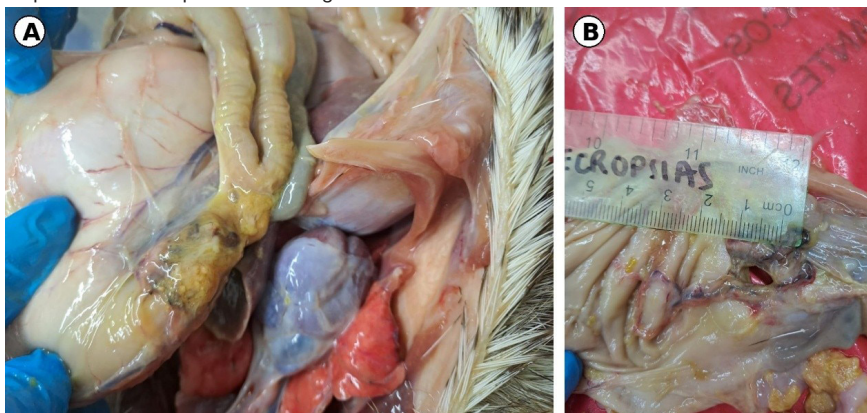
2.4. HALLAZGOS POST MORTEM

En el examen externo se registró un peso de 1.145 g y una condición corporal aproximada de 1,5/5, con prominencia de estructuras óseas y escasa masa muscular. La mucosa oral era pálida con tonalidad violácea; no se observaron alteraciones evidentes de maloclusión dental. Persistían el empastamiento perirrostral, la proliferación córnea del tercer dedo y el sobrecrecimiento ungueal de los dedos primero y segundo del miembro anterior izquierdo. Se encontró secreción blanco-cremosa perivulvar y material mucoide en la abertura anal.

En la cavidad abdominal se recolectaron aproximadamente 42 ml de líquido turbio amarillo-ámbar con coágulos de fibrina. En la primera porción del duodeno se identificó una lesión ulcerativa de aproximadamente 9 × 4 mm, con reacción vascular y fibrinosa adyacente, interpretada macroscópicamente como una perforación. El hígado presentaba aumento de volumen, bordes redondeados y un patrón de coloración compatible con lipidosis y congestión. La mucosa gástrica era friable y se desprendía con facilidad.

Los pulmones presentaron congestión, edema y áreas enfisematosas. Se registraron hidropericardio, pericarditis y lesiones pálidas en el miocardio interpretadas macroscópicamente como áreas de infarto. Los vasos mesentéricos, cardíacos y encefálicos estaban plétóricos. Los riñones mostraron pérdida de la diferenciación corticomedular y un quiste; el encéfalo y el cerebelo tenían apariencia edematosa y el tallo encefálico presentaba hemorragia. Los cuernos uterinos estaban engrosados y edematosos, con congestión de la serosa y equimosis endometrial.

Figura 2. Hallazgos macroscópicos abdominales. A) Efusión y reacción fibrinosa asociadas con la lesión gastrointestinal. B) Lesión ulcerativa en la primera porción del duodeno, de aproximadamente 9 × 4 mm, interpretada macroscópicamente como perforante. Fotografías: Juliana Jaramillo-Cárdenas.



2.5. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

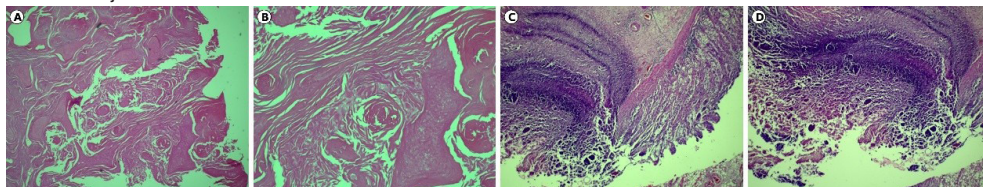
Las muestras fueron fijadas en formol al 10 %, procesadas mediante técnica rutinaria y teñidas con hematoxilina-eosina. En el tejido del tercer dedo se observó pérdida de la arquitectura normal y sustitución por abundante queratina compacta, densa y ortoqueratótica, hallazgo compatible con callo córneo.

En el duodeno se evidenció pérdida extensa de la arquitectura y de la continuidad de las capas, con inflamación mixta que incluyó neutrófilos y linfocitos intraepiteliales, además de acortamiento y pérdida de vellosidades. Aunque la lesión alcanzaba la serosa, en los cortes examinados no se demostró una comunicación completa con la cavidad; se consideró posible la filtración de contenido. En el intestino grueso había atrofia marcada de criptas, infiltrado linfoplasmocitario grave, difuso y transmural, inflamación polimorfonuclear en la serosa y colonias bacterianas, junto con congestión y cambios hemorrágicos. Los diagnósticos fueron úlcera duodenal y gastroenteritis linfoplasmocitaria asociada con síndrome de malabsorción.

El hígado mostró pérdida multifocal de la arquitectura, vacuolización hepatocelular de tamaño variable con desplazamiento nuclear, material lipídico, eritrocitos en canalículos biliares y hepatocitos, congestión y edema. En el riñón se observaron glomérulos ligeramente esclerosados, hiper celularidad mesangial, trombosis glomerular, gotas de reabsorción proteica en podocitos, dilatación tubular y material eosinofílico intraluminal. Estos cambios se interpretaron como lipidosis hepática, nefrosis y lesiones compatibles con coagulación intravascular diseminada.

En el pulmón se encontraron alvéolos distendidos, algunos con ruptura de las paredes, detritos, macrófagos, hemorragia, pigmentos férricos y edema proteico. También se documentaron hiperplasia de neumocitos tipo II, congestión, hiperemia y edema vascular. El diagnóstico morfológico incluyó enfisema, edema y hemorragia pulmonar.

Figura 3. Hallazgos histopatológicos. A-B) Lesión digital con pérdida de la arquitectura y abundante queratina compacta y ortoqueratótica. C-D) Duodeno con pérdida extensa de la arquitectura, ulceración transmural e infiltrado inflamatorio mixto. Tinción de hematoxilina-eosina; objetivos de 10× y 40×. Fotografías: Laura María Laverde-Trujillo.



3. DISCUSIÓN

El caso documenta una enfermedad gastrointestinal grave en *C. rufescens* con inflamación transmural, posible filtración duodenal, contaminación bacteriana de la serosa, efusión fibrinosa y lesiones sistémicas. En medicina veterinaria, la peritonitis séptica secundaria suele originarse por pérdida de la integridad gastrointestinal, y su evolución puede ser rápida aun cuando se instauren fluidos y antimicrobianos (Costello et al., 2004; Dayer et al., 2013). En este ejemplar, el dolor abdominal, la prueba de sucusión positiva, la neutrofilia marcada, el líquido abdominal turbio con fibrina, las colonias bacterianas en la serosa y la lesión duodenal conformaron evidencia convergente de peritonitis séptica. Sin embargo, la ausencia del informe citológico completo y de cultivo bacteriano impidió identificar el agente y evaluar su sensibilidad antimicrobiana.

La diferencia entre la interpretación macroscópica de perforación y la descripción histológica de una lesión que alcanzaba la serosa sin una solución de continuidad total demostrable no es necesariamente excluyente. El muestreo histológico representa una fracción limitada de la lesión, por lo que una comunicación focal puede no quedar incluida en los cortes. También es posible que existiera filtración a través de una pared gravemente alterada. Por ello, la expresión “lesión ulcerativa duodenal transmural con posible filtración” refleja de manera más fiel la evidencia disponible.

La anemia fue severa y probablemente contribuyó a la hipoxia tisular, el decaimiento y la palidez. Como comparación secundaria, los valores descritos en *Hydrochoerus* sp. de vida libre y en *Coendou prehensilis* y *Coendou melanurus* respaldan de manera descriptiva la interpretación de anemia severa, microcitosis y leucocitosis, pero no constituyen intervalos de referencia para *C. rufescens* (Chiacchio et al., 2014; Moreau et al., 2003). La presencia de resultados bajos en analitos propios de la línea roja junto con los hallazgos de policromasia leve y los eritrocitos nucleados soportan la evidencia de anemia de carácter regenerativo, aunque no están documentados valores hematológicos validados para la especie. La microcitosis y la hipocromía permiten considerar deficiencia de hierro o pérdida crónica de sangre gastrointestinal; la inflamación sistémica y el deterioro nutricional también pudieron contribuir. Estas posibilidades deben considerarse hipótesis, puesto que no se midieron hierro, ferritina, capacidad de fijación del hierro ni sangre oculta en heces.

La leucocitosis con neutrofilia fue coherente con una respuesta inflamatoria bacteriana, mientras que la trombocitosis pudo representar una respuesta reactiva a la inflamación, el estrés o la pérdida sanguínea. La trombocitosis periférica y la presencia de microtrombos tisulares pueden coexistir en un contexto de inflamación sistémica,

activación endotelial y estado protrombótico. Aunque la trombosis glomerular y los cambios vasculares fueron compatibles con activación de la coagulación, la ausencia de pruebas de coagulación y de mediciones hematológicas seriadas impidió confirmar y caracterizar clínicamente una coagulación intravascular diseminada.

No se dispone de un intervalo de referencia validado para la temperatura rectal de *C. rufescens*. El valor de 34,7 °C registrado al ingreso fue inferior a la media comunicada para *C. prehensilis* bajo contención farmacológica ($36,11 \pm 0,56$ °C), por lo que se interpretó como una temperatura corporal baja. Esta comparación debe tomarse con cautela debido a las diferencias interespecíficas y al efecto de los fármacos sobre la termorregulación (Nascimento, 2018).

El aumento de ALT y AST, junto con la lipidosis, la congestión y el edema hepáticos, fue compatible con daño hepatocelular; no obstante, la magnitud y especificidad de estas enzimas no se han establecido para *C. rufescens*, y la AST también puede aumentar por lesión muscular o hemólisis. De forma similar, una concentración aislada de creatinina de 0,4 mg/dl no excluye lesión renal temprana. La trombosis glomerular, la reabsorción proteica y la dilatación tubular demostraron daño renal que no fue evidente mediante el único analito disponible. Los hallazgos pulmonares, hepáticos y renales justifican la expresión «lesiones multiorgánicas»; sin embargo, no se dispuso de variables funcionales seriadas para afirmar falla de cada órgano.

El callo córneo constituye otro aporte relevante. La histología descartó una proliferación neoplásica y demostró una masa formada por queratina compacta ortoqueratótica. En guatines y acuchíes bajo cuidado humano se han descrito callosidades asociadas con presión mecánica repetitiva y sustratos duros, habitualmente en regiones metatarsianas, tarsales o calcáneas (Fowler & Cubas, 2001). En este caso, la localización digital fue atípica. La docilidad, el sobrecrecimiento ungueal y el callo córneo sugieren restricción prolongada del comportamiento y contacto repetitivo con una superficie inadecuada. No obstante, como el individuo fue encontrado sin antecedentes verificables, estos hallazgos no demuestran por sí solos una vida previa en cautiverio.

La etiología de la úlcera tampoco pudo establecerse. El estrés crónico, el ayuno, una dieta inadecuada, la enfermedad inflamatoria intestinal, la hipoperfusión y otros procesos sistémicos pueden alterar la barrera gastrointestinal. En el ejemplar se observaron condición corporal baja, gastroenteritis linfoplasmocitaria, atrofia de vellosidades y criptas y cambios compatibles con malabsorción, por lo que es posible que existiera un proceso gastrointestinal crónico antes del rescate. No se realizaron pruebas para agentes infecciosos gastrointestinales, tóxicos o parasitarios, ni se conocía

la dieta previa; por consiguiente, atribuir la úlcera exclusivamente al estrés o al cautiverio excedería la evidencia.

La elección empírica de amikacina respondió a la sospecha de infección bacteriana grave y a la disponibilidad terapéutica. La aparente mejoría inicial no descarta la progresión de un foco intraabdominal que habría requerido control de origen. En peritonitis secundaria a perforación gastrointestinal, el tratamiento definitivo suele incluir estabilización, antimicrobianos de amplio espectro y resolución quirúrgica del foco cuando el estado del paciente lo permite (Costello et al., 2004; Dayer et al., 2013). En este caso, el origen gastrointestinal no fue identificado antes de la muerte y no se practicaron ecografía abdominal, abdominocentesis diagnóstica inmediata ni exploración quirúrgica. Estas limitaciones, junto con la escasez de parámetros fisiológicos para la especie, ilustran los desafíos del abordaje de fauna silvestre críticamente enferma.

Los reportes clínicos en puercoespines neotropicales siguen siendo escasos y se concentran en infecciones por poxvirus y otros agentes (Guerra et al., 2022; Hora et al., 2021; Mancilla-Agrono et al., 2022; Silva et al., 2023). En ese contexto, la descripción integrada de signos, hematología, química sérica, necropsia e histopatología aporta información de referencia para futuros casos. También resalta la necesidad de desarrollar intervalos hematológicos y bioquímicos específicos, protocolos de diagnóstico abdominal y criterios de bienestar aplicables a *Coendou*.

4. CONCLUSIONES

La integración de los hallazgos clínicos, hematológicos y anatomopatológicos sustentó el diagnóstico de peritonitis séptica asociada con una lesión ulcerativa duodenal transmural y gastroenteritis grave, acompañada de lesiones hepáticas, renales, pulmonares y vasculares. La ausencia de cultivo y del informe citológico completo limitó la identificación del agente y la caracterización definitiva del proceso séptico.

La proliferación digital correspondió histológicamente a un callo córneo y no a una neoplasia. Su localización, sumada al sobrecrecimiento ungueal y a la docilidad del ejemplar, permitió sospechar exposición crónica a condiciones de cautiverio, pero no confirmar este antecedente. El caso amplía la información clínica disponible para *C. rufescens* y evidencia la importancia de documentar de forma integrada la evolución clínica y los hallazgos post mortem en especies silvestres poco estudiadas.

5. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El ejemplar fue atendido en el CAV de Fauna Silvestre de CORNARE en cumplimiento de las funciones institucionales de recepción, valoración y manejo de fauna

silvestre. Las intervenciones descritas tuvieron finalidad diagnóstica y terapéutica y no correspondieron a experimentación. Las fotografías fueron obtenidas durante la atención clínica, la necropsia y el procesamiento histopatológico por integrantes del equipo autor, quienes autorizaron su utilización académica.

6. CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Oscar Daniel Zapata-Zapata y Juliana Jaramillo-Cárdenas: atención del paciente, manejo terapéutico, adquisición de datos clínicos, necropsia y documentación fotográfica. Juliana Jaramillo-Cárdenas: curación de datos y redacción del borrador. Viviana Elena Castillo-Vanegas: procesamiento y análisis de las muestras de sangre y líquido peritoneal, revisión del manuscrito. Laura María Laverde-Trujillo: procesamiento y evaluación histopatológica de las muestras obtenidas durante la necropsia y documentación microscópica. Jesús David Echeverri-López y Camilo Muñoz-Collazos: supervisión, coordinación institucional de la colaboración con los laboratorios, revisión y edición del manuscrito.

7. CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés relacionados con la elaboración y publicación de este capítulo.

8. AGRADECIMIENTOS

Al equipo técnico y operativo del Centro de Atención y Valoración de Fauna Silvestre de CORNARE, a Vitalab Diagnóstico Veterinario SAS y a Diagnóstico Histopatológico Veterinario por su participación en la atención, procesamiento de muestras y documentación del caso.

REFERENCIAS

Chiacchio, R. G. D., Prioste, F. E. S., Vanstreels, R. E. T., Knöbl, T., Kolber, M., Miyashiro, S. I., & Matushima, E. R. (2014). Health evaluation and survey of zoonotic pathogens in free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Journal of Wildlife Diseases*, 50(3), 496-504. <https://doi.org/10.7589/2013-05-109>

Costello, M. F., Drobatz, K. J., Aronson, L. R., & King, L. G. (2004). Underlying cause, pathophysiologic abnormalities, and response to treatment in cats with septic peritonitis: 51 cases (1990-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(6), 897-902. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.225.897>

Dayer, T., Howard, J., & Spreng, D. (2013). Septic peritonitis from pyloric and non-pyloric gastrointestinal perforation: Prognostic factors in 44 dogs and 11 cats. *Journal of Small Animal Practice*, 54(12), 625-629. <https://doi.org/10.1111/jsap.12151>

Fowler, M. E., & Cubas, Z. S. (Eds.). (2001). Biology, medicine, and surgery of South American wild animals. Iowa State University Press.

Guerra, J. M., Navas-Suárez, P. E., Ferreira-Machado, E., Ervedosa, T. B., Figueiredo, K. B., de Carvalho, A. C. S. R., Silva, M. L., Caiaffa, M. G., da Costa, A. L. M., Teixeira, R. H. F., Buti, T. E. M., Luchs, A., Namiyama, G. M., de Lima, L. B., Taniwaki, N. N., Matsumoto, P. S. S., & de Azevedo Fernandes, N. C. C. (2022). Diagnosis and successful treatment of Brazilian porcupine poxvirus infection in a free-ranging hairy dwarf porcupine (*Coendou spinosus*). Brazilian Journal of Microbiology, 53(4), 2321-2327. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00804-3>

Hora, A. S., Taniwaki, S. A., Martins, N. B., Pinto, N. N. R., Schlemper, A. E., Santos, A. L. Q., Szabó, M. P. J., & Brandão, P. E. (2021). Genomic analysis of novel poxvirus Brazilian porcupinepox virus, Brazil, 2019. Emerging Infectious Diseases, 27(4), 1177-1180. <https://doi.org/10.3201/eid2704.203818>

Mancilla-Agrono, L. Y., Banguero-Micolta, L. F., Ossa-López, P. A., Ramírez-Chaves, H. E., Castaño-Villa, G. J., & Rivera-Páez, F. A. (2022). Is *Borrelia burgdorferi* sensu stricto in South America? First molecular evidence of its presence in Colombia. Tropical Medicine and Infectious Disease, 7(12), 428. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7120428>

Moreau, B., Vié, J. C., Cotellon, P., De Thoisy, B., Motard, A., & Raccurt, C. P. (2003). Hematologic and serum biochemistry values in two species of free-ranging porcupines (*Coendou prehensilis* and *Coendou melanurus*) in French Guiana. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 34(2), 159-162. <https://doi.org/10.1638/01-023>

Nascimento, L. R. (2018). Contenção farmacológica de ouriço-cacheiro (*Coendou prehensilis*, Linnaeus, 1758), com protocolos calculados por extrapolação alométrica interespecífica [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Uberlândia]. <https://doi.org/10.14393/ufu.te.2019.1206>

Narváez-Romero, C., Reyes-Puig, C., Valle, D., & Brito, J. (2018). New records and estimation of the potential distribution of the stump-tailed porcupine *Coendou rufescens*. Therya, 9(2), 137-146. <https://doi.org/10.12933/therya-18-581>

Ramírez-Chaves, H. E., Romero-Ríos, C., Henao-Osorio, J. J., Franco-Herrera, J. P., & Ramírez-Padilla, B. R. (2020). Notes on the natural history of the stump-tailed porcupine, *Coendou rufescens* (Rodentia, Erethizontidae), in Colombia. Neotropical Biology and Conservation, 15(4), 471-478. <https://doi.org/10.3897/neotropical.15.e56926>

Ramírez-Chaves, H. E., Torrez-Martínez, M. M., Henao-Osorio, J. J., Osbahr, K., Concha-Osbahr, C., Passos, F. C., & Noguera-Urbano, E. A. (2022). Distribution update, male genitalia, natural history, and conservation of the stump-tailed porcupine *Coendou rufescens* in South America. Mammalia, 86(2), 160-170. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2021-0025>

Silva, D. J. F., Moreira, J. M., Ribeiro, M., Maruyama, F. H., Morgado, T. O., Nakazato, L., Dutra, V., & Colodel, E. M. (2023). Brazilian porcupinepox virus infection in a free-ranging neotropical porcupine in Mato Grosso, Brazil. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 35(3), 304-306. <https://doi.org/10.1177/10406387231161340>

SOBRE O ORGANIZADOR

Eduardo Eugênio Spers realizou pós-doutorado na Wageningen University (WUR), Holanda, e especialização no IGIA, França. Possui doutorado em Administração pela Universidade de São Paulo (USP). Foi Professor do Programa de Mestrado e Doutorado em Administração e do Mestrado Profissional em Comportamento do Consumidor da ESPM. Líder do tema Teoria, Epistemologia e Métodos de Pesquisa em Marketing na Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Administração (ANPAD). Participou de diversos projetos de consultoria e pesquisa coordenados pelo PENSA e Markestrat. É Professor Titular no Departamento de Economia, Administração e Sociologia, docente do Mestrado em Administração e Coordenador do Grupo de Extensão MarkEsalq no campus da USP/Esalq. Proferiu palestras em diversos eventos acadêmicos e profissionais, com diversos artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, livros e capítulos de livros sobre agronegócios, com foco no marketing e no comportamento do produtor rural e do consumidor de alimentos.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Absorción 40, 48, 131, 132, 134, 135, 136, 140, 144, 152

Ácido giberélico 33, 34, 36, 39, 40, 41, 42

Agave 43, 44, 45, 46, 53, 54, 55

Alfalfa 32, 152, 159

Alimentación 42, 54, 91, 117, 125, 126, 133, 137, 145, 150, 158, 159, 160, 162, 163, 169, 172, 173, 175, 177, 178

B

Beauveria bassiana 85, 86, 88, 89, 99, 101, 102, 103, 104

Bienestar animal 152, 174, 175, 176, 177, 178, 185, 186

C

Café 68, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103

Callo córneo 216, 217, 218, 221, 223, 224

Cinco libertades 175, 176

Componentes principales 2, 3, 5, 7, 9, 11, 161

Coniella 105, 106, 109, 110, 111, 112

Conservação seminal 188

Corynespora 105, 106, 109, 110, 111, 112

Cultivo in vitro 46, 55, 56, 62, 64, 74, 76

Cúrcuma 158, 159, 161, 162, 163, 164, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173

Cuyes 158, 159, 160, 162, 163, 169, 170, 172, 173

D

Diluidor 187, 188

Doble haploide 56, 64, 81

Duplicación cromosómica 56, 58, 60, 68, 79, 80

E

Estrés abiótico 44, 45, 57

Estrés por calor 143, 144, 149, 152, 157

F

Fauna silvestre 215, 216, 217, 218, 224, 225

G

Gallinas ponedoras 174, 175, 176, 177, 178, 185, 186

H

Haploides 56, 57, 58, 60, 63, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 79, 80, 81, 82

Hibiscus sabdariffa 105, 106, 113

Homocigosis 56, 57, 58, 79, 80, 82

Hypothenemus hampei 85, 86, 90, 102, 103, 104

M

Mejoramiento vegetal 56, 74, 80

Metabolismo secundario 44, 45

Minerales 39, 131, 139

Monitoreo de Oebalus 115

Morfología 44, 67, 79, 108, 171

N

Nutrición vegetal 34, 38, 42

O

Olive-tree 17

P

Parâmetros climáticos 115, 119, 121, 122, 123

Parâmetros productivos 158, 159, 161, 169, 172, 173, 185

Propilenglicol 143, 144, 145, 147, 152, 155

Propionato 143, 144, 145, 147, 149, 150, 151, 152, 153, 154

Puercoespín 216, 217

R

Refrigeração 188

Rendimiento de grano 3, 5, 8, 82

Reprodução assistida 188

Rumiantes 132, 135, 137, 144, 145, 146, 147, 149, 150, 151, 154
RWC 17, 19, 21, 22, 25, 27, 28, 29, 30

S

Salt stress 16, 17, 18, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32
Sémen caprino 187, 188
Sistema de pastoreo 174, 175, 177, 180, 181, 182, 183, 184, 185
Sistema de piso 174, 175, 179, 180, 181, 183, 184, 185
Sistemas de inmersión temporal 43, 44, 46
Solución steiner 33, 34, 35, 36, 37, 40, 42
SREG 2, 3, 4, 7, 15
Stomatal density 17, 22, 23, 24, 28, 29

U

Úlcera duodenal 216, 221
Umbrales de tratamiento 115, 119, 126, 127

V

Varieties 17, 18, 19, 21, 24, 25, 26, 28, 29, 30
Vitamina D 131, 132, 135, 138, 139

W

Wax rate 17, 20, 22, 24, 27

Z

Zea Mays L. 3



EDITORA
ARTEMIS

2026