# itea

información técnica económica agraria

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO






Volumen 111

Número 1

Marzo 2015

AIDA

www.aida-itea.org

# itea

**Información Técnica Económica Agraria**
**Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**
**www.aida-itea.org**

| | | |
|---|---|---|
| 2015 - AÑO XLX<br>Vol. 111 N.º 1<br>http://dx.doi.org/10.12706/itea | **DIRECCIÓN Y REDACCIÓN**<br>Avda. Montañana, 930<br>50059 ZARAGOZA (ESPAÑA)<br>Tel.: 34-976 716305<br>Fax.: 34-976 716335<br>E-mail: cmmarin@aragon.es | Depósito legal: Z-577-82<br>ISSN: 2386-3765<br>INO Reproducciones, S.A.<br>Pol. Malpica, calle E, 32-39<br>(INBISA II, nave 35)<br>50016 Zaragoza |


DIRECTOR: Clara Mª Marín, CITA de Aragón. España
SUBDIRECTOR: Pilar Andreu, EEAD Zaragoza. España
EDITORES CIENTÍFICOS: Alicia Cirujeda, CITA de Aragón. España
Azucena Gracia, CITA de Aragón. España
Ramón Isla, CITA de Aragón. España
Albina Sanz, CITA de Aragón. España
EDITOR TÉCNICO: Mireia Blanco, CITA de Aragón. España

COMITÉ DE REDACCIÓN: Alfonso Abecia, Universidad de Zaragoza. España
Javier Álvarez, Universitat de Lleida. España
Jorge Álvaro, EEAD Zaragoza. España
Carlos Calvete, CITA de Aragón. España
Fernando Escriu, CITA de Aragon. España
Cristina Mallor, CITA de Aragón. España
Juan A. Marín, EEAD Zaragoza. España
Javier Rodrigo, CITA de Aragón. España

COMITÉ ASESOR: Ricardo Aké, Universidad Autónoma de Yucatán, México • Joaquim Balcells, Universidad de Lleida, España • Carlos Cantero, Universidad de Lleida, España Mª Elena Daorden, INTA, Argentina • Mª José Díez, Universidad Politécnica de Valencia, España • Miguel Gómez, Cornell University EEUU • Margarita López, Centro de Investigación Agraria "Finca La Orden-Valdesequera", España • Ana Meikle, Universidad de la República, Uruguay • Mª Teresa Muiño, Universidad de Zaragoza, España • Julio Olivera, Universidad de la República, Uruguay • César Revoredo-Giha, SAC, Reino Unido • Ricardo Revilla, DGA, España • José Antonio Rubio, ITACYL, España Pierre Sans, École Nationale Vétérinaire de Toulouse, Francia • Guillermo Studdert, Universidad del Mar del Plata, Argentina • Alfredo Teixeira, Escola Superior Agrária de Bragança, Portugal • Luis Varona, Universidad de Zaragoza, España

ITEA-Información Técnica Económica Agraria aparece indexada en SCI Expanded, Journal Citation Reports/Science Editions, ICYT, CABI, SCOPUS. Prohibida toda reproducción total o parcial sin autorización expresa de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario, Editor Titular del Copyright. ITEA no se responsabiliza necesariamente de las opiniones vertidas en los artículos firmados que publica, cuya responsabilidad corresponde a sus autores.

**Suscripciones y Distribución**: ITEA publica anualmente cuatro volúmenes. El precio de la suscripción para 2015 es de 42 €. Se acepta el intercambio con otras revistas. E-mail: jmoreno@aragon.es



Foto y texto: Francisco Molino Gahete

La falta de información clara en los envases de los alimentos, junto con la disparidad de criterios normativos en el etiquetado en los diferentes países, son dos de las principales causas de descontento entre los productores, elaboradores y consumidores europeos. Con el fin de proteger a los consumidores mediante el aporte de una información comprensible y asegurar igualdad de condiciones de comercialización para las empresas agroalimentarias, desde Diciembre del 2014 es aplicable el Reglamento Europeo 1169/2011 sobre información alimentaria facilitada al consumidor. Algunas de las novedades son la obligatoriedad de indicar el país de origen de la carne fresca, el tipo de aceite vegetal, los alérgenos o la información nutricional obligatoria. Esta normativa junto con otros reglamentos relacionados con las declaraciones nutricionales y propiedades saludables conforman un paquete legislativo que nos facilitará poder ejercer el derecho a tomar la opción alimentaria que mejor se adapte a nuestras necesidades dietéticas.

# Sumario


**Producción Vegetal**

Producción de pepino en ambientes diferenciados por mallas de sombreo fotoselectivo.
*Cucumber production in several light environments by photoselective shade nets*.
F. Ayala-Tafoya, M.G. Yáñez-Juárez, L. Partida-Ruvalcaba, F.H. Ruiz-Espinosa, H. Campos-García, O. Vásquez-Martínez, T. de J. Velázquez-Alcaraz y T. Díaz-Valdés 3

Influencia de Rizobacterias en la Germinación y Vigor de Semillas de Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande').
*Influence of Rhizobacteria on Seed Germination and Vigor of Seeds Chili Jalapeno (*Capsicum annuum *L. 'var. Grande')*.
G. Nuncio-Orta, R. Mendoza-Villarreal, V. Robledo-Torres, M. Vázquez-Badillo y J.J. Almaraz-Suárez 18

**Producción Animal**

Uso del "ChemSensor" como herramienta de discriminación precoz del semen de cerdo Ibérico en función de su congelabilidad.
*Use of "ChemSensor" as an early discrimination tool of Iberian pig semen according to their freezability.*
J. Gómez-Fernández, C. Tomás, J.A. Carrasco, R. Sánchez-Sánchez, A. González-Bulnes, E. Gómez-Izquierdo y E. de Mercado 34

Nota técnica

Efecto de los implantes de melatonina y la presencia de compañeros sobre los rendimientos de los moruecos durante la monta.
*Effect of melatonin implants and flock mates on mating performance of rams.*
J.A. Abecia, I. Palacín y A. Roche 50

**Economía Agraria**

Aceptación de variedades tradicionales de tomate en mercados locales. Un estudio de valoración contingente.
*Acceptance of traditional tomato varieties in local markets. A contingent valuation study.*
L. Martínez-Carrasco, M. Brugarolas-Mollá, A. Martínez-Poveda, J.J. Ruiz-Martínez y S. García-Martínez 56

Factores críticos del éxito de una fusión de cooperativas.
*Factors that contribute to the success of a merger of cooperatives.*
E. Meliá-Martí y A. Martínez-García 73

# Producción de pepino en ambientes diferenciados por mallas de sombreo fotoselectivo

F. Ayala-Tafoya[1,*], M.G. Yáñez-Juárez[1], L. Partida-Ruvalcaba[1], F.H. Ruiz-Espinosa[2], H. Campos-García[3], O. Vásquez-Martínez[4], T. de J. Velázquez-Alcaraz[1] y T. Díaz-Valdés[1]

[1] Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México
[2] Departamento Académico de Agronomía, Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, B.C.S., México
[3] Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Texcoco, Edo. de México, México
[4] Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Ags., México

**Resumen**

Durante los ciclos agrícolas 2011/2012 y 2012/2013 se evaluó la radiación solar transmitida por seis mallas con 30% de sombra: aluminada, gris, perla, azul, roja (coloreadas) y negra, y sus efectos en el crecimiento, desarrollo y rendimiento de pepino. La malla roja transmitió 42,6; 23,7; 40,3; 52,9 y 57,3% más radiación solar total (350 a 1050 nm), fotosintética (400 a 700 nm), roja (600 a 700 nm), roja lejana (700 a 800 nm) e infrarroja (800 a 1050 nm); la malla aluminada transmitió 83,5% más luz ultravioleta-A (350 a 400 nm); y la malla azul 36% más luz azul (400 a 500 nm); que las respectivas transmisiones de la malla negra. Las mallas no influyeron significativamente en la temperatura del aire, pero las coloreadas aumentaron la humedad relativa máxima (3,4 a 4,2%) y la temperatura de las hojas superiores (0,2 a 0,9 °C), así como sus propiedades fotosintéticas: transpiración, conductancia estomática y asimilación de $CO_2$. Consecuentemente, la longitud (240,0 cm) y diámetro de tallo (8,0 mm), número de hojas (22,2), área foliar (406,0 $cm^2$), verdor (41,6 unidades SPAD) y peso seco de hojas (52,5 g por planta) y tallo (14,7 g por planta) que presentaron las plantas en la malla negra, se incrementaron en 11,6; 10; 12,6; 23,4; 22,8; 9,5 y 36,7% con la malla roja. Las mallas perla, roja, aluminada y azul, representan opciones viables pues aumentaron el rendimiento obtenido con la malla negra (5,2 kg $m^{-2}$) en 71,1; 48,1; 46,1 y 46,1%; respectivamente.

**Palabras clave:** *Cucumis sativus*, mallas sombra coloreadas, transmisión de luz, fotosíntesis, crecimiento de plantas, rendimiento de frutos.

**Abstract**
**Cucumber production in several light environments by photoselective shade nets**

During the agricultural cycles of 2011/2012 and 2012/2013, the transmitted sunlight by six nets with 30% shade: aluminized, gray, pearl, blue, red (colored) and black, and its effects on growth, development and yield of cucumber were evaluated. The red net transmitted 42.6, 23.7, 40.3, 52.9 and 57.3% more total sun radiation (350-1050 nm), photosynthetic active radiation (400 to 700 nm), red light (600-700

* Autor para correspondencia: tafoya@uas.edu.mx
http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.001

nm), far red light (700-800 nm) and infrared radiation (800-1050 nm); the gray net transmitted 83.5% more ultraviolet-A light (350-400 nm) and the blue net 36% more blue light (400-500 nm), that the respective black net transmissions. The nets did not significantly change the air temperature, but colored nets increased the maximum relative humidity (3.4 to 4.2%), temperature of the upper leaf (0.2 to 0.9 °C) and the photosynthetic leaf responses: transpiration, stomatal conductance and $CO_2$ assimilation. Consequently, the plant height (240.0 cm), stem diameter (10.0 mm), leaves number (22.2), leaf area (406.0 $cm^2$ per leave), greenness (41.6 SPAD units), stem and leaf dry weight (52.5 and 14.7 g per plant, respectively) of plants growing in black net, were increased by 11.6, 10, 12.6, 23.4, 22.8, 9.5 and 36.7% with the red net. The pearl, red, aluminized and blue nets showed to be viable options because they increased plant yield compared with conventional black net (5.2 kg $m^{-2}$) with raises of 71.1, 48.1, 46.1 and 46.1%, respectively.

**Key words:** *Cucumis sativus*, colored shade nets, light transmission, photosynthesis, plants growth, fruits yield.

## Introducción

El pepino (*Cucumis sativus* L.) es una cucurbitácea que se cultiva mundialmente con varios propósitos: para consumo en fresco, industria del encurtido, e industria cosmética, principalmente. En 2012 se cosecharon 2,1 millones de hectáreas en las que se obtuvo una producción de 65,1 millones de toneladas de frutos (FAO, 2014). En ese mismo año, en México se cosecharon 15.307 ha y se produjeron 640.508 t, correspondiendo al Estado de Sinaloa una participación mayoritaria, con 25,1% de la superficie cosechada y 44,2% de la producción obtenida (SIAP, 2014).

El uso de invernaderos representa una opción para incrementar la producción de pepino, al propiciar un ambiente poco restrictivo para el crecimiento y desarrollo de las plantas que el que ocurre a cielo abierto (Ortiz *et al*., 2009; Yang *et al*., 2012). Sin embargo, la construcción de un invernadero significa una inversión importante que debe analizarse cuidadosamente. Para éste propósito, se debe considerar que existen nuevos materiales de cubierta que permiten diseños estructurales más económicos que se adaptan a las diferentes necesidades de cada cultivo y recursos disponibles. Una alternativa económica es la malla sombra, que protege la planta (hoja y fruto) de una fuerte radiación solar directa, obteniéndose plantas más vigorosas, con mayores rendimientos y frutos de mejor calidad que en campo abierto (Gruda, 2005; Ayala-Tafoya *et al*., 2011).

Las mallas de sombreo, además de fabricarse de diferentes materiales, como el polietileno, el polipropileno y el poliéster o derivados acrílicos, presentan distintos porcentajes de transmisión, absorción y reflexión de la luz, así como porosidad al aire; sin embargo, la mayoría de las mallas utilizadas con ese fin son negras y poco fotoselectivas, es decir, reducen tanto la transmisión de radiación fotosintéticamente activa como la del infrarrojo cercano (Hemming *et al*., 2006; Bastida y Ramírez, 2008). Dichas mallas son utilizadas ordinariamente por los horticultores para reducir la radiación solar y la temperatura, pero no se logra optimizar la fotosíntesis y la fotomorfogénesis, trascendentales en el crecimiento y desarrollo vegetal (Cummings *et al*., 2008; Ayala-Tafoya *et al*., 2011).

Por ello, recientemente se desarrollaron mallas plásticas con propiedades ópticas especiales, las cuales representan un nuevo enfoque para mejorar el uso de la radiación solar en los cultivos agrícolas (Ganelevin, 2008). Son mallas sombra coloreadas, cada una de las cuales modifica específicamente el espec-

tro de luz transmitida en las regiones ultravioleta, visible y rojo lejano, intensifica su contenido relativo de dispersión de luz difusa y afecta sus componentes térmicos (región infrarroja), en función de los aditivos cromáticos de sus elementos constituyentes y el diseño del tejido (Oren-Shamir *et al*., 2001; Shahak *et al*., 2004).

El paso de la luz a través de estos materiales de cubierta fomenta la estimulación diferencial de algunas respuestas fisiológicas reguladas por la misma, tales como: la fotosíntesis, en función del flujo de luz con longitudes de onda entre 400 y 700 nm, denominada radiación fotosintéticamente activa (RFA), la cual es absorbida por las clorofilas *a* y *b*, principalmente; y la fotomorfogénesis que incluye efectos sobre la elongación del tallo, expansión foliar, desarrollo de cloroplastos, síntesis de clorofila, y muchos otros metabolitos secundarios, en respuesta a la incidencia de luz azul (LA: 400 a 500 nm), roja (LR: 600 a 700 nm) y roja lejana (LRL: 700 a 800 nm), percibidas por fotorreceptores biológicos, principalmente fitocromos y criptocromos, presentes en pequeñas cantidades en las plantas (Devlin *et al*., 2007; Yang *et al*., 2012).

La presente investigación se realizó con el propósito de evaluar agronómicamente la fotoselectividad de seis mallas sombra, conocer la influencia que cada malla tiene sobre la cantidad y calidad de la radiación solar que transmite, el efecto en la temperatura y humedad atmosférica, la temperatura foliar, capacidad fotosintética, crecimiento de plantas y el rendimiento de frutos en el cultivo de pepino.

## Materiales y métodos

La investigación se realizó durante los ciclos agrícolas otoño/invierno de 2011/2012 y 2012/2013, en una casa sombra del campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México; ubicada en las coordenadas 24° 48′ 30″ N y 107° 24′ 30″ O, a una altitud de 38,5 m. Las características estructurales de la instalación son las siguientes: "casa sombra" con estructura metálica de 4,0 m de altura, techumbre plana, orientada norte- sur, con una superficie total de 3200 $m^2$. La cubierta techumbre es una malla antiáfidos de 16 x 10 hilos cristalinos por $cm^2$ (25% de sombra) y en las bandas malla anti-trip con 20 hilos cristalinos x 10 hilos negros por $cm^2$.

En ambos ciclos agrícolas el terreno se preparó mediante un barbecho y dos pasos de rastra, luego se formaron camas de cultivo distanciadas a 1,8 m; las cuales se acolcharon con plástico blanco/negro, con la finalidad de mejorar el ambiente luminoso y evitar el desarrollo de malezas que compitieran con las plantas. Entretanto, se sembraron semillas de pepino 'Modan F1' (Rijk Zwaan), tipo slicer partenocárpico, en bandejas de poliestireno de 200 cavidades rellenas con una mezcla de turba y perlita en proporción 75:25 (v/v).

Las plántulas se cultivaron en invernadero y fueron trasplantadas a la casa sombra cuando tuvieron dos hojas verdaderas, 22 días después de la siembra (dds), con una densidad de 2,2 plantas por $m^2$. Durante ambos ciclos de cultivo, los cuales terminaron 125 dds, en promedio se aportaron 225, 75, 296, 178 y 22 kg de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio por hectárea, respectivamente, vía fertirriego. Los ciclos de cultivo se dieron por concluidos, al alcanzar las plantas la altura de los alambres del tutoreo horizontal de la casa sombra (3,0 m). Se procedió eliminando el brote apical de las plantas.

Los tratamientos evaluados en esta investigación fueron: una malla negra (testigo: malla convencionalmente utilizada por los agricultores) y cinco mallas coloreadas: gris, perla, azul, roja (ChromatiNet®) y aluminada (Aluminet 'O'), todas del tipo raschel con

30% de sombra (Polysack Ltd, Israel). Se establecieron bajo un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones, utilizando cuatro camas de 10 m de largo como parcela experimental (72 m²). Como parcela útil se usaron las dos camas centrales, dejando una cama de cultivo (1,8 m) a cada lado y una banda de igual longitud en cada extremo, con siete a ocho plantas, para evitar el efecto borde. Las mallas sombra se colocaron a 0,5 m por encima de los alambres de tutoreo, a 3,5 m sobre el nivel del suelo, antes del trasplante.

Se realizaron mediciones del espectro de flujo de radiación solar (μmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) en una banda total de 350 a 1050 nm de longitud de onda (radiación solar total: RT), a intervalos de 1 nm, por medio de un espectrorradiómetro portátil (FieldSpec Pro®VNIR, ASD Inc., EE. UU.) equipado con un receptor coseno, el cual fue colocado a 1,0 m sobre la superficie del suelo. Las mediciones fueron realizadas alternadamente durante condiciones de cielo despejado, entre 12:00 y 13:30 h (hora local) a intervalos de tres minutos, en el centro de cada malla sombra. A partir de los datos obtenidos en dichas mediciones, se integraron y analizaron también las bandas de longitud de onda de 400 a 700 nm (radiación fotosintéticamente activa: RFA), 350 a 400 nm (luz ultravioleta-A: UV-A), 400 a 500 nm (luz azul: LA), 600 a 700 nm (luz roja: LR), 700 a 800 nm (luz roja lejana: LRL) y 800 a 1050 nm (radiación infrarroja cercana: IRC).

En el centro del área de influencia de cada una de las mallas se instaló un termohigrómetro USB/almacenador de datos (DT171, CEM, Colombia) programado para registrar temperatura y humedad relativa del aire cada 30 minutos. Además, se obtuvo la temperatura de las hojas en los tercios inferior, intermedio y superior de 16 plantas de pepino por tratamiento, medidas en condiciones de cielo despejado entre las 12:00 y 13:00 h, mediante un termómetro con infrarrojos (HI 99550, HANNA Instruments Inc., EE. UU.).

También se midieron las propiedades fotosintéticas: tasa de transpiración (*E*, mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$), conductancia estomática (*gs*, mol $m^{-2}$ $s^{-1}$) y tasa de asimilación fotosintética de $CO_2$ (*A*, μmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) de 16 hojas por tratamiento, mediante un sistema portátil de fotosíntesis (LCpro+, ADC BioScientific Ltd., GB). Las mediciones fueron realizadas bajo condiciones ambientales de $CO_2$, HR y RFA, a los 29, 60 y 85 días después del trasplante (ddt), de manera alternada en condiciones de cielo despejado, entre 9:00 y 12:00 h (hora local), en plantas ubicadas en el área central de cada malla sombra. Se seleccionaron hojas jóvenes completamente desarrolladas, cuidando que el área de 6,25 $cm^2$ de la ventana de la cámara de medición estuviera completamente expuesta a la luz filtrada por las mallas.

Para evaluar el crecimiento de las plantas se midieron la longitud y diámetro de tallo (CALDI-6MP, Truper S.A. de C.V., México), número de hojas, área foliar de hoja joven completamente desarrollada (LI-3000A, LI-COR Inc., EE. UU.), verdor de la hoja (SPAD-502, Konica Minolta Inc., Japón) y peso seco de hojas y tallo después de secado en estufa (FE-292, Felisa S.A. de C.V., México) hasta peso seco constante, de 16 plantas por tratamiento.

La evaluación del crecimiento de los frutos se hizo midiendo el largo y diámetro de 16 frutos, cada tres días, hasta que fueron cosechados. La cosecha se realizó tres veces por semana, registrando el número, tamaño y peso de los frutos, los cuales debían tener no menos de 3,2 cm de diámetro y 12,7 cm de longitud.

Los resultados obtenidos en cada una de las variables, previa verificación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, se sometieron al análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan ($P \leq 0,05$) para la comparación de las medias.

## Resultados y discusión

Las mallas propiciaron distintos ambientes luminosos en el cultivo de pepino; aunque las coloreadas: azul, roja y perla, fueron las que más alteraron el espectro o calidad de la luz. La malla azul transmitió más luz en la región azul-verde (400 a 570 nm) e incrementó el flujo de radiación infrarroja de 730 nm en adelante, la malla roja transmitió el mayor flujo de fotones de 590 nm en adelante; mientras que la malla perla se diferenció de las mallas aluminada y gris aumentando su transmisión desde los 700 nm (Figura 1).

En la Tabla 1 se observa que los mayores flujos de RT, RFA, LR, LRL e IRC ocurrieron bajo la malla roja, los cuales superaron en 42,6; 23,7; 40,3; 52,9 y 57,3% a los respectivos flujos transmitidos por la malla negra. En tanto la mayor transmisión de LA se obtuvo con la malla azul, 36% mayor a la registrada con la malla negra. Mientras que la transmisión de UV-A se registró en la malla aluminada. Estos resultados muestran la capacidad de la malla negra para bloquear la radiación incidente y explica su amplio uso como malla de sombreo, a la vez que revelan la transmisión o sombreo fotoselectivo de las mallas coloreadas. En este sentido, Oren-Shamir *et al*. (2001), Shahak *et al*. (2004) y Ayala-Tafoya *et al*. (2011), quienes evaluaron el efecto de mallas de diferentes colores sobre la luz en el cultivo de plantas ornamentales (*Pittosporum variegatum*), diversos frutales (*Vitis vinifera*, *Malus domestica*, *Pyrus communis*, *Prunus persica*, *Diospyros kaki* y *Fragaria ananassa*) y

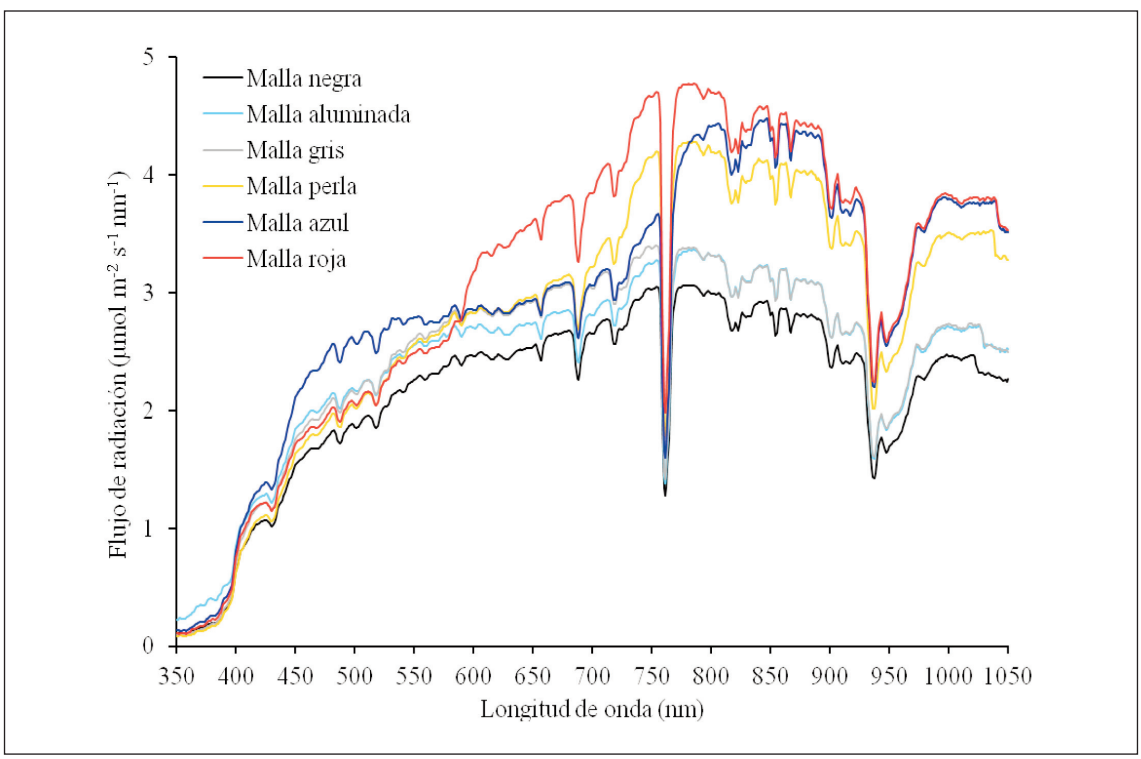



Figura 1. Distribución espectral de la radiación solar transmitida por las mallas sombra (20/02/2012).
*Figure 1. Spectral distribution of sun radiation transmitted by shade nets (20/02/2012).*

tomate (*Solanum lycopersicum*), respectivamente, indicaron también cambios similares en la cantidad y calidad de la luz, a causa del color y diseño de las mallas.

No obstante, la radiación solar transmitida por las mallas no influyó sobre las temperaturas cardinales. Las temperaturas mínimas registradas durante el periodo evaluado promediaron 11,2 °C y las temperaturas máximas promediaron 30,4 °C; mientras que el promedio de todas las lecturas de temperatura obtenidas fue de 19,4 °C. En este sentido, Oren-Shamir *et al*. (2001) tampoco observaron diferencias entre las temperaturas del aire que ocurrieron en un cultivo de *Pittosporum variegatum*, en el cual utilizaron mallas negra, aluminada, gris, verde, azul y roja, probablemente debido a la buena ventilación existente en la casa sombra. Según Vasco (2003), el umbral óptimo de temperatura diurna para el cultivo de pepino es de 21 a 24 °C; dentro del cual se ubicaron las temperaturas diurnas registradas en este experimento, de 23,5 °C en la malla negra a 24 °C en la malla perla. Con respecto a la HR, la máxima fue significativamente mayor en las mallas coloreadas (≥ 87%) comparada con la que ocurrió con la malla negra (83,6%) (Tabla 2). Vasco (2003) señala que la HR nocturna óptima para el cultivo de pepino está entre 70 y 90%; cuyo límite inferior coincidió con la HR nocturna alcanzada con las mallas coloreadas (70,7%), mientras que con la malla negra se tuvo un valor menor (66,6%). También indica que la HR diurna óptima se encuentra entre 60 y 70%, por lo que también se logró estar dentro de ese rango, ya que la HR promedio fluctuó de 61,9% en la malla negra hasta 65,9% en la aluminada. Sin embargo, las HR mínimas registradas en todas las mallas fueron inferiores al nivel crítico para este cultivo (40%), lo cual es común en invernaderos de tecnología baja (Ramírez *et al*., 2012), que no cuentan con sistemas de control del clima, así como en casas sombra. Lo anterior es trascendente porque en los cultivos protegidos el contenido de humedad de la atmósfera incide sobre: el turgor celular, la expansión foliar, el crecimiento y desarrollo aéreo y radicular de la planta, el amortiguamiento de los cambios de temperatura, aumento o disminución de la transpiración, la absorción de nutrientes, la producción de materia seca, viabilidad del polen para obtener mayor porcentaje de fecundación del ovario de las flores y en el desarrollo de enfermedades (Bastida y Ramírez, 2008; Lorenzo, 2012).

Adicionalmente, la temperatura de las hojas ubicadas en los tercios inferior y superior, de las plantas de pepino cultivadas bajo las mallas negra y aluminada, fue significativamente menor a la observada bajo las mallas de color rojo, perla, azul o gris, lo cual tiene estrecha relación con la disminución en la transmisión de radiación solar ejercida por dichos plásticos (Tabla 1). A este respecto, Oren-Shamir *et al*. (2001) no encontraron diferencias significativas entre la temperatura de hojas de plantas de *Pittosporum variegatum* cultivadas con mallas negra, aluminada, gris, verde, azul y roja; aunque ellos midieron hojas completamente expandidas, cuya condición de plantas de menor altura, podría asemejarse más a las hojas de pepino del estrato intermedio, entre las cuales tampoco se observaron diferencias en este trabajo (Tabla 2).

En términos generales, las mallas roja, perla, azul y aluminada ocasionaron los principales cambios en las variables de intercambio de gases en las plantas de pepino (Tabla 3). Bajo esas mallas las hojas de pepino presentaron tasas de transpiración (*E*) que superaron, aunque de manera más consistente las tres primeras, a la registrada bajo la malla negra, de 15,4 a 69,2% a los 29 ddt, de 6,9 a 44,8% a los 60 ddt y de 8 a 40% a los 85 ddt. Además del incremento de *E* conforme al nivel de radiación solar que transmitieron las mallas, también se observó que *E* decreció durante la

Tabla 1. Cantidad y calidad de la radiación solar (µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) transmitida por las mallas sombra (20/02/2012)
*Table 1. Quantity and quality of sunlight (µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) transmitted by shade nets (20/02/2012)*

| Malla | RT 350-1050 nm | RFA 400-700 nm | UV-A 350-400 nm | LA 400-500 nm | LR 600-700 nm | LRL 700-800 nm | IRC 800-1050 nm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Negra | 1519,2 ± 10,0 e | 615,2 ± 4,6 d | 10,9 ± 0,6 d | 141,8 ± 1,7 f | 255,4 ± 2,0 e | 282,5 ± 1,8 f | 616,8 ± 3,6 e |
| Aluminada | 1690,5 ± 2,2 d | 690,0 ± 1,8 c | 20,0 ± 0,4 a | 169,2 ± 1,3 b | 274,9 ± 2,3 d | 304,6 ± 2,2 e | 682,8 ± 4,2 d |
| Gris | 1711,7 ± 12,4 d | 707,5 ± 5,5 b | 10,9 ± 0,2 d | 162,3 ± 1,6 c | 293,7 ± 2,1 c | 315,9 ± 3,1 d | 684,4 ± 4,5 d |
| Perla | 1956,8 ± 5,2 c | 695,4 ± 3,6 c | 9,8 ± 0,1 e | 150,4 ± 1,4 e | 298,8 ± 2,7 b | 379,9 ± 3,4 b | 879,8 ± 4,6 c |
| Azul | 2070,0 ± 11,9 b | 759,7 ± 4,2 a | 14,2 ± 0,2 b | 192,9 ± 1,4 a | 295,2 ± 2,0 bc | 353,8 ± 3,1 c | 950,6 ± 5,7 b |
| Roja | 2166,9 ± 12,4 a | 761,2 ± 5,9 a | 12,5 ± 0,4 c | 158,8 ± 1,6 d | 358,4 ± 2,6 a | 431,9 ± 3,1 a | 970,5 ± 4,2 a |

RT = radiación solar total; RFA = radiación fotosintéticamente activa; UV-A = luz ultravioleta-A; LA = luz azul; LR = luz roja; LRL = luz roja lejana; IRC = radiación infrarroja cercana. Medias de cuatro repeticiones ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $P \leq 0,05$).

Tabla 2. Influencia de las mallas sombra en la humedad relativa del aire y la temperatura foliar de las plantas de pepino
*Table 2. Influence of shade nets in relative humidity of air and leaf temperature of cucumber plants*

| Malla | Humedad relativa (%)* | | | Temperatura de hojas (°C)§ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mínima | Máxima | Promedio | Inferiores | Intermedias | Superiores |
| Negra | 35,2 ± 1,5 a | 83,6 ± 1,1 b | 61,9 ± 1,4 a | 25,8 ± 0,1 c | 27,5 ± 0,3 a | 27,9 ± 0,1 b |
| Aluminada | 37,6 ± 1,9 a | 87,7 ± 1,1 a | 65,9 ± 1,5 a | 25,9 ± 0,1 c | 27,6 ± 0,2 a | 28,1 ± 0,1 b |
| Gris | 33,5 ± 1,9 a | 87,8 ± 1,0 a | 64,7 ± 1,4 a | 26,2 ± 0,2 bc | 27,4 ± 0,2 a | 28,5 ± 0,1 a |
| Perla | 33,2 ± 1,9 a | 87,0 ± 1,1 a | 63,8 ± 1,5 a | 27,3 ± 0,1 a | 26,9 ± 0,2 a | 28,5 ± 0,1 a |
| Azul | 32,6 ± 2,0 a | 87,8 ± 1,0 a | 64,2 ± 1,5 a | 26,6 ± 0,3 b | 27,3 ± 0,3 a | 28,8 ± 0,1 a |
| Roja | 36,9 ± 1,9 a | 87,3 ± 1,1 a | 65,6 ± 1,5 a | 26,4 ± 0,2 b | 27,5 ± 0,2 a | 28,6 ± 0,3 a |

*Medias de 101 días ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $P \leq 0,05$).

§ Medias de 16 hojas ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $P \leq 0,05$).

Tabla 3. Influencia de las mallas sombra en la transpiración (E), conductancia estomática (gs) y asimilación de $CO_2$ (A) de hojas de pepino a los 29, 60 y 85 días después del trasplante
*Table 3. Influence of shade nets on transpiration (E), stomatal conductance (gs) and $CO_2$ assimilation (A) of cucumber leaves at 29, 60 and 85 days after transplanting*

| Mallas | *E* (mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$) | | | *gs* (mol $m^{-2}$ $s^{-1}$) | | | *A* (µmol $CO_2$ $m^{-2}$ $s^{-1}$) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 29[1] | 60[1] | 85[1] | 29[1] | 60[1] | 85[1] | 29[1] | 60[1] | 85[1] |
| Negra | 2,6 ± 0,5 b | 2,9 ± 0,1 b | 2,5 ± 0,2 c | 0,24 ± 0,1 b | 0,27 ± 0,0 a | 0,23 ± 0,0 b | 10,9 ± 0,7 b | 10,8 ± 0,6 b | 10,3 ± 0,5 d |
| Aluminada | 4,4 ± 0,4 a | 3,1 ± 0,2 b | 2,7 ± 0,1 bc | 0,53 ± 0,1 ab | 0,26 ± 0,0 a | 0,26 ± 0,0 b | 13,9 ± 0,4 a | 12,2 ± 0,4 ab | 12,2 ± 0,3 bc |
| Gris | 3,6 ± 0,6 ab | 3,0 ± 0,1 b | 2,6 ± 0,1 c | 0,34 ± 0,1 ab | 0,25 ± 0,0 a | 0,22 ± 0,0 b | 11,6 ± 0,5 b | 11,9 ± 0,5 ab | 11,3 ± 0,4 cd |
| Perla | 3,7 ± 0,2 ab | 3,5 ± 0,3 ab | 3,5 ± 0,3 a | 0,41 ± 0,0 ab | 0,33 ± 0,0 a | 0,29 ± 0,0 ab | 14,0 ± 0,8 a | 13,4 ± 1,0 a | 13,8 ± 0,4 ab |
| Azul | 4,2 ± 0,6 ab | 4,2 ± 0,5 a | 3,4 ± 0,4 ab | 0,54 ± 0,1 a | 0,31 ± 0,0 a | 0,35 ± 0,0 a | 15,1 ± 1,2 a | 13,0 ± 1,2 ab | 14,2 ± 1,1 a |
| Roja | 3,0 ± 0,6 ab | 3,7 ± 0,2 a | 3,1 ± 0,1 abc | 0,42 ± 0,1 ab | 0,28 ± 0,0 a | 0,29 ± 0,0 ab | 14,5 ± 0,8 a | 13,3 ± 0,6 a | 14,2 ± 0,3 a |
| Promedio | 3,58 | 3,40 | 2,97 | 0,41 | 0,28 | 0,27 | 13,33 | 12,43 | 12,67 |

[1] Días después del trasplante.

Medias de 16 hojas ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $P \leq 0,05$).

ontogenia de las plantas de pepino bajo todas las mallas, lo cual concuerda con Medrano *et al*. (2005).

Asimismo, con las mallas: roja, perla, azul y aluminada, la conductancia estomática (*gs*) incrementó de 70,8 a 125% a los 29 ddt, de 3,7 a 22,2% a los 60 ddt y de 13 a 52,2% a los 85 ddt; e igualmente las tasas de asimilación de $CO_2$ (*A*), que también excedieron de 27,5 a 38,5% a los 29 ddt, 13 a 38,5% a los 60 ddt y de 18,4 a 37,9% a los 85 ddt, en comparación con los valores obtenidos en las mismas fechas con la malla negra. Resultados obtenidos por Janoudi *et al*. (1993) en hojas de pepino que mostraron tasas máximas de *A* a *gs* > 256 mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$, mientras *E* seguía aumentando hasta llegar a *gs* de 380 mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$, coinciden con los resultados obtenidos con las mallas roja, perla, azul y aluminada, promovidos por mayores transmisiones de luz, no sólo en cuanto a intensidad, sino también en calidad, referida principalmente a su componente de LA, con gran influencia en la apertura estomática (Hogewoning *et al*., 2010; Lawson *et al*., 2011), y de LR, cuya energía es más eficientemente absorbida por las clorofilas y transferida a los centros de reacción, extendiendo de ese modo, la captura de energía que actúa eficazmente en las reacciones fotoquímicas (Huot y Babin, 2011; Lawson *et al*., 2011); así como, por la participación de los fotorreceptores de LR (fitocromos A y B) y LA (criptocromo) en el desarrollo de los estomas (densidad adaxial y abaxial, diámetro polar y ecuatorial, etc.), en respuesta a la calidad de la luz (Martins *et al*., 2009; Kang *et al*., 2009; Silva Júnior *et al*., 2012). Mientras que las variables fotosintéticas exhibidas por las plantas bajo la malla gris, en las tres fechas, fueron estadísticamente iguales a las observadas en la malla negra (Tabla 3). Además, en estas dos mallas se presentaron *gs* < 256 mmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ que aparentemente limitaron la disponibilidad de $CO_2$ y repercutieron en tasas fotosintéticas más bajas (Janoudi *et al*., 1993; Savvides *et al*., 2012).

Shahak *et al*. (2004) observaron respuestas semejantes en árboles de manzano 'Golden Delicious' cultivados con mallas negra, gris, perla, azul y roja. Ellos expusieron que a pesar de que las mallas redujeron la intensidad de RFA en aproximadamente 30%, la tasa de fotosíntesis y la conductancia estomática de hojas expuestas fueron mayores durante la mayor parte del día, comparadas con las mediciones obtenidas en las plantas testigo sin malla y, que la tasa de fotosíntesis más alta se obtuvo con la malla roja.

El crecimiento de las plantas de pepino fue significativamente influido por el ambiente creado por las mallas, tal como se puede notar en la Figura 2 y la Tabla 4. Las mallas roja y perla ocasionaron mayor alargamiento de los tallos, debido a que disminuyeron las proporciones de LR: LRL (0,83 y 0,79) y LA: LRL (0,37 y 0,35), es decir, transmitieron más luz roja lejana que roja o azul, condiciones que promueven dicho efecto fotomorfogénico (Kahlen y Stützel, 2011b). Mientras que los tallos menos largos se encontraron bajo la malla azul, aunque sólo al final del ciclo, ya que durante los primeros 50 ddt la altura de las plantas en esta malla sólo era menor a la registrada bajo las mallas roja y perla. Sin embargo, durante la segunda mitad del ciclo, la elongación del tallo fue significativamente menor (Figura 2A), lo que concuerda con el efecto que ha mostrado la luz azul en diversas especies de plantas (Shahak *et al*., 2004; Shahak *et al*., 2008). Lo anterior implica la participación de fitocromos y criptocromos, respectivamente. Los fitocromos median las respuestas vegetales a LR y LRL, y algunas respuestas a LA; mientras que los criptocromos están exclusivamente involucrados en respuestas a LA y UV-A. Dentro de ambos tipos de fotorreceptores, los fitocromos PhyA y PhyB (Kamiya y García-Martínez, 1999; García-Martínez y Gil, 2002) y el criptocromo Cry1 (Cummings *et al*., 2008) han demostrado tener una participación importante en la regulación de los niveles de giberelinas biológicamente activas y por lo tanto en la elongación de los tallos de las plantas.

Aunque también la cantidad de RFA, por su importancia en el proceso fotosintético y la producción de biomasa, pudieron influir en la elongación del tallo de las plantas de pepino, ya que Kahlen y Stützel (2011a) generaron resultados que ponen de relieve la importancia de la señal RFA en la predicción de la longitud final del tallo, al aumentar los efectos de vecindad, lo que indica un posible rol de señalización de los fotosintatos para la elongación de los entrenudos.

Las variables diámetro de tallo (Figura 2B), número de hojas (Figura 2C), área foliar de hojas individuales (Figura 2D), verdor, peso seco de hojas y tallo (Tabla 4), se incrementaron debido a la interacción de mayores flujos de RT, RFA y LR transmitidos preponderantemente por la malla roja. En segundo término se ubicaron, por los efectos ocasionados en dichas variables, la mallas perla y aluminada, las cuales transmitieron los segundos mayores flujos de LR y LA, respectivamente. Dichos niveles de luz favorecieron la fotosíntesis que condujo a incrementar la producción de biomasa, reflejada, por ejemplo, en un tallo más grueso, que generalmente implica mayor área de floema y en consecuencia un transporte más eficiente, y mayor capacidad de reserva de asimilados para su uso posterior en el llenado de fruto (Ortiz *et al*., 2009). Aspectos que fueron potenciados por el enriquecimiento del ambiente con luz difusa, espectralmente modificada por parte de las mallas perla, aluminada, roja y azul, fotosintéticamente más eficiente que la luz directa por su mayor capacidad para penetrar el dosel vegetal (Oren-Shamir *et al*., 2001; Shahak *et al*., 2004; Shahak *et al*., 2008). Por su parte, la malla azul promovió altos valores de verdor foliar, los cuales suelen asociarse con incrementos en la transmisión de RFA y LA (Costa *et al*., 2010; Hogewoning *et al*., 2010;

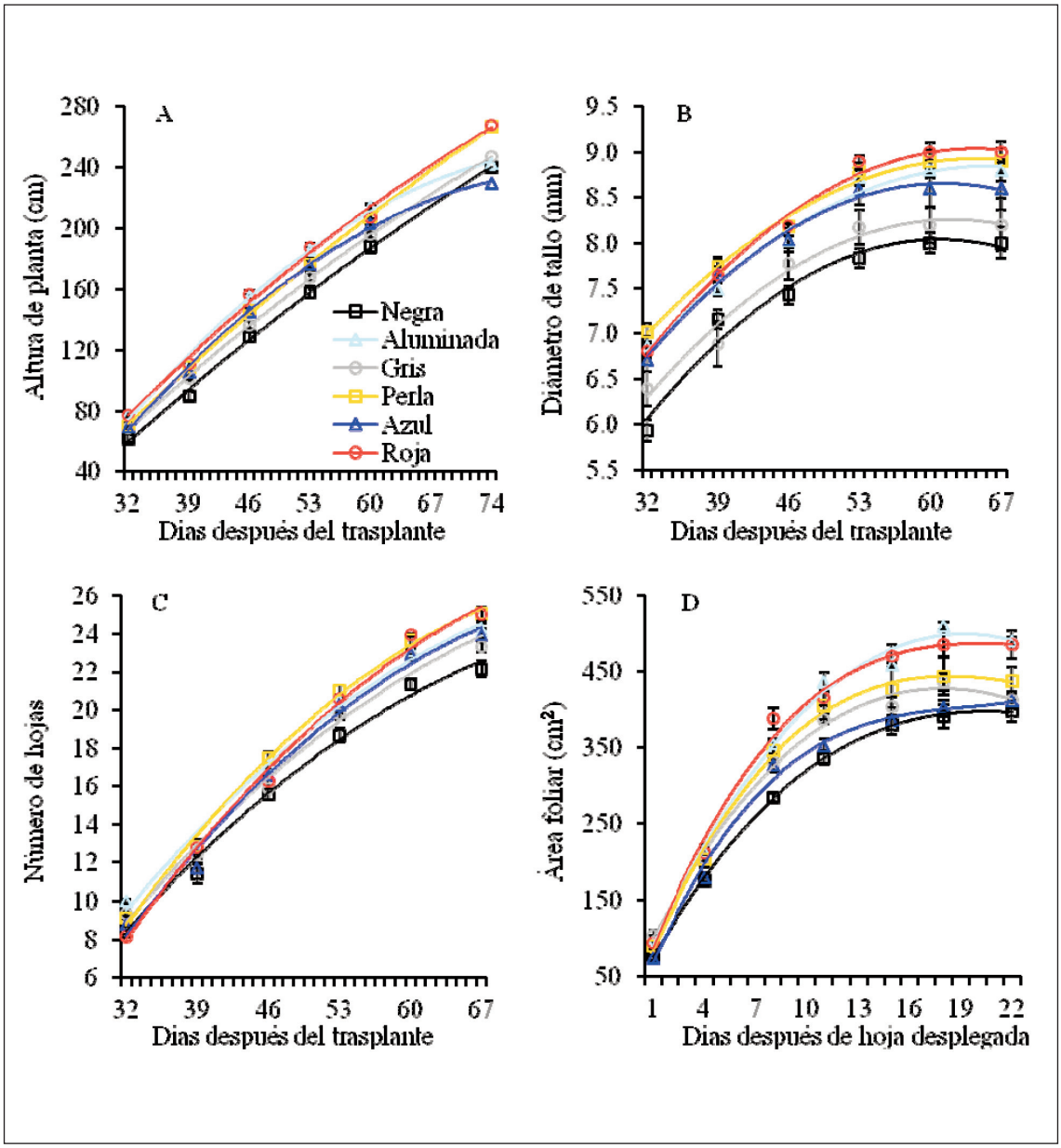



Figura 2. Influencia de mallas sombra: negra, aluminada, gris, perla, azul y roja, sobre la longitud (A) y diámetro (B) de tallo, el número (C) y área foliar de hojas individuales (D) de plantas de pepino.
*Figure 2. Influence of shade nets: black, aluminized, gray, Pearl, blue and red, on stem length (A), stem diameter (B), leaves number (C) and leaf area of individual leaves (D) of cucumber plants.*

Tabla 4. Efecto de las mallas sombra sobre características del crecimiento de las plantas de pepino
*Table 4. Effect of shade nets on growth characteristics of cucumber plants*

| Mallas | Verdor foliar (unidades SPAD) | Peso seco de hojas (g por planta) | Peso seco de tallo (g por planta) |
|---|---|---|---|
| Negra | 41,6 ± 1,1 c | 52,5 ± 2,2 b | 14,7 ± 0,9 c |
| Aluminada | 47,6 ± 2,5 ab | 59,3 ± 3,0 ab | 17,6 ± 0,7 b |
| Gris | 44,2 ± 1,7 bc | 54,8 ± 2,7 b | 16,7 ± 0,3 bc |
| Perla | 49,1 ± 0,9 ab | 64,0 ± 3,4 a | 18,2 ± 0,8 ab |
| Azul | 49,7 ± 2,0 ab | 53,3 ± 2,5 b | 17,4 ± 0,6 b |
| Roja | 51,1 ± 1,6 a | 57,5 ± 4,0 ab | 20,1 ± 1,1 a |

Medias de 16 plantas ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $P \leq 0,05$).

Souza *et al*., 2011), aspectos en los cuales destacó. Mientras que las plantas con menor crecimiento, en cada una de las variables estudiadas, fueron aquellas cultivadas con las mallas negra y gris (Figura 2 y Tabla 4).

Los ambientes creados por las mallas y la influencia de éstos en la fisiología de las plantas, afectaron también el crecimiento (Figura 3) y peso promedio de los frutos (Tabla 5). Con las mallas sombra aluminada, perla, azul y roja se aumentó entre 6,9 y 8,7% el peso promedio de los frutos de pepino, debido al efecto positivo en el aumento de biomasa (frutos y partes vegetativas) de la planta al incrementar la radiación solar disponible y la eficiencia fotosintética, promoviendo el aumento en la tasa de crecimiento de los frutos individuales y un período de crecimiento más corto desde la antesis hasta la cosecha. Lo cual, junto con un aumento en el número de frutos por planta, generalmente tiene como resultado una mayor producción (Milenković *et al*., 2012). Marcelis *et al*. (2004) encontraron que al tener las plantas una mayor área foliar, se cuenta con una mayor fuente de fotoasimilados responsables del crecimiento de los frutos y/o de abastecer un mayor número de frutos, al disminuir el porcentaje de abortos de manera significativa en plantas de pimiento.

En resumen, las mallas de color incrementaron el rendimiento de pepino, el cual fue significativamente mayor con las mallas perla (71,1%), roja (48,1%), aluminada (46,1%) y azul (46,1%), comparados con el rendimiento obtenido con la malla negra (5,2 kg $m^{-2}$), el cual fue menor en 17,3% con respecto al conseguido con la malla gris (Tabla 5), aunque entre ellos no hubo diferencias estadísticas.

Estos resultados concuerdan con los observados por Shahak *et al*. (2008), quienes utilizaron mallas raschel roja, amarilla y perla con 30 a 40% de sombra y obtuvieron rendimientos de pimiento morrón de 115 a 135% más altos que los obtenidos con la malla negra del mismo nivel de sombra. Igualmente coinciden con los de Fallik *et al*. (2009), quienes encontraron que el pimiento morrón cultivado en una región árida con mallas sombra de color rojo y amarillo, tuvo rendimientos de fruta con calidad de exportación significativamente mayores en comparación con el obtenido con malla negra del mismo nivel de sombreado.

De la misma manera concuerdan con los resultados logrados por Ayala-Tafoya *et al*.

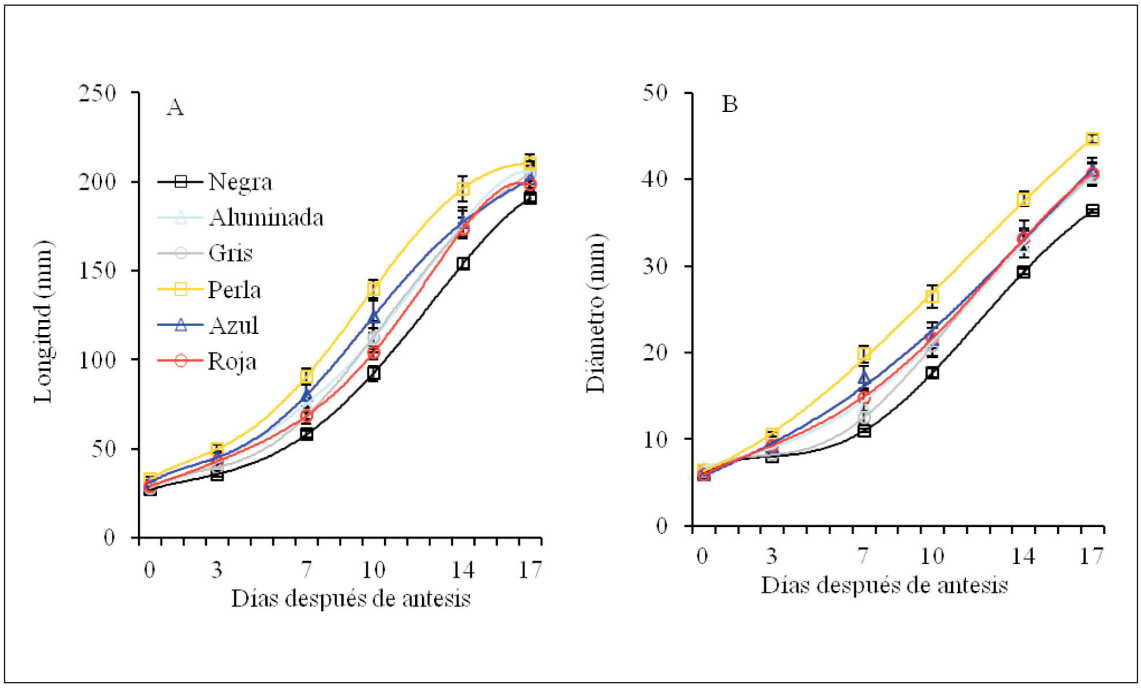



Figura 3. Influencia de mallas sombra: negra, aluminada, gris, perla, azul y roja, sobre el crecimiento en longitud (A) y diámetro (B) de frutos de pepino.
*Figure 3. Influence of shade nets: black, aluminized, gray, Pearl, blue and red, on the growth in length (A) and diameter (B) of cucumber fruits.*

Tabla 5. Efecto de las mallas sombra en el rendimiento de pepino
*Table 5. Effect of shade nets on the yield of cucumber*

| Mallas | Rendimiento (kg $m^{-2}$) | Peso de fruto (g) |
|---|---|---|
| Negra | 5,2 ± 0,5 b | 279,0 ± 5,7 b |
| Aluminada | 7,6 ± 0,2 a | 303,2 ± 5,5 a |
| Gris | 6,1 ± 0,5 b | 291,8 ± 2,6 ab |
| Perla | 8,9 ± 0,8 a | 300,9 ± 4,1 a |
| Azul | 7,6 ± 0,4 a | 298,9 ± 7,2 a |
| Roja | 7,7 ± 0,4 a | 298,3 ± 2,8 a |

Medias de cuatro repeticiones ± error estándar con letras distintas dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (Duncan, $p \leq 0.05$).

(2011) en tomate cultivado con mallas negras, grises, aluminadas, azules, rojas y perladas, cada una con 50 y 30% de sombra, en invernadero. Ellos informaron que con la malla perla de 30% de sombra se cosecharon los mayores rendimientos, total y con calidad para exportación. Mientras que los menores rendimientos se presentaron con las mallas negra y aluminada con 50% sombra.

Las mallas sombra coloreadas pueden utilizarse para cambiar las proporciones de LR: LRL que son detectadas por los fitocromos, las cantidades de radiación disponibles para activar los fotorreceptores de LA y UV-A (criptocromos), o LA implicada en las respuestas fototrópicas mediadas por fototropinas y, radiación de otras longitudes de onda que puede influir en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Stamps, 2009; Bastías y Corelli-Grappadelli, 2012). Pero también porque la luz difusa ha demostrado que aumenta la eficiencia en el uso de la radiación, mejora el rendimiento, e incluso puede ser un factor que afecta a la floración (sincronización y cantidades) de la planta (Gu *et al*., 2002; Hemming *et al*., 2008). Con las mallas sombra que aumentan la dispersión de luz, pero no afectan el espectro de luz, se ha demostrado que aumenta la ramificación, la compacidad de la planta, y el número de flores por planta (Nissim-Levi *et al*., 2008). Las mallas de sombreo coloreadas pueden aumentar la dispersión de luz en un 50% o más (Oren-Shamir *et al*., 2001; Shahak *et al*., 2004, 2008) y sólo esto puede influir en el desarrollo y el crecimiento vegetal.

## Conclusiones

Las mallas de color rojo, azul y perla transmitieron los mayores flujos de radiación total, fotosintética y morfogenéticamente activas, así como de la banda infrarroja. Mientras que las mallas aluminada, gris y negra no afectaron espectralmente la radiación solar, sino solamente la cantidad, siendo la malla negra la que transmitió los menores flujos en cada una de las bandas de longitud de onda estudiadas.

Lo anterior, junto con los incrementos observados en la humedad relativa máxima y la temperatura de las hojas superiores, promovidas por las mallas coloreadas, mejoró las propiedades fotosintéticas y el crecimiento de las plantas de pepino. Por lo que, de acuerdo con los resultados de este trabajo, las mallas perla, roja, azul y aluminada, representan una opción para incrementar el rendimiento de pepino en condiciones de casa sombra.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) por la beca otorgada durante los estudios de doctorado del primer autor. Al Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación de la Dirección General de Investigación y Posgrado, UAS (clave PROFAPI 2011/020) por financiar la investigación. Al Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes y al Instituto de Botánica, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, por colaborar con equipo e instrucción.

## Bibliografía

Ayala-Tafoya F, Zatarain-López DM, Valenzuela-López M, Partida-Ruvalcaba L, Velázquez-Alcaraz T de J, Díaz-Valdés T, Osuna-Sánchez JA (2011). Crecimiento y rendimiento de tomate en respuesta a radiación solar transmitida por mallas sombra. Terra Latinoamericana 29: 403-410.

Bastías RM, Corelli-Grappadelli L (2012). Light quality management in fruit orchards: physiological and technological aspects. Chilean Journal of Agricultural Research 72: 574-581.

Bastida TA, Ramírez AJA (2008). Los Invernaderos en México. UACh. México. 233 p.

Costa LCB, Pinto JEBP, Castro EM, Alves E, Bertolucci SKV, Rosal LF (2010). Effects of coloured shade netting on the vegetative development and leaf structure of *Ocimum selloi*. Bragantia, Campinas 69: 349-359.

Cummings IG, Foo E, Weller JL, Reid JB, Koutoulis A (2008). Blue and red photoselective shadecloths modify pea height through altered blue irradiance perceived by cry1 photoreceptor. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 83: 663-667.

Devlin PF, Christie JM, Terry MJ (2007). Many hands make light work. Journal of Experimental Botany 58: 3071-3077.

Fallik E, Alkalai-Tuvia S, Parselan Y, Aharon Z, Elmann A, Offir Y, Matan E, Yehezkel H, Ratner K, Zur N, Shahak Y (2009). Can colored shade nets maintain sweet pepper quality during storage and marketing? Acta Horticulturae 830: 37-44.

FAO (2014). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/S (24/02/2014).

Ganelevin R (2008). World-wide commercial applications of colored shade nets technology (Chromatinet®). Acta Horticulturae 770: 199-203.

García-Martínez JL, and Gil J (2002). Light regulation of gibberellin biosynthesis and mode of action. Journal of Plant Growth Regulation 20: 354-368.

Gruda N (2005). Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. Critical Reviews in Plant Sciences 24: 227-247.

Gu LH, Baldocchi D, Verma SB, Black TA, Vesala T, Falge EM, Dowty PR (2002). Advantages of diffuse radiation for terrestrial ecosystem productivity. Journal of Geophysical Research 107: ACL 2, 1-23.

Hemming S, Van der braak N, Dueck T, Elings A, Marissen N (2006). Filtering natural light at the greenhouse covering - Better greenhouse climate and higher production by filtering out NIR? Acta Horticulturae 711: 411-416.

Hemming S, Dueck T, Janse J, van Noort F (2008). The effect of diffuse light on crops. Acta Horticulturae 801: 1293-1300.

Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, Ieperen W, Harbinson J (2010). Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. Journal of Experimental Botany 61: 3107-3117.

Huot Y, Babin M (2011). Overview of fluorescence protocols: theory, basic concepts, and practice. En: Chlorophyll *a* fluorescence in aquatic sciences. Methods and applications. (Eds. Suggett DJ, Prášil O, Borowitzka MA). Springer Science Business Media B.V. Pp. 31-74.

Janoudi AK, Widders IE, Flore JA (1993). Water deficits and environmental factors affect photosynthesis in leaves of cucumber *(Cucumis sativus)*. Journal of the American Society for Horticultural Science 118: 366-370.

Kahlen K, Stützel H (2011a). Modelling photomodulated internode elongation in growing glasshouse cucumber canopies. New Phytologist 190: 697-708.

Kahlen K, Stützel H (2011b). Simplification of a light-based model for estimating final internode length in greenhouse cucumber canopies. Annals of Botany 108: 1055-1063.

Kamiya Y, García-Martínez JL (1999). Regulation of gibberellin biosynthesis by light. Current Opinion in Plant Biology 2: 398-403.

Kang Y, Lian HL, Wang FF, Huang JR, Yang HQ (2009). Cryptochromes, phytochromes, and COP1 regulate light-controlled stomatal development in Arabidopsis. Plant Cell 21: 2624-2641.

Lawson T, Caemmerer S, Baroli I (2011). Photosynthesis and stomatal behaviour. En: Progress in Botany 72. (Eds. Lüttge UE, Beyschlag W, Büdel B, Francis D). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 265-304.

Lorenzo P (2012). El cultivo en invernaderos y su relación con el clima. Cuadernos de Estudios Agroalimentarios (CEA) 3: 23-44.

Marcelis LFM, Heuvelink E, Baan Hofman-Eijer LR, Den Bakker J, Xue LB (2004). Flower and fruit

abortion in sweet pepper in relation to source and sink strength. Journal of Experimental Botany 55: 2261-2268.

Martins JR, Alvarenga AA, Castro EM, Silva APO, Oliveira C, Alves E (2009). Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. Ciência Rural 39: 82-87.

Medrano E, Lorenzo P, Sánchez-Guerrero MC, Montero JI (2005). Evaluation and modelling of greenhouse cucumber-crop transpiration under high and low radiation conditions. Scientia Horticulturae 105: 163-175.

Milenković L, Ilić ZS, Đurovka M, Kapoulas N, Mirecki N, Fallik E (2012). Yield and pepper quality as affected by light intensity using colour shade nets. Agriculture & Forestry 58: 19-33.

Nissim-Levi A, Farkash L, Hamburger D, Ovadia R, Forrer I, Kagan S, Oren-Shamir M (2008). Light-scattering shade net increases branching and flowering in ornamental pot plants. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 83:9-14.

Oren-Shamir M, Gussakovsky EE, Spiegel E, Nissim-Levi A, Ratner K, Ovadia R, Giller YE, Shahak Y (2001). Coloured shade nets can improve the yield and quality of green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 76: 353-361.

Ortiz CJ, Sánchez CF, Mendoza CMC, Torres GA (2009). Características deseables de plantas de pepino crecidas en invernadero e hidroponía en altas densidades de población. Revista Fitotecnia Mexicana 32: 289-294.

Ramírez MG, Rico GE, Mercado LA, Ocampo VR, Guevara GRG, Soto ZGM, Godoy HH (2012). Efecto del manejo cultural y sombreo sobre la productividad del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.). Ciencia@UAQ 5: 1-9.

Savvides A, Fanourakis D, Ieperen W (2012). Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves. Journal of Experimental Botany 63: 1135-1143.

Shahak Y, Gussakovsky EE, Gal E, Ganelevin R (2004). ColorNets: crop protection and light-quality manipulation in one technology. Acta Horticulturae 659: 143-151.

Shahak Y, Gal E Offir Y, Ben-Yakir D (2008). Photoselective shade netting integrated with greenhouse technologies for improved performance of vegetable and ornamental crops. Acta Horticulturae 797: 75-80.

SIAP (2014). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Disponible en http://www.siap.gob.mx/agricultura-produccion-anual/ (24/02/2014).

Silva Júnior JM, Castro EM, Rodrigues M, Pasqual M, Bertolucci SKV (2012). Variações anatômicas de *Laelia purpurata* var. cárnea cultivada in vitro sob diferentes intensidades e qualidade spectral de luz. Ciência Rural, Santa María 42: 480-486.

Souza GS, Castro EM, Soares ÂM, Santos AR, Alves E (2011). Teores de pigmentos fotossintéticos, taxa de fotossíntese e estrutura de cloroplastos de plantas jovens de *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker cultivadas sob malhas coloridas. Semina: Ciências Agrárias, Londrina 32: 1843-1854.

Stamps RH (2009). Use of colored shade netting in horticulture. HortScience 44: 239-241.

Vasco MR (2003). El cultivo de pepino bajo invernadero. En: Técnicas de producción en cultivos protegidos (Tomo 2). (Coord. Camacho FA). Cajamar. España, pp. 691-722.

Yang X, Wang X, Wang L, Wei M (2012). Control of light environment: A key technique for high-yield and high-quality vegetable production in protected farmland. Agricultural Sciences 3: 923-928.

(Aceptado para publicación el 4 de junio de 2014)

# Influencia de Rizobacterias en la Germinación y Vigor de Semillas de Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande')

G. Nuncio-Orta[1], R. Mendoza-Villarreal[1,*], V. Robledo-Torres[1], M. Vázquez-Badillo[1] y J.J. Almaraz-Suárez[2]

[1] Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro #1923, Colonia Buenavista, C.P. 25315. Saltillo, Coahuila, México

[2] Programa de Edafología. Colegio de Posgraduados. Carretera México – Texcoco km 36.5. Montecillo, C.P. 56230. Texcoco, Estado de México

**Resumen**

Se aislaron cepas de *Azospirillum*, *Acetobacter* y *Azotobacter* sp. presentes en raíces de nopal, tomate y chile, las cuales fueron caracterizadas por su actividad nitrogenasa y producción de ácido indolacético. Las mejores fueron seleccionadas para evaluar su efecto en la germinación y vigor de semillas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande'). Se realizó la inoculación en semillas con diferente concentración de inóculo ($10^4$, $10^6$ y $10^8$ UFC $mL^{-1}$) de cada cepa. Se usó un diseño experimental completamente al azar: 2 factores A) cepas y B) concentración de inóculo. La cepa AzTCH3 aislada de la rizósfera de chile de Torreón promovió 7% la germinación. La ganancia de biomasa fresca fue estimulada 20% por *Azotobacter* sp. AzoGN. La biomasa seca se favoreció mediante la cepa AzTT2 de *Azospirillum* sp. al inocular con dosis de $10^8$ UFC $mL^{-1}$, la elongación radicular se incrementó un 32% con *Acetobacter* sp. AceTT aislada de tomate de Torreón. De acuerdo con la caracterización, la cepa aislada de la rizósfera de nopal AceGN2 de *Acetobacter* sp. produjo la mayor concentración de ácido indolacético, sin causar efecto significante en el desarrollo vegetal. Por lo que, al realizar una correlación entre variables, ésta resultó positiva y se concluye que las rizobacterias nativas que presentaron potencial para estimular el crecimiento y desarrollo vegetal de semillas de chile jalapeño se debió a sus capacidades productoras de ácido indolacético y actividad nitrogenasa.

**Palabras clave:** Rizósfera, *Azospirillum, Azotobacter, Acetobacter*, *Capsicum annuum* L.

**Abstract**
**Influence of Rhizobacteria on Seed Germination and Vigor of Seeds Chili Jalapeno (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande')**

*Azospirillum* strains, *Acetobacter* and *Azotobacter* sp. were isolated from roots of prickly pear, tomato and pepper, and characterized according to nitrogenase activity and indoleacetic acid production. The best strains were selected to evaluate their effect on seed germination and vigor in jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande'). Inoculation of seed was performed with different inoculum concentration ($10^4$, $10^6$ and $10^8$ CFU $mL^{-1}$) of each strain. A completely randomized design with two factors:

* Autor para correspondencia: rosalindamendoza@hotmail.com

http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.002

A) strains and B) inoculum concentration, was used. AzTCH3 strain isolated from the rhizosphere of pepper in Torreon, promoted 7% seed germination. Fresh biomass was stimulated 20% by *Azotobacter* sp. AzoGN. Dry biomass was favored by AzTT2 *Azospirillum* sp. inoculating dose of $10^8$ CFU $mL^{-1}$. Root elongation was increased 32% with *Acetobacter* sp. AceTT isolated the tomato of Torreon. According to the characterization, of the strains isolated from the rhizosphere of prickly pear (AceGN2), *Acetobacter* sp. showed the highest production of indoleacetic acid, causing no significant effect on plant development. So, a correlation between variables, it was positive and it is concluded that native rhizobacteria have potential to stimulate plant growth and seed development in jalapeño pepper was due to its production capabilities indoleacetic acid and nitrogenase activity.

**Key words:** Rhizosphere**,** *Azospirillum, Azotobacter, Acetobacter*, *Capsicum annuum* L.

## Introducción

La importancia socioeconómica del chile jalapeño (*Capsicum annuum*) radica en su alto consumo, rentabilidad y demanda de mano de obra (Macías *et al.,* 2012). En México, ocupa una superficie aproximada de 29,495 hectáreas, con una producción de 772,889 toneladas (SIAP – SAGARPA, 2012). Sin embargo, dentro de las condiciones que se requieren para elevar la producción y rendimiento del cultivo se encuentra el uso de plántulas vigorosas y con un alto porcentaje de germinación (Carballo, 1992). Esto podría conseguirse con la inoculación de rizobacterias en semillas que promueven el crecimiento y desarrollo de plántulas (Vessey, 2003). De acuerdo con Shigueru-Okumura *et al.* (2013) la aplicación de inoculantes líquidos directamente en las semillas promueve cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos en la célula vegetal e incrementa el potencial de crecimiento de las plantas. Por su parte, Di Barbaro *et al*. (2005) indican que la inoculación con rizobacterias en semillas de pimiento podría beneficiar a la planta desde la germinación, hasta un desarrollo posterior.

Las rizobacterias como *Azospirillum, Azotobacter y Acetobacter* sp. son llamadas bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) porque incrementan la productividad y crecimiento de plantas (Ferrera - Cerrato y Alarcón, 2007) debido a la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Camelo *et al*., 2011), producir sideróforos (Whipps, 2001) y hormonas vegetales, como auxinas, giberelinas y citoquininas (Tsavkelova *et al.,* 2006).

*Azospirillum* es un género muy estudiado debido a diversas propiedades como ser promotoras de crecimiento vegetal y tener capacidad para sintetizar ácido indolacético (AIA) a través de la vía del ácido indol-3-pirúvico (IPA) (Patten y Glick, 1996). De acuerdo a Pedraza *et al*. (2004), *Azospirillum* puede producir de 16,5 a 38 µg $mL^{-1}$ de ácido indolacético. Originar enzima nitrogenasa, ya qué la inoculación con esta rizobacteria incrementa la germinación de semillas, ganancia de peso seco y contenido de nitrógeno en pimiento (Reyes *et al*., 2008), ya que con una concentración de $10^8$ y $10^9$ UFC $mL^{-1}$ se obtuvieron mejores respuestas en germinación, emergencia y desarrollo de plántulas (Di Barbaro *et al*., 2005), Mendoza *et al*. (2009) mencionan que la inoculación con $10^9$ UFC $mL^{-1}$ aumenta el peso seco en plantas de pimiento morrón; también con cepas de *Azospirillum* sp. aisladas de maíz se ha reportado que producen de 8 a 70 nmoles de etileno debido a la actividad nitrogenasa (Carcaño-Montiel *et al*., 2006).

*Azotobacter* también tiene capacidad para fijar nitrógeno (Drummond *et al*., 1996), presenta un rápido crecimiento (Koksunan *et al*., 2013) y secreta sustancias biológicamente activas que aceleran el crecimiento y desarrollo de las plantas (Pogorelova *et al.,* 2012). La producción de ácido indolacético en cepas

de *Azotobacter* sp. puede ser de 7 a 58 µg $mg^{-1}$ (Escobar *et al*., 2011). Lara-Mantilla *et al*. (2011) en un estudio con diferentes bacterias autóctonas de *Azotobacter* y *Azospirillum* encontraron que la mayor producción de auxina correspondió a la cepa *Azotobacter* sp., la cual incrementó la longitud de tallo en plántulas de pasto al ser inoculada con una concentración de $1x10^6$ UFC $mL^{-1}$.

*Acetobacter* es otro género de rizobacterias con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (Lee *et al*., 2000), como sucede en caña de azúcar ya qué se reportan altas tasas de fijación de nitrógeno in vitro en cepas aisladas de raíces y tallos (Cavalcante y Dobereiner, 1988). Por otro lado, Suman *et al*. (2005) mencionan que *Gluconoacetobacter diazotrophicus* produce fitohormonas y tiene efecto positivo en la germinación y el crecimiento en plantas de caña de azúcar.

De acuerdo con lo anterior, la inoculación de rizobacterias en semillas contribuye a elevar la germinación y crecimiento de plántulas, lo cual puede beneficiar los cultivos y reducir el uso de nutrientes químicos y la contaminación ambiental (Doria, 2010). El objetivo del presente estudio fue evaluar la germinación y vigor de semillas de chile jalapeño inoculadas con cepas de *Azospirillum, Acetobacter* y *Azotobacter* sp., aisladas de la rizósfera de plantas de nopal, tomate, chile y trigo.

## Materiales y métodos

### Aislamientos de rizobacterias para la preparación de inoculante líquido

La investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México. Se aislaron rizobacterias provenientes de la superficie e interior de raíces de nopal, tomate, chile y trigo (Tabla 1). Los medios de creci-

Tabla 1. Cepas nativas de *Azospirillum, Acetobacter* y *Azotobacter* sp, aisladas en tres localidades del estado de Coahuila, México
*Table 1. Native strains of* Azospirillum, Acetobacter *and* Azotobacter *sp., isolated on three locations of Coahuila, México*

| Clave | BPCV (sp.) | Cultivo | Localidad |
|---|---|---|---|
| AzGN3 | *Azospirillum* | Nopal | General Cepeda |
| AzGT1 | *Azospirillum* | Tomate | General Cepeda |
| AzTN5,AzTN7 | *Azospirillum* | Nopal | Torreón |
| AzTCH3 | *Azospirillum* | Chile | Torreón |
| AzTT2 | *Azospirillum* | Tomate | Torreón |
| AzSTC-5 | *Azospirillum* | Trigo | Saltillo |
| AceGN1, AceGN2 | *Acetobacter* | Nopal | General Cepeda |
| AceTT | *Acetobacter* | Tomate | Torreón |
| AceTN | *Acetobacter* | Nopal | Torreón |
| AzoTN | *Azotobacter* | Nopal | Torreón |
| Azo GN | *Azotobacter* | Nopal | General Cepeda |

BPCV = bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

miento empleados fueron NFb (medio selectivo de nitrógeno) para *Azospirillum* sp., utilizando malato como fuente de carbono (Döbereiner *et al.*, 1976). Para *Acetobacter* sp., se utilizó medio NFb, a pH ácido (4,5) para especies tolerantes y el medio Ashby complementado con manitol para cepas *Azotobacter* sp. (Bashan *et al*., 1993). Para la preparación de los inoculantes líquidos, las 13 cepas aisladas fueron sembradas en caldo nutritivo líquido y puesto en incubadora (Precisión Scientific 815) durante 7 días a 29° C para su multiplicación. La suspensión obtenida fue de 1 x $10^{10}$ UFC $mL^{-1}$ y a partir de ahí se prepararon las concentraciones de inóculo $10^8$, $10^6$, $10^4$ UFC $mL^{-1}$ para cada una de las cepas.

## Caracterización de rizobacterias

Las cepas fueron caracterizadas como promotoras de crecimiento vegetal debido a su actividad nitrogenasa y producción de ácido indolacético, las cuales fueron medidas (Tabla 2) mediante el método indirecto de la actividad reductora de acetileno (ARA). Las cepas se cultivaron en tubos con 4 mL de medio NFb semisólido por 4 días hasta que se formó una película de crecimiento bacteriano abajo de la superficie del medio. Cada tubo se cerró herméticamente y con una jeringa se extrajo el 10% del volumen de aire, que se substituyó con acetileno con la ayuda de otra jeringa. Los tubos se incubaron 24 h a temperatura ambiente; se tomaron muestras de 5 mL de la fase gaseosa de cada tubo y se depositaron en tubos al vacío. Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (Hewlett 5890 Packard series II con columna Poraplot Q 25 m x 0,3 mm) para determinar la cantidad de etileno reducido.

Se cuantificó la producción de ácido indolacético (AIA) de las cepas, en el medio Luria-Bertani (LB), mediante el método colorimétrico con el reactivo Salkowski (Glickmann y Dessaux, 1995). Las cepas se cultivaron por 3 días en el medio líquido LB, se tomaron muestras de 1 mL y se centrifugaron 25 minutos (14,000 rpm), se tomó un alícuota de 150 µL de cada muestra y se depositaron en microplacas de 96 pozos; a cada uno se le adicionó 100 µL de reactivo Salkowski, se incubaron todas las microplacas en obscuridad por 30 minutos. Las lecturas de absorbancia fueron tomadas por medio de un espectrofotómetro con lector de microplaca (Synergy 2 microplate reader, Biotek instruments, Inc.) (Tabla 2).

## Inoculación de rizobacterias en semillas de chile jalapeño

Para evaluar el potencial de las rizobacterias se realizó una prueba de germinación y vigor en semillas de chile jalapeño híbrido 'var. Grande', las cuales se lavaron utilizando alcohol al 70% y después con agua destilada. Se utilizaron 3 matraces de 125 mL, los cuales contenían diferente concentración de inóculo líquido $10^8$, $10^6$, $10^4$ UFC $ml^{-1}$ de cada cepa, en cada matráz se colocaron 50 semillas durante 4 horas para llevar a cabo la imbibición. Se añadió un testigo sin inóculo, el cual solo fue tratado con agua destilada. Al término del tiempo de imbibición, las semillas se colocaron en cajas Petri esterilizadas, las cuáles contenían un disco de papel filtro como soporte.

## Condiciones in vitro

Para evaluar el desarrollo de las semillas tratadas, las cajas Petri fueron llevadas a una Cámara de Germinación (Biotronette Mark II, Environment Chamber) donde permanecieron 14 días con temperatura de 28 °C, de acuerdo al ISTA (International Seed Tessting Association) para el caso de especies *Capsicum*. El papel filtro de las cajas fue humedecido diariamente con agua destilada estéril.

Tabla 2. Comparación de medias de la actividad reductora de acetileno (ARA) y producción de ácido indolacético (AIA) de las rizobacterias en estudio
*Table 2. Comparison of acetylene reduction activity (ARA) and indole acetic acid production (AIA) of studied rhizobacteria*

| Cepa | Actividad nitrogenasa[1] (nmoles$C_2H_4$· $1h^{-1}$ ·vial) | Indoles totales[1] (µg $mL^{-1}$) |
|---|---|---|
| AzGN3 | 0,51 c | 3,49 de |
| AzGT1 | 0,13 c | 59,78 c |
| AzTN4 | 0,77 c | 9,54 de |
| AzTN7 | 4,51 b | 12,80 de |
| AzTCH3 | 1,15 c | 84,14 bc |
| AzTT2 | 8,90 a | 106,06 b |
| AzSTC-5 | 0,12 c | 17,94 de |
| AceGN1 | 1,35 c | 16,52 de |
| AceGN2 | 3,70 b | 181,76 a |
| AceTT | 1,17 c | 71,89 c |
| AceTN | 0,49 c | 11,06 de |
| AzoTN | 1,44 c | 29,04 d |
| AzoGN | 0,79 c | 19,59 de |
| Testigo | 0,14 c | 0,00 |
| C.V. %[2] | 41,80 | 21,74 |

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0,05$).

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación.

## Variables evaluadas

Las variables de respuesta fueron porcentaje de germinación siguiendo la metodología descrita por Moreno (1984), solamente se tomaron en cuenta las plántulas normales. El peso fresco y seco de plántulas se determinó mediante una balanza analítica (AND modelo HR – 200) y la longitud de raíz, hoja y tallo fueron estimadas con un vernier. Estas variables fueron registradas a los 14 días cuando finalizó el experimento.

## Diseño experimental

Se diseñó un experimento completamente al azar con arreglo factorial que incluye 2 factores (14x3) con tres repeticiones, dónde los factores y sus niveles fueron: A) cepas (catorce niveles: descritos en la tabla 1) y B) concentraciones de inóculo (tres niveles: $10^8$, $10^6$, $10^4$ UFC $mL^{-1}$).

### Análisis estadístico

La comparación entre tratamientos se realizó mediante ANOVA con una prueba Tukey (p, $\alpha \leq 0,05$) y para evaluar la correlación de los parámetros en estudio, se realizó una regresión múltiple con backward elimination para descartar los coeficientes no significativos; los modelos estimados contenían términos cuadráticos y cúbicos y, demostraron una relación entre variables. Los datos fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS versión 9,1.

## Resultados y discusión

### Actividad de la nitrogenasa

En relación a la ARA se detectaron diferencias altamente significativas entre las cepas de *Azospirillum* sp. AzTT2 y AzTN7 (Tabla 2) aisladas de la rizósfera de tomate y nopal respectivamente; éstas presentaron 8,9 y 4,5 nmoles de etileno · hora · vial ($C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot$ vial). Por otro lado, la cepa *Acetobacter* sp. AceGN2 aislada de raíz de nopal, presentó 3,8 nmoles de etileno (Tabla 2). Estos valores son bajos en comparación con otros reportados por Mascarua-Esparza *et al*. (1988) quienes aislaron cepas de *Azospirillum* de raíz de nopal, las cuales produjeron de 17,6 a 32,8 ($C_2H_4$ $h^{-1}$ vial). Carcaño-Montiel *et al.* (2006) obtuvieron valores de 8,62 a 70,08 ($C_2H_4$ $h^{-1}$ $mL^{-1}$) con cepas *Azospirillum* spp. aisladas de maíz. Las diferencias en la ARA entre rizobacterias podría deberse a que la enzima varía su función dependiendo de la especie vegetal donde se encuentra (Orozco-Jaramillo y Martínez-Nieto, 2009) y por otro lado, Eckert *et al*. (2001) mencionan que la cantidad de nitrógeno fijado depende probablemente al genotipo asociado con la bacteria.

### Producción de ácido indolacético

La producción de AIA fue mayor en las cepas de *Acetobacter* sp. AceGN2 aislada de raíz de nopal y la de *Azospirillum* sp. AzTT2 aislada de tomate (Tabla 2), con una producción de 181,76 y 106,06 $\mu g \cdot mL^{-1}$, respectivamente. Estos resultados son superiores a los reportados por Lara-Mantilla *et al*. (2011) que obtuvieron niveles de ácido indolacético de 29,65 $\mu g$ $mL^{-1}$ en cepas *Azospirillum* sp. Por otro lado, Fuentes-Ramírez *et al*. (1993) reportan que cepas de *Acetobacter diazotrophicus* aisladas de la superficie de raíz de caña de azúcar producen 0,14 - 2,42 $\mu g \cdot mL^{-1}$ de ácido indolacético y *Azospirillum brasilense* Sp-7, produce 40,17 $\mu g$ $mL^{-1}$ de ácido indolacético (Obando-Castellano *et al*., 2010). Éstas diferencias pudieran deberse al tipo de suelo donde fueron aisladas o la especie a cual pertenecen (Loredo-Osti *et al*., 2004). Por otro lado, Rengel (1997) menciona que la composición de los microorganismos del suelo varía de acuerdo a la especie o genotipo de la planta o a la cantidad y calidad de los exudados radicales.

### Germinación de semillas inoculadas con rizobacterias

De acuerdo con el análisis estadístico, las concentraciones de inóculo de las cepas no provocaron diferencias significativas en la germinación de semillas (Tabla 3), tampoco en la media general de las cepas hubo efecto significativo, según Tukey ($P \leq 0,05$). Sin embargo, entre las cepas, se puede observar diferencia numérica en la media general por parte de la cepa *Azospirillum* sp. (AzTCH3) aislada de chile en Torreón, qué causó 7% más semillas germinadas a diferencia del Testigo, lo cual quiere decir que con cualquier concentración de inóculo, AzTCH3 incrementó la germinación en semillas de chile jalapeño. Estos resultados coinciden con Di Barbaro *et al*. (2005) quienes reportan valores de germinación con 6,5%

Tabla 3. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el porcentaje de germinación de semillas[1] de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 3. Effect of bacterial inoculums concentration on seed germination percentage of* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 73 B b | 93 A a | 73 B c | 80 d |
| AzGT1 | 96 A a | 93 A a | 76 B bc | 88 abcd |
| AzTN5 | 83 A ab | 80 A a | 90 A abc | 84 bcd |
| AzTN7 | 86 A ab | 86 A a | 76 A bc | 83 cd |
| AzTCH3 | 96 A a | 96 A a | 100 A a | 97 a |
| AzTT2 | 90 A ab | 96 A a | 100 A a | 95 abc |
| AzSTC-5 | 93 A ab | 100 A a | 96 A ab | 96 ab |
| AceGN1 | 90 A ab | 96 A a | 93 A abc | 93 abc |
| AceGN2 | 96 A a | 90 A a | 96 A ab | 94 abc |
| AceTT | 96 A a | 93 A a | 100 A a | 96 ab |
| AceTN | 96 A a | 80 B a | 93 AB abc | 90 abcd |
| AzoTN | 90 A ab | 90 A a | 93 A abc | 91 abcd |
| AzoGN | 96 A a | 93 A a | 93 A abc | 94 abc |
| Testigo SN[3] | 90 A ab | 90 A a | 90 A abc | 90 abcd |
| Media | 91 | 91 | 90 | 91 |
| C.V.%[2] | 7,29 | 6,39 | 10,07 | 8,46 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

superior al testigo en semillas de pimiento inoculadas con cepas *Azospirillum brasilense*, también Molina *et al.* (2009) reportaron incrementos en la germinación de semillas de tomate al inocular cepas *Azospirillum* sp. a una concentración de $10^9$ UFC $mL^{-1}$.

Al no haber efecto significativo en la germinación, se procedió a realizar una correlación entre variables; se obtuvo un modelo que indica una asociación entre la producción de ácido indolacético (AIA) y actividad nitrogenasa (ARA) de las cepas sobre la germinación de semillas: Germinación (%) = 86,5 + 0,548 AIA – 5,66 $^{10-3}$ $AIA^2$ – 7,39 $^{10-5}$ $ARA^3$ $R^2$ 0,512 P $\leq$ 0,05. En otros estudios también se ha demostrado que la producción de AIA de cepas bacterianas influye en el crecimiento vegetal (Ogata *et al*., 2008).

Peso fresco de plántulas

Los resultados reflejaron diferencias significativas en la interacción de cepas y concentración de inóculo (Tabla 4). Cabe mencionar que las cepas AzGN3 ($10^4$ y $10^6$ UFC $mL^{-1}$), AzGT1 ($10^4$ y $10^8$ UFC $mL^{-1}$), AzTN7 ($10^4$ y $10^6$ UFC $mL^{-1}$), AceGN2 ($10^4$ y $10^6$ UFC $mL^{-1}$) y AceTN ($10^6$ UFC $mL^{-1}$) no lograron provocar un mejor efecto en el peso fresco a diferencia del Testigo; a pesar de esto la media general de las cepas con sus concentraciones (Tabla 4) indicaron diferencias estadísticas por parte de las cepas como la AzoGN que produjo 20% más peso fresco en plántulas en comparación con el Testigo, de acuerdo con esto la cepa *Azotobacter* sp. (AzoGN) aislada de nopal en General Cepeda puede ser utilizada con cualquiera de las concentraciones de inóculo estudiadas para inducir el incre-

Tabla 4. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el peso fresco[1] de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 4. Effect of bacterial inoculum concentration on fresh weight of seedlings* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 347 B f | 475 AB b | 525 A abcd | 449 efg |
| AzGT1 | 362 B f | 558 A ab | 373 B cd | 431 fg |
| AzTN5 | 433 A def | 420 A b | 360 A d | 404 g |
| AzTN7 | 374 B ef | 419 AB b | 532 A abcd | 442 fg |
| AzTCH3 | 570 A abcde | 472 A b | 438 A bcd | 493 cdefg |
| AzTT2 | 477 AB cdef | 600 AB ab | 667 A a | 581 bc |
| AzSTC-5 | 527 A abcdef | 537 A ab | 518 A abcd | 527 bcdefg |
| AceGN1 | 583 A abcd | 532 A ab | 495 A abcd | 537 bcdef |
| AceGN2 | 351 B f | 478 AB b | 566 A abc | 465 defg |
| AceTT | 693 A ab | 565 A ab | 636 A ab | 631 ab |
| AceTN | 643 A abc | 454 B b | 593 A ab | 563 bcde |
| AzoTN | 522 A bcdef | 536 A ab | 639 A ab | 565 bcd |
| AzoGN | 723 A a | 726 A a | 673 A a | 707 a |
| Testigo SN[3] | 586 A abcd | 586 A ab | 586 A ab | 586 bc |
| Media | 513 | 525 | 544 | 527 |
| C.V.%[2] | 25 | 15 | 18 | 22,27 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

mento de esta variable, además Sethi y Adhikary *et al*. (2009) evaluaron también el efecto de *Azotobacter* en plantas de *Capsicum annuum* y observaron incrementos significativos en la producción de biomasa. Con respecto a las capacidades promotoras de las cepas si hubo relación y mediante el siguiente modelo se indica que la acumulación de biomasa estuvo asociada con la producción de AIA de la cepa, Peso fresco (g) = $0,512 + 4,779^{10-9} AIA^3$ $R^2 = 0,297$ $P \leq 0,05$. Rodelas *et al*. (1999) mencionan que bacterias del género *Azotobacter* sp. sintetizan vitaminas y hormonas vegetales, lo cual podría contribuir a un mejor desarrollo vegetal. La cepa en estudio AzoGN presentó 19,6 µg $mL^{-1}$ de AIA (Tabla 2) dicha concentración fue óptima para elevar la acumulación de biomasa, como lo mencionan Loper y Schroth (1986) con bajas concentraciones de AIA existe mejor incremento el crecimiento vegetal.

## Peso seco de plántulas

La variable peso seco presentó diferencias estadísticas según Tukey ($P \leq 0,05$) con *Azospirillum* sp. (AzTT2) aislada de tomate de Torreón, esta cepa con la concentración de $10^8$ UFC $mL^{-1}$ incrementó la variable con 64% a diferencia del Testigo (Tabla 5). Algunos reportes como Molina *et al*. (2009) sugieren inocular cepas de *Azospirillum* sp. a una dosis de $10^9$ UFC $mL^{-1}$ en plantas de tomate para incrementar la materia seca. También, Molla *et al.* (2001) mencionan que *Azospirillum brasilense* produce grandes cantidades de AIA extracelular, lo cual favorece el contenido de materia seca en plantas, por otro lado, bacterias de este género aisladas de plantas de arroz sintetizaron 38 µg $mL^{-1}$ de AIA, lo que contribuyó a un incremento de biomasa (García *et al*., 2010). A pesar de no haber diferencias estadísticas en el peso seco (Tabla 5), se puede reconocer que la cepa *Azospirillum* sp. AzTT2 indujo la ganancia de biomasa seca, debido probablemente a que produjo 106 µg·$mL^{-1}$ de AIA (Tabla 2). Esto es comprobado con el siguiente modelo: Peso seco (g) = $5,052^{10-2} + 8,177^{10-4} AIA - 3,563^{10-5} AIA^2 + 4,470^{10-9} AIA^3 - 2,22^{10-3} ARA + 1,580^{10-4} ARA^2$ $2,22^{10-6} ARA^3$ $R^2 = 0,760$ $P \leq 0,05$, el cual indica una relación entre la producción de AIA y ARA de la cepa con respecto al incremento del peso seco en plántulas. En cuanto a la actividad nitrogenasa (ARA) cabe mencionar que las bacterias fijadoras de nitrógeno logran contribuir al incremento de biomasa vegetal (Lee *et al*., 2000).

## Desarrollo de plántulas

La variable longitud de raíz presentó diferencias estadísticas según Tukey ($P \leq 0,05$) con la *Acetobacter* sp. (AceTT) aislada de tomate de Torreón, ésta cepa inoculada con las tres concentraciones de inóculo causó un incremento del 32% en longitud de raíz que el Testigo, este dato es observado en la media general por parte de las cepas (Tabla 6). Di Barbaro *et al*. (2005) confirman que el crecimiento radicular está relacionado con la producción de ácido indolacético y otras hormonas vegetales como citoquininas y giberelinas, estadísticamente esto ha sido comprobado mediante el siguiente modelo: longitud de raíz (cm) = $4,602 + 6,865^{10-2} AIA - 2,1^{10-3} AIA^2 + 2.141^{10-7} AIA^3$ $R^2 = 0.451$ $P \leq 0.05$, que indica que la producción de ácido indolacético y la actividad nitrogenasa de la cepa influye en la ganancia de peso seco en plántulas en plántulas de chile. La AceTT presentó baja actividad nitrogenasa (ARA), pero su producción de AIA es alta (Tabla 2), pero de acuerdo con el modelo anterior se demuestra la influencia de la cepa en la variable.

La cepa *Azospirillum* sp. (AzTT2) aislada de tomate de Torreón, logró incrementar significativamente la longitud de tallo en plántulas con la concentración de $10^4$ UFC $mL^{-1}$ (Tabla 7) por el contrario las demás concentraciones de la cepa no provocaron efecto positivo. Para

Tabla 5. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el peso seco[1] de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 5. Effect of bacterial inoculum concentration on dry weight of seedlings* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 38 A b | 48 A ab | 38 A b | 42 b |
| AzGT1 | 44 A b | 47 A ab | 41 A b | 44 b |
| AzTN5 | 47 A ab | 42 A ab | 45 A b | 45 b |
| AzTN7 | 43 A b | 43 A ab | 40 A b | 42 b |
| AzTCH3 | 67 A a | 37 B b | 44 B b | 49 ab |
| AzTT2 | 47 B ab | 55 B a | 84 A a | 62 a |
| AzSTC-5 | 48 A ab | 51 A ab | 54 Ab | 51 ab |
| AceGN1 | 49 A ab | 48 A ab | 41 A b | 46 b |
| AceGN2 | 47 A ab | 43 A ab | 51 A b | 47 b |
| AceTT | 53 A ab | 53 A ab | 53 A b | 53 ab |
| AceTN | 55 A ab | 37 B b | 47 AB b | 46 b |
| AzoTN | 48 A ab | 51 A ab | 52 A b | 50 ab |
| AzoGN | 55 A ab | 48 A ab | 54 A b | 52 ab |
| Testigo SN[3] | 51 A ab | 51 A ab | 51 A b | 51 ab |
| Media | 50 | 47 | 50 | 49 |
| C.V.%[2] | 14 | 12 | 23 | 16,34 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

reafirmar lo obtenido Trân Van *et al*. (2000) mencionan que la inoculación con *Azospirillum* sp. interviene en la fenología de plántulas como en el caso del longitud de tallo utilizando concentraciones óptimas de inóculo (Trân Van *et al*., 2000). También, se puede mencionar que dicha variable fue promovida por la AIA y ARA de las cepas y es sustentado mediante el siguiente modelo: longitud de tallo = $3,910 - 9,348^{10-2}$ AIA + $1,02^{10-3}$ $AIA^2$ – $1,965^{10-1}$ ARA + $1,05^{10-2}$ $ARA^2$ – $1,281^{10-4}$ $ARA^3$ $R^2 = 0,620$ $P \leq 0,05$. La longitud de hoja en las plántulas no presentó diferencias estadísticas mediante la inoculación bacteriana en el estudio. Sin embargo, se ha demostrado un efecto significativo en la variable longitud de hoja al inocular *Azospirillum* spp. en semillas de trigo duro a una

Tabla 6. Efecto de la interacción de las cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de raíz[1] de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 6. Effect of the bacterial inoculums concentration on root-length of seedlings of* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 48,03 A abcd | 47,50 A abc | 50,03 A a | 48,52 bcd |
| AzGT1 | 40,43 B cd | 56,70 A abc | 46,66 AB a | 47,93 bcd |
| AzTN5 | 47,63 A abcd | 57,36 A abc | 50,03 A a | 51,67 abc |
| AzTN7 | 42,66 A bcd | 50,10 A abc | 46,36 A a | 46,37 bcd |
| AzTCH3 | 55,66 AB abc | 61,66 A ab | 44,63 B a | 53,98 abc |
| AzTT2 | 52,00 A abcd | 58,00 A abc | 46,66 A a | 52,22 abc |
| AzSTC-5 | 58,33 A ab | 51,10 A abc | 57,30 A a | 55,57 ab |
| AceGN1 | 39,66 A cd | 46,10 A bc | 48,00 A a | 44,58 cd |
| AceGN2 | 38,16 A d | 43,36 A c | 43,00 A a | 41,51 d |
| AceTT | 61,06 A a | 63,86 A a | 54,23 A a | 59,72 a |
| AceTN | 39,66 B cd | 48,46 AB abc | 58,00 A a | 48,71 bcd |
| AzoTN | 48,76 A abcd | 52,33 A abc | 51,66 A a | 50,92 abcd |
| AzoGN | 51,96 A abcd | 53,14 A abc | 50,43 A a | 51,84 abc |
| Testigo SN[3] | 45,22 A abcd | 45,22 A bc | 45,22 A a | 45,22 cd |
| Media | 47,67 | 52,78 | 49,19 | 49,91 |
| C.V.%[2] | 15 | 12 | 9,28 | 17,60 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

concentración de $10^6$ UFC $mL^{-1}$ (Rojas-Méndez *et al.,* 2009). Al respecto, se puede mencionar que la inoculación con rizobacterias propicia el desarrollo vegetal, puede estimular la elongación radicular y mejorar el crecimiento de algunas variables, mediante su capacidad promotora de crecimiento (Fuentes-Ramírez *et al*., 1993).

Tabla 7. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de tallo[1] de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 7. Effect of the interaction of strains and inoculum concentration in the variable length of stalk in jalapeno pepper seedlings* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 22,60 A ab | 20,83 A a | 21,33 A abc | 21,58 ab |
| AzGT1 | 20,06 A b | 22,20 A a | 21,66 A abc | 21,31 ab |
| AzTN5 | 18,16 A b | 20,33 A a | 19,33 A bc | 19,27 bc |
| AzTN7 | 20,66 A b | 22,46 A a | 21,66 A abc | 21,60 ab |
| AzTCH3 | 20,33 A b | 20,00 A a | 23,33 A ab | 21,22 ab |
| AzTT2 | 28,66 A a | 22,00 B a | 24,66 B a | 25,11 a |
| AzSTC-5 | 19,30 A b | 19,96 A a | 19,56 A abc | 19,61 bc |
| AceGN1 | 19,33 A b | 20,16 A a | 21,00 A abc | 20,16 bc |
| AceGN2 | 19,00 A b | 21,13 A a | 20,90 A abc | 20,34 bc |
| AceTT | 20,03 A b | 20,10 A a | 18,56 A bc | 19,66 bc |
| AceTN | 21,00 A b | 20,00 A a | 19,33 A bc | 20,11 bc |
| AzoTN | 17,83 A b | 17,46 A a | 18,50 A bc | 17,93 c |
| AzoGN | 18,33 A b | 18,23 A a | 17,23 A c | 17,93 c |
| Testigo SN[3] | 21,00 A b | 21,00 A a | 21,00 A abc | 21,00 b |
| Media | 20,52 | 20,44 | 20,50 | 20,49 |
| C.V.%[2] | 13,17 | 7 | 10 | 12,95 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

Tabla 8. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de hoja[1] de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')
*Table 8. Effect of the interaction of strains and inoculum concentration in the variable length leaf jalapeno seedlings* (Capsicum annuum *'var. Grande'*)

| | Concentración de inóculo (UFC $mL^{-1}$) | | | |
|---|---|---|---|---|
| Cepas | $10^4$ | $10^6$ | $10^8$ | Media |
| AzGN3 | 16,00 A de | 16,00 A de | 17,00 A abc | 16,30 de |
| AzGT1 | 12,30 B f | 16,40 A cde | 12,50 B d | 13,70 f |
| AzTN5 | 15,26 A ef | 17,00 A abcde | 16,30 A bc | 16,20 de |
| AzTN7 | 14,36 A ef | 15,00 A e | 15,70 A cd | 15,00 ef |
| AzTCH3 | 21,66Aab | 19,33 B abc | 19,33 B ab | 20,10 a |
| AzTT2 | 22,33 A a | 18,33 B abcd | 20,33 AB a | 20,33 a |
| AzSTC-5 | 18,66 A bcd | 16,30 B cde | 17,63 AB abc | 17,53 cd |
| AceGN1 | 15,10 A ef | 15,83 A de | 17,80 A abc | 16,52 de |
| AceGN2 | 14,66 B ef | 16,50 AB bcde | 17,73 A abc | 16,30 de |
| AceTT | 19,80 A abc | 20,00 A a | 19,00 A ab | 19,60 ab |
| AceTN | 20,00 A abc | 19,06 A abcd | 18,00 A abc | 19,02 abc |
| AzoTN | 17,46 A cde | 16,90 A abcde | 17,76 A abc | 17,37 cd |
| AzoGN | 17,00 B cde | 19,80 A ab | 17,43 B abc | 18,10 bcd |
| Testigo SN[3] | 19,60 A abc | 19,60 A abc | 19,60 A ab | 19,61 ab |
| Media | 17,53 | 17,50 | 17,63 | 17,55 |
| C.V.%[2] | 17,13 | 10 | 1 | 14,25 |

[1] Promedio de tres repeticiones. [2] Coeficiente de variación; [3] sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey $\alpha = 0,05$). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey $\alpha = 0,05$).

## Conclusiones

La germinación de semillas de chile fue optimizada al inocular la cepa *Azospirillum* sp. (AzTCH3) aislada de raíces de tomate de Torreón, Coahuila. La biomasa de plantas se incrementó con las cepas *Azotobacter* sp. (AzoGN) y *Azospirillum* sp.(AzTT2) aisladas de nopal de General Cepeda y tomate de Torreón, respectivamente. El crecimiento de raíz y tallo fue favorecido con *Azospirillum* sp. (AzTT2) al presentar aumentos considerables. El desarrollo vegetal se incrementó por efecto de varias cepas y cabe mencionar que la concentración de inóculo no fue una limitante para obtener resultados positivos.

Se comprobó la relación del desarrollo vegetal de las semillas con la producción de ácido indolacético y actividad nitrogenasa de las cepas, por lo tanto este estudio permite identificar rizobacterias nativas con potencial para estimular el crecimiento y desarrollo vegetal de semillas de chile jalapeño.

## Bibliografía


Bashan Y, Holguin G, Lifshitz R (1993). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria. In: Methods in plant molecular biology and biotechnology. (Eds. Glick, BR, Thompson JE) pp. 337-338. Vol. 384 pp 1° edition. Ed. CRC. Press, Inc.

Camelo M, Vera SP, Bonilla RR (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria 12: 159-166.

Carballo CA (1992). La calidad genética y su importancia en la producción de semillas. En: Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. (Eds Mendoza OL, Favela CE, Cano RP, Esparza M J H). Memoria tercer Simposium, Torreón, Coahuila, México. pp. 80-101.

Carcaño-Montiel MG, Ferrera-Cerrato R, Pérez-Moreno J, Molina-Galán JD, Bashan Y (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebisella* aisladas de maíz y teocintle. Revista TERRA Latinoamericana 24: 493-502.

Cavalcante VA, Dobereiner J (1988). A new acid-tolerant nitrogen-fixting bacterium associated with sugar cane. Plant and Soil 108: 23-31.

Di Barbaro G, Pernasetti S, Stegmayer A (2005). Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annuum* L. Var. trompa de elefante). Revista del CIZAS 6: 74-85.

Döbereiner J, Marriel IE, Nery M (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Canadian Journal of Microbiology 22: 1464-1473.

Doria J (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Scielo. I Reserva Científica del departamento de Fitotecnia, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas 13: 74-85.

Drummond M, Walmsley J, Kennedy C (1996). Expression from the nifB promoter of *Azotobacter vinelandii* can be activated by NifA, VnfA, or AnfA transcriptional activators. Journal of Bacteriology 178: 788-792.

Eckert B, Weber OB, Kirchhof T, Halbritter A, Stoffels M, Hartmann A (2001). *Azospirillum doebereinerae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass*Miscanthus*. International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 17-26.

Escobar C, Horna Y, Carreño C, Mendoza, G (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicum esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. Scientia Agropecuaria 2: 39-49.

Ferrera - Cerrato R, Alarcón A (2007). Microbiología Agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta – microorganismo, Ed. Trillas, México, D.F. 568 pp.

Fuentes-Ramírez LE, Jiménez-Salgado T, Abarca-Ocampo IR, Caballero-Mellado J (1993). *Aceto-*

*bacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. Plant and Soil 154: 145-150.

García F, Muñoz H, Carreño C, Mendoza G (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. Scientia Agropecuaria 1: 107-116.

Glickmann E, Dessaux Y (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied and Environmental Microbiology 61: 793-796.

Koksunan S, Vichitphan S, Laopaiboon L, Vichitphan K, Han J (2013). Growth and cyanide degradation of Azotobacter vinelandii in cyanide-containing wastewater system. Journal of Microbiology and Biotechnology 23: 572-578.

Lara-Mantilla C, Oviedo-Zumaqué LE, Betancur-Hurtado CA (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. Revista Zootecncia Tropical 29: 187-194.

Lee S, Reth A, Meletzus D, Sevilla M, Kennedy C (2000). Characterization of a major cluster of *nif, fix* and associate genes in a sugarcane endophyte, *Acetobacter diazotrophicus*. Journal of Bacteriology 182: 7088-7091.

Loper J, Scroth M (1986). Influence of bacterial source of indole – 3 – acetic acid on root elongation of sugar beet. Physiology and Biochemistry 76: 386-389.

Loredo-Osti C, López-Reyes L, Espinosa-Victoria D (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. Revista TERRA Latinoamericana 22: 225-239.

Macías-Duarte R, Grijalva-Contreras RL, Robles-Contreras F (2012). Respuesta de la aplicación de estiércol y fertilizantes sobre el rendimiento y cantidad del chile jalapeño. Biotecnia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud 14: 32-38.

Mascarua-Esparza MA, Villa-González R, Caballero-Mellado J (1988). Acetylene reduction and indolacetic acid production by *Azospirillum* isolates from *Cactaceous* plants. Plant and Soil 106: 91-95.

Mendoza-Villarreal R, Hernández-Florentino A, Ramírez-Rodríguez H, Molina-Abadía GS, Quezada-Martín MR (2009). Efecto de cepas de *Azospirillum* sp. en la productividad del pimiento morrón. En: Agricultura sostenible (Eds. Galdaméz GJ, Guevara HF, Soto PL, Vázquez GM). Vol. 6: 1:17. Universidad Autónoma de Chiapas. Ed. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, A. C. México.

Molina S, Mendoza R, Torres A, Sifuentes D, Rojas B (2009). Germinación de semillas de tomate cherry (*Lycopersicum pimpinellifolium*) inoculadas con diferentes cepas de *Azospirillum* sp. XIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. 17-21 Agosto 2009, Torreón, Coahuila, México, p. 49.

Molla AH, Shamsuddin ZH, Saud HM (2001). Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense*. Communications in Soil Science Plant Analysis 32: 2177-2187.

Moreno E (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas, 1°. Ed. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F. 380 pp.

Obando-Castellanos DM, Burgos-Zabala LB, Rivera-Botía DM, Rubiano-Garrido MF, Divan-Balandi VL, Bonilla-Buitrago RR (2010). Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus* sp.) en Codazzi, César (Colombia). Acta Botánica Colombiana 15: 107-120.

Ogata K, Arellano C, Zuñiga D (2008). Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caespalpina spinosa* en la germinación de diferentes especies vegetales cultivados. Zonas áridas 12: 137-153.

Orozco-Jaramillo C, Martínez-Nieto P (2009). Evaluación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno asimbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia. BOSQUE (Valdivia) 30: 70-77.

Patten CL, Glick BR (1996). Bacterial biosynthesis of indole 3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology 42: 207-220.

Pedraza RO, Ramírez-Mata A, Xiqui ML, Baca BE (2004). Aromatic amino acid aminotranferase

activity and índole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. FEMS Microbiology Letters 233: 15-21.

Pogorelova VV, Bega ZT, Kurdo IK (2012). Interrelations of infusoria with *Azotobacter* and their influence on plants. Mikrobiology Z 74: 48-54.

Rengel Z (1997). Root exudation and microflora populations in rhizosphere of crop genotypes differing in tolerance to micronutrient deficiency. Plant and Soil 196: 255-260.

Reyes I, Álvarez L, El-Ayoubi H, Valery A (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. Bioagro 20: 37-48.

Rodelas B, González-López J, Pozo C, Salmerón V, Martínez-Toledo MV (1999). Response of Faba bean (*Vicea faba* L.) to combined inoculation with *Azotobacter* and *Rhizobium leguminosarum* bv. viceae. Applied Soil Ecology 12: 51-59.

Rojas-Méndez BA, Mendoza-Villarreal R, Mellado K, Torres-Tapia A, Vázquez-Siller LM (2009). Respuesta de trigo duro a la inoculación de *Azospirillum* sp en la germinación y vigor. Agricultura Sostenible 6, 20-22 Noviembre 2009, México, pp. 127-132.

Sethi SK, Adhikary SP (2009). Efficacy of region specific *Azotobacter* strain on vegetative growth and yield of *Solanum melongena*, *Lycopersicum esculentum* and *Capsicum annuum*. Journal of Pure and Applied Microbiology 3: 331-336.

SIAP-SAGARPA (2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php (15 Julio 2013).

Shigueru-Okumura R, De Cinque-Mariano D, Dallacort R, Nogueira-De Albuquerque A, Da Silva-Lobato AK, Silva-Guedes EM, De Oliveira-Neto CF, Oliveira -Da Conceicao HE, Ruffei-Alves GA (2013). *Azospirillum*: a new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. Journal of Food Agriculture and Environment 11: 142-1146.

Suman A, Gaur A, Shrivastava AK, Yadav RL (2005). Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconoacetobacter diazotrophicus*. Plant Growth Regulation 47: 155-162.

Trân-Van V, Berge O, Ngô-Kê S, Balandreau J, Heulin T (2000). Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility acids of Vietnam. Plant and Soil 218: 273-284.

Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherduntseva TA, Netrusov AI (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Applied Biochemistry and Microbiology 42: 117-126.

Vessey JK (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as fertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.

Whipps JM (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rizosphere. Journal of Experimental Botany 52: 487-511.

(Aceptado para publicación el 8 de julio de 2014)

# Uso del "ChemSensor" como herramienta de discriminación precoz del semen de cerdo Ibérico en función de su congelabilidad

J. Gómez-Fernández[1], C. Tomás[2], J.A. Carrasco[3], R. Sánchez-Sánchez[4], A. González-Bulnes[4], E. Gómez-Izquierdo[1] y E. de Mercado[1,*]

[1] Centro de Pruebas de Porcino. Área de Investigación Ganadera. Subdirección de Investigación y Tecnología. Instituto Tecnológico Agrario. Consejería de Agricultura y Ganadería. Junta de Castilla y León. España. Ctra Riaza-Toro s/n, 40353 Hontalbilla, Segovia, España

[2] Centro de Investigación y Tecnología Animal (CITA), Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Apdo. 187. 12400- Segorbe (Castellón), España

[3] Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), C/José Antonio Novais, 10, 28040 Madrid, España.

[4] Dpto. de Reproducción Animal, INIA, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid, España

**Resumen**

Para favorecer el uso de dosis de inseminación de semen de porcino congelado-descongelado a nivel comercial, sería interesante conocer de antemano si el semen de verraco congelará bien o mal. El objetivo de este estudio fue evaluar el "ChemSensor" (cromatógrafo de gases-masas unido a un software de análisis quimiométrico) como herramienta precoz de discriminación entre eyaculados según su congelabilidad. Para ello se utilizaron 33 eyaculados de verracos de raza Ibérica de los cuales se cogió una alícuota de 1 ml de semen y se analizó con el "ChemSensor", el resto del eyaculado fue congelado-descongelado usando un protocolo estandarizado, para determinar su congelabilidad (buenos y malos congeladores) en función del porcentaje de espermatozoides con la membrana plasmática intacta y el porcentaje de espermatozoides móviles totales post-descongelación. Para el análisis con el "ChemSensor", las muestras se volatilizaron e ionizaron descomponiéndolas en diferentes iones con un tamaño determinado, que se usaron como variables de discriminación, para separar los eyaculados en función de su congelabilidad. El "ChemSensor" fue capaz de discriminar todos los eyaculados de los buenos congeladores; y dentro del grupo de los malos congeladores solamente una muestra fue clasificada erróneamente. Debido al reducido número de muestras, la distancia obtenida entre grupos (2,62), aunque no muy elevada, podría considerarse como significativa, aunque sería necesario un mayor número de muestras para poder crear un modelo matemático más robusto. En conclusión, el "ChemSensor" es una posible herramienta adecuada para la discriminación precoz de eyaculados de cerdo Ibérico en función de su congelabilidad.

**Palabras clave:** Congelación, Cromatografía gases-masas, compuestos volátiles del semen, semen cerdo ibérico.

* Autor para correspondencia: ita-merpened@itacyl.es

http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.003

**Abstract**

**Use of "ChemSensor" as an early discrimination tool of Iberian pig semen according to their freezability**

For the use of insemination dose of frozen-thawed boar sperm at the commercial level, it would be very interesting to know, in advance, if sperm from a boar will freeze well or poorly. So the aim of this study was to evaluate the ability of the "ChemSensor" (gas chromatograph-mass coupled with chemometric analysis software) as an early discrimination tool of Iberian pig ejaculates according to their freezability. For this, 33 ejaculates from Iberian breed boars were used and an aliquot of 1 ml of semen from each one was analyzed with the "ChemSensor", the rest of the ejaculate was frozen-thawed using a standardized protocol to determine their freezability (good and bad freezers), depending on the percentage of intact plasma membrane and total motile post-thaw sperm. For analysis of "ChemSensor", sperm samples were volatilized and ionized, decomposing into different ions with a determined size, which were used as discrimination variables to determine if it is possible the separation of ejaculates into two freezability groups. The "ChemSensor" was able to discriminate all the ejaculates of the good freezers; and inside of bad freezers group only one sample was misclassified. Due to the small number of samples, the distance obtained between groups (2.62), although not very high, it could be considered significant, although a larger sample in order to create a more robust mathematical model would be necessary. In conclusion, the "ChemSensor" is a possible suitable tool for the early discrimination of Iberian pig ejaculates according to their freezability.

**Key words:** Freezing, gas chromatography-mass spectroscopy; volatile components, Iberian boar semen.

## Introducción

La existencia de una elevada población de verracos cuyos espermatozoides muestran mala tolerancia permanente a la crioconservación, es un serio problema para la producción rentable de dosis espermáticas con este sistema de conservación, siendo uno los principales factores que limitan el diseño efectivo de protocolos de congelación (Medrano *et al*., 2002). Hasta ahora la selección de verracos ha estado basada en los rendimientos productivos que estos brindan a su descendencia, y no en la selección de reproductores por su capacidad de criopreservación espermática, como se viene haciendo durante años en el vacuno de leche (Vishwanath, 2003).

En la actualidad, los verracos suelen clasificarse principalmente en "buenos" y "malos" según su congelabilidad espermática, basándose principalmente en la motilidad y viabilidad de sus espermatozoides post-descongelación (Watson, 1995; Thurston *et al*., 1999; Gil *et al*., 2005; Hernández *et al*., 2007; Barranco *et al*., 2013). Esta clasificación se aplica a los verracos, y se establece en todos sus eyaculados, ya que se ha demostrado que la congelabilidad o susceptibilidad de que un eyaculado congele bien viene determinado genéticamente por el animal (Thurston *et al*., 2001), y por tanto es algo intrínseco del animal. Además estudios posteriores determinaron, si dentro de un mismo animal distintos eyaculados podrían tener distinta congelabilidad (Roca *et al*., 2006), determinándose de nuevo que es el verraco y no el eyaculado el que determina mayoritariamente si uno de sus eyaculados congelará bien o mal. Sin embargo, lo que se desconoce es cómo esas diferencias genéticas se expresan para que un eyaculado tenga una mayor o menor congelabilidad. Estas diferencias podrían estar representadas tanto por una distinta composición lipídica o proteica de la membrana espermática, como por variaciones en la composición del plasma seminal según la funcionalidad de las glándulas accesorias (Holt *et al*., 2005).

El poder conocer de antemano si el semen de un verraco congelará bien o mal, sería un punto vital para el uso comercial de la técnica de crioconservación espermática, ya que se han correlacionado mayores niveles de fertilidad cuando se usa semen de buenos congeladores que cuando se usa de malos congeladores (Casas *et al*., 2010a). Además, el semen de los buenos congeladores tiene una mayor calidad, lo que permitiría mejorar notablemente las muestras congeladas en los bancos de conservación de especies en peligro de extinción, como sucede con algunas estirpes del cerdo Ibérico. Por ello, es necesario encontrar métodos que permitan la determinación precoz de la congelabilidad de los eyaculados, siendo el "ChemSensor" una posible herramienta eficaz en la búsqueda de este objetivo.

El "ChemSensor" o también llamado Sensor químico, es un cromatógrafo de gases-masas (GC-MS) unido a un software de análisis quimiométrico, que tiene numerosas aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y química, en tareas de discriminación de diferente tipo de muestras (Radovic *et al*., 2001; Ansorena *et al*., 2001; Landaud *et al*., 2008; Rodríguez-Bencomo *et al*., 2009; Peris y Escuder-Gilabert, 2009). En este tipo de equipos las muestras a clasificar son volatilizadas, y aunque se obtiene un cromatograma con los diferentes compuestos volátiles, el análisis de clasificación lo realiza en base al espectro de masas específico de cada molécula, obtenido a partir de la fragmentación carga-masa iónica de todos los compuestos volátiles en conjunto (Busto *et al*., 2002; Armanino *et al*., 2008; Cynkar *et al*., 2010; Vera *et al*., 2010). El detector de masas del cromatógrafo fragmenta las moléculas mediante un impacto electrónico que produce una serie de fracciones másicas con unos valores m/z (masa/carga) y con una abundancia determinada de cada una de las fracciones. La suma de las abundancias de cada masa iónica, de cada uno de los espectros, nos da una matriz de datos que puede superar los 500, pudiendo usar cada fracción másica como una verdadera variable para la clasificación. Para poder manipular este gran conjunto de datos es necesario recurrir al análisis multivariante mediante herramientas quimiométricas, como el método de reconocimiento de patrones SIMCA (Soft Independent Modelling Class Analogy) (Peris y Escuder-Gilabert, 2009). Este método permite asignar una clasificación previa al análisis de nuestras muestras (en este caso grupos de congelabilidad), separando cada uno de los grupos en función de la analogía que tienen cada una de las muestras que lo integran mediante un análisis de componentes principales (en este caso estos componentes serían las fracciones másicas), determinándose así un modelo para cada grupo de clasificación y estableciendo un límite entre las muestras pertenecientes a cada uno los grupos de estudio y las muestras que no pertenecen a ninguno, para un nivel de confianza de 95%.

El uso combinado del "ChemSensor" con la técnica de análisis SIMCA ha sido recientemente puesto a punto por el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN) del CSIC, como una herramienta discriminatoria entre cerdos alimentados con diferentes dietas (Martín *et al*., 2009; Carrasco y Duque, 2013), a partir de la información aportada por el cromatograma de muestras de ácidos grasos, y compuestos volátiles de muestras de tocino.

Así pues, si esta técnica híbrida da la posibilidad de discriminar una muestra de un animal en función de una clasificación previa, cabe la posibilidad de poder discriminar entre muestras de semen de diferentes verracos, diferenciando entre "buenos" y "malos" congeladores, previa relación de los datos obtenidos por el sensor químico con su potencial de congelabilidad (evaluación de parámetros de calidad espermática tras la descongelación de las muestras).

Por todo esto, el objetivo de este estudio fue determinar la capacidad del "ChemSensor" como herramienta de discriminación precoz del semen de cerdo Ibérico en función de su congelabilidad.

## Material y métodos

### Recolección de los eyaculados

Se recogió un eyaculado de 33 verracos Ibéricos sexualmente maduros procedentes de diferentes centros de inseminación. Los verracos tenían edades comprendidas entre los 2 y 3 años y estaban alojados en celdas individuales en un ambiente controlado (15-25 ºC) con exposición diaria a luz natural suplementada con luz artificial hasta las 16 horas de luz diarias. Los animales tuvieron acceso *ad libitum* al agua y fueron alimentados con una dieta comercial adecuada para los requerimientos nutricionales de un verraco adulto. El eyaculado fue obtenido usando el método de la mano enguantada, diluyéndolo inmediatamente en BTS atemperado a 37 °C (1:1 (vol:vol)). Para el análisis con el "ChemSensor" se tomó una alícuota de 1 mL de semen sin diluir, que fue congelado a -80 ºC después de la extracción. Esta congelación se realiza para que los componentes del eyaculado no se vean modificados hasta el momento de su análisis.

Después de su recolección, se evaluaron las características de calidad del eyaculado mediante técnicas habituales de laboratorio. Sólo se seleccionaron para ser congelados aquellos eyaculados que tenían una concentración de ≥ 200x106 espermatozoides/ml, ≥ 85% de espermatozoides con morfología normal, ≥ 75% de espermatozoides móviles, ≥ 80% de espermatozoides viables y ≤ 1,5% de espermatozoides con el ADN fragmentado.

### Congelación y descongelación de las muestras

Los espermatozoides fueron criopreservados usando el proceso de congelación descrito por Westendorf *et al*. (1975), y modificado por Thurston *et al*. (2001) y Carvajal *et al*. (2004).

Las muestras de semen diluidas fueron enfriadas a 15 ºC durante 2 horas. Posteriormente fueron centrifugadas a 2400g durante 3 minutos a 15 ºC, para la eliminación del diluyente y del plasma seminal. El pellet de espermatozoides obtenido fue de nuevo diluido en el diluyente de congelación FEY (Fructosa-yema de huevo; Thilmant, 1997) hasta una concentración de 1,5 x $10^9$ células/mL. A continuación se enfriaron las muestras hasta los 5 ºC en un tiempo de 120 minutos en un baño termostático programable, diluyéndolas posteriormente con el diluyente FEY, que esta vez incorporaba glicerol como crioprotector principal, en un porcentaje final del 3% (pH 6,2, and 1650 ± 15 mOsm/kg), hasta una concentración final de 1 x $10^9$ células/mL. Las muestras resuspendidas fueron envasadas en pajuelas de 0,5 mL (Minitüb, Tiefenbach, Alemania), y se congelaron posteriormente en un biocongelador programable usando una curva de congelación adecuada (Carvajal *et al*., 2004). Las pajuelas se mantuvieron en nitrógeno líquido al menos 2 semanas antes de ser descongeladas. La descongelación de las pajuelas fue realizada en un baño termostático de agua a una temperatura de 37 ºC durante 20 segundos. Así, una vez descongeladas, las muestras fueron diluidas en Beltsville Thawing Solution (BTS; Johnson *et al*., 1988) (1:1 (vol/vol), 37 ºC) e incubadas en el baño termostático a 37 ºC durante 30 minutos, momento en el cual se procedió a el análisis de su calidad.

Evaluación de la calidad espermática

*Medida de la movilidad espermática post-descongelación*

La movilidad espermática fue analizada objetivamente usando un sistema computerizado de análisis del movimiento espermático (Sperm Class Analyzer® Microptic, Barcelona, España), siguiendo el procedimiento descrito por Cremades *et al*. (2005). Para cada evaluación, tres campos fueron analizados contando un mínimo de 100 espermatozoides por campo. Se determinaron el porcentaje de espermatozoides mótiles totales (% EMT), mótiles progresivos (% EMP) y mótiles progresivos rápidos (% EMPR). Así como los siguientes parámetros de calidad del moviendo: velocidad curvilínea (VCL, μm/s), velocidad rectilínea (VSL, μm/s), velocidad media (VAP, μm/s), índice de linealidad (LIN, %), índice de rectitud (STR, %), índice de oscilación (WOB, %), amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALH, μm) y la media de la frecuencia de batida (BCF, Hz). Sólo el porcentaje de espermatozoides móviles totales (% EMT) fue considerado para la clasificación por congelabilidad.

*Medida de la integridad de la membrana plasmática*

La determinación de la integridad de la membrana espermática fue analizada usando una prueba de doble tinción fluorescente con SYBR-14 y Ioduro de propidio (IP) (L-7011, Live/Dead Sperm Viability Kit; Molecular Probes Europe, Leiden, Países Bajos), descrito por Garner y Johnson (1995). Las muestras fueron evaluadas mediante un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse E400, Tokyo, Japón) equipado con un filtro Nikon G-2A (excitación/barrera de 510/590), que permite la excitación simultánea del azul y el verde para el SYBR-14 y el IP respectivamente. Un mínimo de 300 espermatozoides por muestra fueron analizados. Sólo el porcentaje de espermatozoides con la membrana plasmática intacta (% EMPI) fue considerado en los resultados.

*Determinación del grado de fragmentación del ADN espermático*

La determinación del grado de fragmentación se realizó, por microscopía de fluorescencia, usando el kit comercial Sperm-Sus-HALOMAX® (ChromaCell, España). Las muestras fueron procesadas de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Así brevemente, 25 μL de cada una de las muestras descongeladas (diluidas en BTS hasta los 10 x $10^6$ espermatozoides/mL), fueron añadidas al vial comercial de agarosa. Alícuotas de 1,7 mL de las muestras con agarosa se pusieron en el portaobjetos pre-tratados, se cubrieron y se enfriaron a 4ºC durante 10 minutos. Pasado este tiempo se retiraron los cubres y se sumergieron las muestras en la solución de lisis por 5 minutos. Pasado este tiempo las muestras se lavaron con agua destilada, y se deshidrataron de manera secuencial en baños de etanol (70, 90 y 100%). Una vez secas las muestras se tiñeron con el fluorocromo adjunto con el kit. Un mínimo de 300 espermatozoides por muestras fueron contados. El porcentaje de espermatozoides fragmentados se calculó en base al tamaño del halo alrededor de la cabeza del espermatozoide.

*Análisis con el "ChemSensor"*

Análisis de los compuestos volátiles del semen

Para analizar los compuestos volátiles del semen, se utilizó una alícuota de 1 mL de semen completo, que se homogenizó y se colocó en el vial de análisis. Los análisis se realizaron en un "ChemSensor" (cromatógrafo de gases-masas CG 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU., acoplado al espacio de cabeza dinámico). Las muestras fueron inyectadas automáticamente y retenidas en la trampa

del espacio de cabeza dinámico, utilizando tres ciclos de purga/trampa (TurboMatrix HS-40 con Air Monitoring Trap, PerkinElmer, Waltham, MA, EE.UU.). A continuación, las muestras fueron desorbidas térmicamente (280 °C) de la trampa y fueron inyectadas (200 °C) en el equipo a través de una columna capilar (HP-5MS: 30 m x 0,32 mm i.d., 0,25 μm film de espesor). El espectrómetro de masas (MS 5973MSD) constaba de un detector de cuadrupolo operando en modo de impacto electrónico, con una energía de ionización de 70 eV, y línea de transferencia de 110 °C. El escaneo de masas se realizó en el rango de fragmentos iónicos m/z = 50–200 a.m.u./q.

Los diferentes volátiles obtenidos fueron plasmados en un cromatograma, e identificados usando la librería Wiley del propio equipo, considerando que el compuesto identificado era aquél que poseía el mayor porcentaje de probabilidad, descartándose los que tuvieran una probabilidad inferior al 50%.

### Análisis quimiométrico

Una vez analizados los compuestos volátiles del semen se utilizaron los resultados de las diferentes fracciones másicas para ser analizadas con el sistema quimiométrico. El sistema de tratamiento de datos fue el integrado en el programa informático. Los análisis multivariantes se realizaron sobre los datos normalizados, utilizando el software quimiométrico (Pirouette 3.11, Infometrix Inc). La clasificación predictiva de las muestras, de acuerdo con la congelabilidad de las muestras (2 grupos, buenos y malos congeladores), se realizó mediante el método de reconocimiento de patrones (Soft Independent Modelling Class Analogy, SIMCA). En este método cada clase o grupo (en este caso grupos de congelabilidad) se modela usando un análisis de componentes principales de forma independiente, de tal manera que cada grupo tiene un modelo específico, que lo describe el número óptimo de componentes principales (en este caso estos componentes serían las fracciones másicas). De esta manera se puede construir un espacio para cada grupo, cuyo volumen marca el límite entre las muestras pertenecientes a cada uno los grupos de estudio y las muestras que no pertenecen a ninguno, para un nivel de confianza de 95%.

Los resultados obtenidos con este modelo se expresan de dos maneras. La primera mediante la clasificación predicha o esperada de las muestras, o lo que es lo mismo el modelo nos indica el número de muestras que ha podido clasificar dentro de cada grupo o en ninguno de ellos, describiéndonos el número de muestras bien clasificadas o el número de falsos positivos (animales que congelan mal, clasificados como buenos congeladores) y el número de falsos negativos (animales buenos congeladores clasificados como malos congeladores). El segundo por las distancias ortogonales de las muestras del conjunto respecto a las de las dos clases o grupos de congelabilidad definidos por el modelo. De forma visual estas distancias de separación entre los grupos se representan mediante un diagrama de Coomans (Coomans *et al*., 1984) (Figura 1), donde observamos la buena o mala clasificación de las muestras observando su posición respecto a los grupos, siendo el eje X para los malos congeladores, y el eje Y para los buenos congeladores. Así cuanto más próximos al cuadrante superior izquierda (o dentro de este) estén los malos congeladores, y más próximos al cuadrante inferior derecho (o dentro de este) estén los buenos congeladores, mayor serán las distancias ortogonales entre los grupos y por tanto la validez de nuestro modelo.

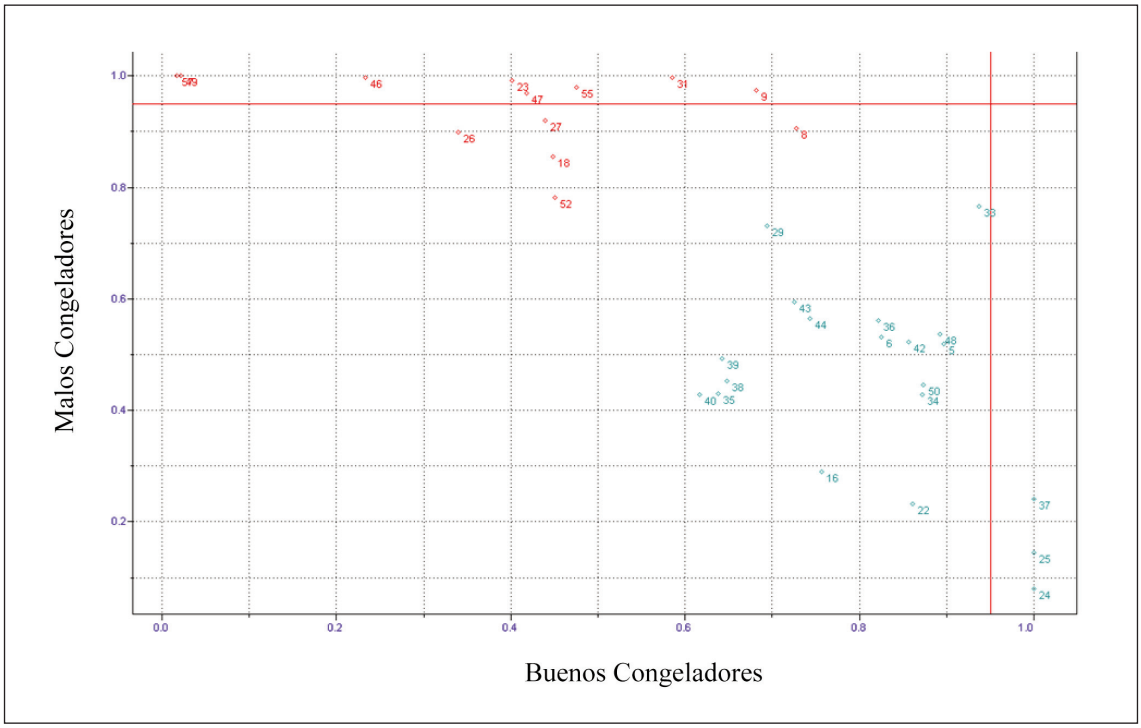



Figura 1. Diagrama de Coomans. Representación visual de las distancias de separación entre los grupos de congelabilidad (buenos (azul) y malos (rojo) congeladores).

Las coordenadas de la gráfica son los valores predictivos de los grupos de congelabilidad (buenos y malos congeladores) en función del modelo de componentes principales de cada uno de los grupos (X para los buenos congeladores; e Y para los malos congeladores). Las líneas de color rojo muestran 4 cuadrantes, y son la representación de las distancias críticas que se corresponden con el intervalo de confianza del 95%

*Figure 1. Coomans diagram, visual representation of the separation distances between freezability groups (good (blue) and bad (red) freezers).*

## Análisis de la sensibilidad y especificidad del modelo

El análisis de la sensibilidad y especificidad, es usado para determinar la validez de un modelo frente a la presencia de falsos positivos y falsos negativos en los modelos de diagnostico de enfermedades. Para nuestro caso consideraremos que ser buen congelador es positivo y ser mal congelador es negativo. Así la sensibilidad nos indicará la capacidad de nuestro modelo para determinar que un verraco es un buen congelador cuando realmente lo es, y la especificidad nos indica la capacidad de nuestro modelo para determinar que un macho congelará mal cuando realmente es un mal congelador. Así una alta sensibilidad nos indicará que nuestro modelo es capaz de determinar correctamente los buenos congeladores, y una alta especificidad nos indicará la capacidad de nuestro modelo para determinar correctamente si un verraco es mal congelador.

### Análisis estadístico

Para la clasificación de los diferentes eyaculados en función de su congelabilidad, se realizó un análisis de clasificación por clusters o grupos con el programa estadístico Statgraphics (Versión 15.2.12., StatPoint Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, EE. UU.), usando como criterio de clasificación la media del grupo, donde la distancia entre dos clústers fue la distancia media de las observaciones de un clúster a la del otro. Y la distancia métrica entre clústers usada fue la euclidiana al cuadrado, que es la suma de los cuadrados de las diferencias de los valores de las observaciones en los grupos. Como variables de discriminación se usaron tan solo el número de espermatozoides vivos totales y el porcentaje de espermatozoides móviles totales a los 30 minutos post-descongelación, debido a que la inclusión de más parámetros afectaba al sistema estadístico de clasificación, diminuyendo notablemente el R-cuadrado de nuestro modelo, y por tanto la validez del mismo. Además de forma general ya esta establecido por otros autores que el uso de estas dos variables es suficiente para una adecuada clasificación de los eyaculados para su congelabilidad (Roca *et al*., 2006; Barranco *et al*., 2013). Las diferencias entre las medias de los grupos fueron contrastadas con el paquete estadístico SAS (Versión 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, EE. UU.) mediante un análisis GLM, para determinar si dichas diferencias entre grupos eran significativas ($P<0,05$). Los resultados se expresan como medias con su respectivo Error Estándar de la Media (EEM). Fueron consideradas las diferencias significativas a $P<0,05$.

La clasificación realizada con el sensor químico se hizo mediante el programa informático Pirouette (Versión 3.10., Infometrics, INC, EE. UU.) usando el sistema de análisis quimiométrico SIMCA (Soft Independent Modelling Class Analogy), como se ha descrito anteriormente. Y el análisis de la sensibilidad y especificidad se realizo mediante el programa Excel (Microsoft® Office Excel 2003).

## Resultados

La clasificación de los diferentes eyaculados en función de su congelabilidad, según el % EMPI y el % EMT se muestra en la Tabla 1. En estos resultados se puede observar que 20 de los 33 eyaculados son considerados como pertenecientes a machos buenos congeladores, y 13 de los 33 a machos malos congeladores. Una vez fueron clasificadas las muestras de acuerdo a su congelabilidad, se relacionaron con los resultados obtenidos de análisis de los compuestos volátiles.

### Resultados del análisis de los volátiles del semen

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de los diferentes volátiles detectados e identificados entre los grupos de congelación ($P > 0,05$) (Tabla 2). El compuesto volátil mayoritario fue el hexano, con un porcentaje de área respecto del total de áreas del 93%. Compuestos como octametilciclotetrasiloxano, decametil ciclopentasiloxano, dodecametil ciclohexasiloxano y tetradecametil ciclopentasiloxano se identificaron como residuos de la propia columna cromatográfica con un porcentaje medio de 2-3%. El resto de componentes estuvieron presentes en una proporción menor de 0,5%.

### Resultados del análisis quimiométrico

En la Tabla 3 se puede observar como en función de la clasificación por congelabilidad, el modelo nos da una clasificación predicha o esperada de las diferentes muestras analizadas. Así puede observarse que los animales

Tabla 1. Valores medios de la calidad espermática pre-congelación y post-descongelación de los distintos grupos de congelabilidad
*Table 1. Mean values of pre-freeze and post-thaw sperm quality of the different freezability groups*

| Variables | Buenos congeladores | Malos congeladores | EEM[1] |
|---|---|---|---|
| | Pre-Congelación | | |
| EMPI[2] (%) | 80,9 | 84,2 | 2,75 |
| EAF[3] (%) | 0,82 | 0,99 | 1,2 |
| EMT[4] (%) | 78,75 | 81 | 2,4 |
| | Post-Descongelación | | |
| EMPI[2] (%) | 57,8[a] | 42,1[b] | 1,32 |
| EAF[3] (%) | 1,1 | 1,3 | 0,95 |
| EMT[4] (%) | 50,3[a] | 28,5[b] | 1,42 |
| EMP[5] (%) | 41,3[a] | 24,8[b] | 1,4 |
| EMPR[6] (%) | 39,6[a] | 22,8[b] | 1,5 |
| VCL[7] (μm/s) | 106,9 | 97,6 | 3,4 |
| VSL[8] (μm/s) | 75,4 | 72,7 | 3,06 |
| VAP[9] (μm/s) | 93,3 | 85,2 | 3 |
| LIN[10] (%) | 70,7 | 74,4 | 2,02 |
| STR[11] (%) | 80,9 | 85,1 | 1,93 |
| WOB[12] (%) | 87,2 | 87,4 | 1,09 |
| ALH[13] (μm) | 2,91 | 2,59 | 0,12 |
| BCF[14] (Hz) | 7,68 | 7,87 | 0,15 |
| N[15] | 20 | 13 | |

[1] Error estándar de la media; [2] porcentaje de espermatozoides con la membrana plasmática intacta; [3] porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado; [4] porcentaje de espermatozoides móviles totales; [5] porcentaje de espermatozoides mótiles progresivos; [6] porcentaje de espermatozoides mótiles progresivos rápidos; [7] velocidad curvilínea, [8] velocidad rectilínea, [9] velocidad media; [10] índice de linealidad; [11] índice de rectitud; [12] índice de oscilación; [13] amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide; [14] media de la frecuencia de batida; [15] Número de machos incluidos en cada grupo.

Letras diferentes en la misma variable indican diferencias significativas (P< 0,05).

Tabla 2. Porcentaje del área respecto del total de áreas de los distintos compuestos volátiles identificados en la muestras de semen
*Table 2. Percentage of area with respect to total area from the individual volatile compounds identified in the semen samples*

| Compuesto Volátil | Buenos congeladores (n = 20) | Malos congeladores (n = 13) | EEM[1] |
|---|---|---|---|
| Hexano | 92,45 | 92,56 | 0,81 |
| Hexanol | 0,2 | 0,09 | 0,071 |
| Benzaldehído | 0,43 | 0,43 | 0,003 |
| Octametil Ciclotetrasiloxano | 1,55 | 1,53 | 0,109 |
| Nonanal | 0,98 | 1,18 | 0,36 |
| Decametil Ciclopentasiloxano | 1,3 | 1,27 | 0,103 |
| Dodecametil Ciclohexasiloxano | 1,64 | 1,57 | 0,135 |
| Trimetoxi-silano de Propilo | 0,22 | 0,18 | 0,035 |
| Tetradecametil Ciclopentasiloxano | 1,01 | 1 | 0,082 |

[1] Error estándar de la media.

Tabla 3. Clasificación predicha o esperada de las diferentes muestras analizadas en función de su congelabilidad y distancia ortogonal entre los dos grupos de congelabilidad
*Table 3. Predicted or expected classification from the various samples analyzed according to their freezability and orthogonal distance between the two groups of freezability*

| | Malos predichos | Buenos predichos | No clasificados | Distancia entre los grupos de congelabilidad |
|---|---|---|---|---|
| Malos congeladores | 12 | 1 | 0 | 2,62 |
| Buenos congeladores | 0 | 20 | 0 | |

clasificados como buenos congeladores son discriminados de los malos congeladores. En cambio, en el grupo de los malos congeladores aparece un animal clasificado como bueno, creando así un falso positivo. No se observaron falsos negativos, ni hubo muestras que no pudieran ser clasificadas.

La distancia ortogonal de las muestras del conjunto respecto a la de los dos grupos de congelabilidad definidos por el modelo fue de 2,62 (Tabla 3). Al observar dichas distancias, puede determinarse que éstas son relativamente bajas, ya que para que se consideren diferentes significativamente, la distancia debería ser de al menos 3. Pero a pesar de ello, el modelo muestra un óptimo poder clasificatorio, como puede observarse en el diagrama de Coomans (Figura 1), donde se representan

cada una de las muestras analizadas en función de si son malos congeladores (eje X) o buenos congeladores (eje Y), observándose los malos congeladores de color rojo cerca del cuadrante superior izquierdo, separados de los buenos congeladores de color azul, cerca del cuadrante inferior derecho.

### Resultados del análisis de sensibilidad y especificidad

Los resultados predichos o estimados de nuestro modelo determinaron que hubo un falso positivo, es decir, un macho mal congelador que se clasificó como buen congelador. Para determinar, la validez del modelo se calculó la sensibilidad y especificidad del mismo. Así la sensibilidad es la división entre el número de animales buenos congeladores reales entre la resta del número de animales buenos congeladores reales más los falsos negativo. Por tanto el valor de la sensibilidad fue de 1 al no existir falsos negativos. Y la especificidad es el número de malos congeladores reales, divididos entre el número de malos congeladores reales más los falsos positivos (hubo uno), siendo el valor de 0,93. Así estos resultados muestran que nuestro modelo tiene una elevada sensibilidad y una alta especificidad lo cual nos constata la robustez de nuestro modelo en la predicción de la congelabilidad.

## Discusión

Muchos investigadores han centrado sus estudios en determinar las diferencias entre un eyaculado de un macho buen congelador, y un eyaculado de un macho mal congelador (Thurston *et al*., 2002; Maldjian *et al*., 2005; Harshan *et al*., 2006; Esteso *et al*., 2006; Hernández *et al*., 2006; Casas *et al*., 2010a). Pero pocos han buscado un método que permita una discriminación precoz de los eyaculados en función de su futura congelabilidad (Petrunkina *et al*., 2004; Gil *et al*., 2005; Casas *et al*., 2009 y 2010b). La posibilidad de obtener un modelo capaz de determinar la congelabilidad de un eyaculado sin tener que congelarlo, descongelarlo y valorarlo, sería un gran avance para la utilización del semen congelado en la inseminación artificial porcina, ya que permitiría determinar qué animales son los más adecuados para congelar sus espermatozoides y garantizar una mayor calidad a la descongelación, pudiendo así rentabilizar los machos de alto interés genético y crear óptimos bancos de espermatozoides congelados.

El estudio de los componentes volátiles usando una "pseudo-nariz electrónica" o "ChemSensor" es una técnica habitual en la investigación de la calidad de los alimentos y la clasificación de muestras (Olsson *et al*., 2000; Radovic *et al*., 2001; Ansorena *et al*., 2001; Landaud *et al*., 2008; Rodríguez-Bencomo *et al*., 2009). El ChemSensor permite determinar qué compuestos aromáticos tiene una muestra biológica (Radovic *et al*., 2001; Ansorena *et al*., 2001; Landaud *et al*., 2008) y, usando esos compuestos, clasificar diferentes tipos de muestras independientemente de su origen en aspectos muy diferentes, como puede ser el estado de curación de ciertos alimentos (Ruiz *et al*., 1999; Martín *et al*., 2009), la calidad organoléptica (Rodríguez-Bencomo *et al*., 2009) o discriminar muestras contaminadas de otras que no lo están (Olsson *et al*., 2000), constituyendo el uso de esta herramienta una técnica de discriminación y clasificación muy eficaz. Así la clara capacidad de discriminación que poseen equipos como el "ChemSensor" usando como matriz muestras biológicas tan diferentes, nos hizo pensar que el estudio de los componentes volátiles del semen podría servir como un método para determinar de una forma rápida y precisa, si una muestra de semen sería apta o no para su criopreservación, tratando de correlacionar la proporción de alguno de estos volátiles con la congelabilidad del macho.

Los resultados obtenidos muestran que los componentes volátiles detectados en semen de porcino son muy escasos, en comparación con los obtenidos en análisis de otras muestras biológicas (Ansorena *et al*., 2001; Radovic *et al*., 2001; Martín *et al*., 2009; Rodríguez-Bencomo *et al*., 2009), determinándose que los componentes volátiles detectados no aportan la información necesaria para poder usarlos como una herramienta de clasificación en sí misma de la futura congelabilidad de los eyaculados. Sin embargo el estudio de la clasificación de los eyaculados por su congelabilidad no termina con los resultados de los cromatogramas obtenidos de las muestras, sino que el "ChemSensor" utiliza el espectro total de masas obtenido en estos análisis, representando cada fracción másica resultante de la separación por cromatografía. Así cada fracción másica puede ser considerada como un potencial descriptor químico de una muestra y el conjunto de fracciones másicas es sujeto a un análisis multivariante (SIMCA) para, de esta manera, obtener información cuantitativa o cualitativa que pueda predecir la calidad de una muestra (Laguerre *et al*., 2007). En este estudio se utilizó el espectro total de fracciones másicas obtenidas de cada perfil de compuestos volátiles de las muestras de semen analizadas, clasificándolas previamente por grupos de congelabilidad, para tratar de realizar un análisis discriminatorio de cada una de las muestras usando el método SIMCA. Los resultados obtenidos permitieron el uso de hasta 500 fracciones másicas como variables de discriminación de las muestras, entre los diferentes grupos (buenos y malos congeladores).

El modelo que se obtiene con este estudio nos muestra que es capaz de discriminar los eyaculados de los buenos de los malos congeladores, determinándose que los animales clasificados como buenos congeladores nunca se clasifican como malos, es decir que no existen falsos positivos. Teniendo en cuenta los resultados observados de sensibilidad y especificidad, al ser estos valores muy elevados (la sensibilidad del modelo es de 1, y la especificidad de 0,93), este modelo nos indica que la probabilidad de que haya falsos positivos es muy baja y menor aun de que existan falsos negativos.

Al observar los resultados de las distancias ortogonales entre grupos los congelabilidad, si nos fijamos en el diagrama de Coomans (Figura 1) el modelo muestra bien separados los buenos de los malos congeladores, pero no con una discriminación perfecta, que sería cuando los malos congeladores estuvieran todos enmarcados en el cuadrante superior izquierdo, y los buenos congeladores en el cuadrante inferior derecho. Para que las distancias entre grupos sean significativas su valor debe ser mayor de 3 (Busto *et al*., 2002), pero nuestro estudio marca dichas distancias en un valor de 2,62. Este valor podría ser insuficiente para algunos autores, pero autores como Laguerre *et al*. (2007) determinan que distancias de separación entre grupos por encima de 2 se pueden considerar significativas si el número de muestras del que se parte es bajo. Por tanto, en nuestro caso, se puede considerar que la distancia inter-clase obtenida con este modelo sería significativa, ya que se trata de un estudio preliminar, donde se han utilizado 33 muestras de semen de cerdo Ibérico, siendo este valor bajo para poder crear un modelo matemático estable, pero suficientes para un estudio preliminar que buscaba determinar si este tipo de análisis servirían para poder discriminar muestras de semen por su grado de congelabilidad.

La capacidad de discriminación que ha mostrado este modelo usando semen completo nos indica la existencia de diferencias en la composición del semen de buenos y malos congeladores. Pero se desconoce cuales son dichas diferencias. El "ChemSensor" aporta información de discriminación con el uso de múltiples variables, las cuales en este caso son

fracciones másicas obtenidas del análisis de los compuestos volátiles del semen. Sin embargo es difícil la identificación individual de los componentes químicos responsables de cualquiera de las diferencias observadas (Berlioz *et al*., 2006), y por tanto determinar a qué compuestos o componentes corresponden estas fracciones es una labor complicada, más todavía a falta de algún trabajo referencial que analice la composición de fracciones másicas del semen.

Las diferencias entre los eyaculados de machos buenos y malos congeladores en lo que se refiere a su composición han sido estudiadas por múltiples autores. Algunos autores atribuyen que la mayor o menor resistencia a la congelabilidad viene determinada por la composición lipídica de la membrana del espermatozoide. Así la presencia de ácidos grasos poliinsaturados confiere una gran fluidez a la membrana la cual podría dar una mejor resistencia al daño surgido por la formación de cristales de hielo durante la congelación (Maldjian *et al*., 2005; Waterhouse *et al*., 2006). O variaciones en la proporción de algunos ácidos grasos también se relacionan con la criotolerancia en el semen (Miller *et al*., 2005). Mientras que otros autores muestran resultados de que es la composición proteica de la membrana la responsable de esta congelabilidad (Casas *et al*., 2009 y 2010b).

Otro grupo de autores sin embargo, afirman que la mayor o menor resistencia a la congelación viene determinada por la composición del plasma seminal, ya sea por la presencia de lípidos en el plasma seminal en forma de gránulos y vesículas membranosas (Piehl *et al*., 2006) denominadas como prostasomas, que contienen gran cantidad de colesterol y esfingomielina, y que podrían estar envueltas en la estabilización de la membrana espermática y por tanto jugar un papel importante en la respuesta a la crioconservación espermática (He *et al*., 2001). O debido a la composición en proteínas del mismo (Hernández *et al*., 2007; Singh *et al*., 2014).

En cualquier caso parece no existir un único factor que determine la congelabilidad de una muestra (Hernández *et al*., 2007), sino que puede ser un conjunto de factores los que determinen la futura resistencia de un eyaculado a su congelación; factores entre los que se podría incluir tanto la composición del plasma seminal como la composición de la membrana del espermatozoide. Así nuestro modelo predictivo, aunque preliminar, se muestra como un modelo eficaz, ya que incluye tanto los espermatozoides como el plasma seminal, y por tanto engloba los factores que se han determinado como posibles responsables de la criotolerancia de semen. Cuales de estos factores son los que engloban el modelo es muy difícil de discernir, y menos sin otros trabajos que estudien aspectos similares. Por tanto se debería determinar con más exactitud los componentes volátiles del semen y de donde proceden, ya que muchos de estos compuestos son producidos a partir ácidos grasos (Frankel, 1972; Forss, 1972), o pueden estar asociados a proteínas (Pérez, 2006), y por tanto se podrán llegar a relacionar con los resultados de congelabilidad encontrados por otros autores.

Por todo esto se puede concluir que el "ChemSensor" se muestra como una posible herramienta adecuada para la discriminación precoz entre buenos y malos congeladores. El uso de este equipo para este tipo de muestras biológicas es del todo novedoso, y no ha sido descrito nunca en el semen de porcino, pero se trata de un trabajo preliminar y sería necesario aumentar el número de muestras analizadas para poder obtener un modelo más eficaz, con mayores distancias de discriminación y sin falsos positivos.

**Agradecimientos**

Queremos dedicar este trabajo al Dr. Atanasio Carrasco Manzano que dedicó gran parte de su vida profesional a la mejora de las técnicas discriminantes mediante el "ChemSensor" en diferentes matrices. Desgraciadamente no ha podido ver finalizada esta publicación, falleciendo un mes antes de haberla concluido. Sirvan estas líneas de recuerdo y homenaje a una extraordinaria persona y ejemplo para la profesión investigadora.

**Bibliografía**

Ansorena D, Gimeno O, Astiasarán I, Bello J (2001). Analysis of volatile compounds by GC-MS of a dry fermented sausage: chorizo de Pamplona. Food Research Internacional 34: 67-75.

Armanino C, Casolino MC, Casale M, Forina M (2008). Modelling aroma of three Italian red wines by headspace-mass spectrometry and potencial functions. Analytica Chimica Acta 614: 134-142.

Barranco I, Ortega MD, Martínez-Alborcia M, Vázquez JM, Martínez E, Roca J. (2013) Season of ejaculate collection influences the freezability of boar spermatozoa. Cryobiology 67: 299-304.

Berlioz B, Cordella C, Cavalli JF, Lizzani-Cuvelier L, Loiseau AM, Fernández X (2006). Comparison of the Amounts of Volatile Compounds in French Protected Designation of Origin Virgin Olive Oils. Journal of the Agricultural Food Chemistry 54: 10092-10101.

Busto O, Martí MP, Guasch J (2002). La nariz electrónica en el control de calidad de vinos. Nuevas aplicaciones. Tecnología del vino: Tratamientos y equipos para viticultura y enología 5: 31-35.

Carrasco JA, Duque JP (2013). Classification of Iberian pigs according to intensive feeding by ChemSensor. Aceites y Grasas 64: 166-172.

Carvajal G, Cuello C, Ruiz M, Vázquez JM, Martínez EA, Roca J (2004). Effects of centrifugation before freezing on boar sperm cryosurvival. Journal of Andrology 25: 389-396.

Casas I, Sancho S, Briz M, Pinart E, Bussalleu E, Yeste M, Bonet S (2009). Freezability prediction of boar ejaculates assessed by functional sperm parameters and sperm proteins. Theriogenology 72: 930-948.

Casas I, Sancho S, Briz M, Pinart E, Bussalleu E, Yeste M, Bonet S (2010a). Fertility after postcervical artificial insemination with cryopreserved sperm from boar ejaculates of good and poor freezability. Animal Reproduction Science 118: 69-76.

Casas I, Sancho S, Ballester J, Briz M, Pinart E, Bussalleu E, Yeste M, Fàbrega A, Rodríguez-Gil JE, Bonet S (2010b). The HSP90AA1 sperm content and the prediction of the boar ejaculate freezability. Theriogenology 74: 940-950.

Cremades T, Roca J, Rodríguez-Martínez H, Abaigar T, Vázquez JM, Martínez EA (2005). Kinematic changes during the cryopreservation of boar spermatozoa. Journal of Andrology 26: 610-618.

Cynkar W, Dambergs RG, Smith P, Cozzolino D (2010). Classification of Tempranillo wines according to geographic origin: Combination of mass spectrometry based electronic nose and chemometrics. Analytica Chimica Acta 660: 227-231.

Coomans D, Broeckaert I, Derde MP, Tassin A, Massart DL, Wold S (1984). Use of a microcomputer for the definition of multivariate confidence regions in medical diasnosis based on clinical laboratory profiles. Computers and Biomedical Research 17: 1-14.

Esteso MC, Soler AJ, Fernández-Santos MR, Quintero-Moreno AA, Garde JJ (2006). Functional significance of the sperm head morphometric size and shape for determining freezability in iberian red deer (Cervus elaphus hispanicus) epididymal sperm samples. Journal of Andrology 27: 662-670.

Forss DA (1972). Odor and flavor compounds from lipids. Progress in the Chemistry o Fats and Other Lipids 13: 181-258.

Frankel EN (1972). Review. Recent advances in lipid oxidation. Journal of the Science of Food and Agriculture 54: 495-511.

Garner DL, Johnson LA (1995). Viability Assessment of Mammalian Sperm Using SYBR-14 and Propidium Iodide. Biology of Reproduction 53: 276-284.

Gil MA, Roca J, Cremades T, Hernández M, Vázquez JM, Rodríguez-Martínez H, Martínez EA (2005). Does multivariate analysis of post-thaw sperm characteristics accurately estimate in vitro fertility of boar individual ejaculates? Theriogenology 64: 305-316.

Harshan HM, Singh LP, Arangasamy A, Ansari MR, Kumar S. (2006). Effect of buffalo seminal plasma heparin binding protein (HBP) on freezability and in vitro fertility of buffalo cauda spermatozoa. Animal Reproduction Science 93: 124-133.

He L, Bailey JL, Buhr MM (2001). Incorporating lipids into boar sperm decreases chilling sensitivity but not capacitation potencial. Biology of Reproduction 64: 69-79.

Hernández M, Roca J, Ballester J, Vázquez JM, Martínez EA, Johannisson A, Saravia F, Rodríguez-Martínez H (2006). Differences in SCSA outcome among boars with different sperm freezability. International Journal of Andrology 29: 583-591.

Hernández M, Roca J, Calvete JJ, Sanz L, Muiño-Blanco T, Cebrián-Pérez JA, Vázquez JM, Martínez EA (2007). Cryosurvival and in vitro fertilizing capacity postthaw is improved when boar spermatozoa are frozen in the presence of seminal plasma from good freezer boars. Journal of Andrology 28: 689-697.

Holt WV, Medrano A, Thurston LM, Watson PF (2005). The significance of cooling rates and animal variability for boar sperm cryopreservation: insights from the cryomicroscope. Theriogenology 63: 370-382.

Johnson LA, Aalbers JG, Grooten HIG (1988). Artificial insemination of swine: fecundity of boar stored in beltsville ts (bts), modified modena (mm) or mr-a and inseminated on one, three and four days after collection. Zuchthygiene 23: 49-55.

Laguerre M, Mestres C, Davrieux F, Ringuet J, Boulanger R (2007). Rapid discrimination of scented rice by solid-phase mMicroextraction, mass spectrometry, and mMultivariate analysis used as a mass sensor. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 1077-1083.

Landaud S, Helinck S, Bonnarme P (2008). Formation of volatile sulfur compounds and metabolism of methionine and other sulfur compounds in fermented food. Applied Microbiology and Biotechnology 77: 1191-1205.

Maldjian A, Pizzi F, Gliozzi T, Cerolini S, Penny P, Noble R (2005). Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. Theriogenology 63: 411-421.

Martín C, Lizaso J, Mallo JJ, Carrasco JA, Gimenez L, Gómez E, Rodríguez A, de Mercado E, Sanz E (2009). Diferenciación en la calidad del cerdo Ibérico de cebo. Tierras de Castilla y León 154: 94-98.

Medrano A, Watson PF, Holt WV (2002). Importance of cooling rate and animal variability for boar sperm cryopreservation: insights from the cryomicroscope. Reproduction 123: 315-322.

Miller RRJr, Cornett CL, Waterhouse KE, Farstad W (2005). Comparative aspects of sperm membrane fatty acid composition in silver (Vulpes vulpes) and blue (Alopex lagopus) foxes, and their relationship to cell cryopreservation. Cryobiology 51: 66-75.

Olsson J, Böerjesson T, Lundstedt T, Schnürer J (2000). Volatiles for mycological quality grading of barley grains: determinations using gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose. International Journal of Food Microbiology 59: 167-178.

Pérez M (2006). Interacción de los compuestos aromáticos del jamón con la matríz proteica. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Peris M, Escuder-Gilabert L (2009). A 21st century technique for food control: Electronic noses. Analytica Chimica Acta 638: 1-15.

Petrunkina AM, Gröpper B, Günzel-Apel AR, Töpfer-Petersen E (2004). Functional significance of the cell volume for detecting sperm membrane changes and predicting freezability in dog semen. Reproduction 128: 829-842.

Piehl L, Cisale H, Torres N, Capani F, Sterin-Speziale N, Hager A (2006). Biochemical characterization and membrane fluidity of membranous vesicles isolated from boar seminal plasma. Animal Reproduction Science 92: 401-410.

Radovic BS, Careri M, Mangia A, Musci M, Gerboles M, Anklam E (2001). Contribution of dynamic headspace GC-MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. Food Chemistry 72: 511-520.

Roca J, Hernández M, Carvajal G, Vazquez JM, Martinez EA (2006). Factors influencing boar sperm cryosurvival. Journal of Animal Science 84: 2692-2699.

Rodríguez-Bencomo JJ, Ortega-Heras M, Pérez-Margariño S, Gonzáñez-Huerta C (2009). Volatile compounds of red wines macerated with Spanish, American, and French oak chips. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57: 6383-6391.

Ruiz J, Ventanas J, Cava R, Andrés A, García C (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. Meat Science 52: 19-27.

Singh M, Ghosh SK, Prasad JK, Kumar A, Tripathi RP, Bhure SK, Srivastava N (2014). Seminal PDC-109 protein vis-à-vis cholesterol content and freezability of buffalo spermatozoa. Animal Reproduction Science 144: 22-29.

Thilmant P (1997). Congélation du sperme de verrant en paillette de 0,5 mL. Résultats sur le terrain. Annales de Médecine Vétérinaire 141: 457-462.

Thurston LM, Watson PF, Holt WV (1999). Sources of variation in boar spermatozoa fertility following cryopreservation. Journal of Reproduction and Fertility 117: 271-280.

Thurston LM, Watson PF, Mileham AJ, Holt WV (2001). Morphologically distinct sperm subpopulations defined by Fourier shape descriptors in fresh ejaculate correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. Journal of Andrology 22: 382-394.

Thurston LM, Siggins K, Mileham AJ, Watson PF, Holt WV (2002). Identification of amplified restriction fragment length polymorphism markers linked to genes controlling boar sperm viability following cryopreservation. Biology of Reproduction 66: 545-554.

Vera L, Mestres M, Boqué R, Busto O, Guasch J (2010). Use of synthetic wine for models transfer in wine analysis by HS-MS e-nose. Sensors and Actuators, B: Chemical 143: 689-695.

Waterhouse KE, Hofmo PO, Tverdal A, Miller RRJr. (2006). Within and between breed differences in freezing tolerance and plasma membrane fatty acid composition of boar sperm. Reproduction 131: 887-894

Watson PF (1995). Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. Reproduction Fertility and Development 7: 871-891.

Vishwanath R (2003). Artificial insemination: the state of the art. Theriogenology 59: 571-584.

Westendorf P, Richter L, Treu H (1975). Zur Tiefgefrierung von Ebersperma. Labor- und Besamungsergebnisse mit dem Hülsenberger Pailletten-Verfahren. Deutsche Tierarztliche Wochenschrift 82: 261-267.

(Aceptado para publicación el 10 de julio de 2014)

# Nota técnica

# Efecto de los implantes de melatonina y la presencia de compañeros sobre los rendimientos de los moruecos durante la monta

J.A. Abecia[1,*], I. Palacín[1] y A. Roche[2]

[1] Facultad de Veterinaria, Miguel Servet, 177, Zaragoza, España
[2] Oviaragón, Zaragoza, España

**Resumen**

Para evaluar el efecto de los implantes de melatonina sobre la capacidad de monta del morueco en primavera, tanto en cubriciones en grupo como individuales, a inicios de febrero 6 machos recibieron tres implantes (M), mientras que otros 6 permanecieron como control (C). A finales de marzo 60 ovejas sincronizadas en celo se dividieron en 3 apartados (n = 20), introduciéndose 4 machos en cada grupo (2M+2C). Durante 6 horas se realizó un test de monta, registrándose el número de montas y servicios y el intervalo entre servicios. Cuatro días más tarde, 60 ovejas sincronizadas se dividieron en 12 apartados (n = 5), introduciendo un macho en cada grupo para realizar un test individual. Los machos tratados presentaron una mayor actividad sexual que los control (C: 24,5 ± 3,0; M: 25,9 ± 2,3 montas+servicios; P < 0,05) y un menor intervalo entre servicios (C: 36,6 ± 6,6; M: 27,6 ± 2,1 min; P < 0,05). En grupo los machos fueron capaces de montar y servir más veces que de forma individual (Grupo: 27,8 ± 3,1; Individual: 22,6 ± 1,8; P < 0,05). En conclusión, el tratamiento de los moruecos con implantes de melatonina en primavera dio lugar a un aumento del número y la frecuencia de montas y servicios. Además, se observó una mayor actividad sexual cuando los machos se encontraban en grupo que en solitario, independientemente del tratamiento.

**Palabras clave:** Melatonina, morueco, actividad sexual.

**Abstract**
**Effect of melatonin implants and flock mates on mating performance of rams**

To evaluate the effect of melatonin implants on mounting capacity of the rams in spring, both in group and individually, 6 males received three implants on February (M), while another 6 males remained as control (C). In late March, 60 ewes were synchronized in estrus and divided into 3 groups (n = 20), introducing 4 males in each group (2M+2C). During six hours a sexual test was performed, recording the number of services and mounts, and the interval between services. Four days later, 60 ewes were divided into 12 groups (n = 5), introducing one male in each group to run single tests. Treated males showed a greater sexual activity than control ones (C: 24.5 ± 3.0; M: 25.9 ± 2.3 mounts+services; P < 0.05) and

* Autor para correspondencia: alf@unizar.es
http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.004

a shorter interval between services (C: 36.6 ± 6.6; M: 27.6 ± 2.1 min; P < 0.05). In group rams were able to mount and serve a greater number of times than individually (Group: 27.8 ± 3.1; Individual: 22.6 ± 1.8; P < 0.05). In conclusion, treatment of rams with melatonin implants in spring resulted in an increased number and frequency of mounting activity. Moreover, a higher sexual activity was observed when rams were in group.

**Key words:** Melatonin, ram, sexual activity.

## Introducción

Los implantes de melatonina como apoyo en las cubriciones en anestro estacional se utilizan principalmente en las ovejas, aunque sus efectos sobre la calidad seminal, la secreción de testosterona y LH o el tamaño testicular (Rosa y Bryant, 2003) los han hecho merecedores de su aplicación sobre los moruecos. La detección de los mejores machos puede aumentar la fertilidad de los rebaños, especialmente en ganaderías sometidas a ritmos reproductivos muy altos (Stellflug *et al*., 2006). Se han ido poniendo a punto diversos procedimientos para medir la capacidad reproductiva de los moruecos, especialmente a través de test de monta. Los test individuales fueron los primeros en proponerse (Perkins *et al*., 1992), registrando el número de eyaculaciones de un mismo macho durante 30 min en presencia de tres ovejas en celo. Sin embargo, estos test consumían una gran cantidad de tiempo y eran laboriosos, por lo que Stellflug *et al*. (2008) propusieron una alternativa rápida y fiable, que consistía en test con varios machos juntos (cohortes), midiendo los mismos parámetros que en los test individuales.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de los implantes de melatonina sobre la capacidad de monta del morueco en primavera, y sus posibles diferencias en montas en grupo o individuales.

## Material y métodos

La experiencia se desarrolló en una explotación de raza Rasa Aragonesa (Alfamén, Zaragoza, 41°N). El 3 de febrero, 6 machos recibieron tres implantes de melatonina (M) (Melovine, CEVA Salud Animal, Barcelona, España), mientras que otros 6 machos permanecieron como grupo control (C). A finales de marzo, se sincronizaron en celo 120 ovejas (esponjas vaginales+480 UI eCG; Sincropart, CEVA Salud Animal, Barcelona, España). Cuarenta y ocho h tras la retirada de las esponjas, la mitad de las ovejas de dividieron en 3 apartados (6 x 6 m) (n = 20), introduciéndose 4 machos en cada uno (2M + 2C). Durante 6 horas (9:00 am-15:00 pm) se realizó un test de monta en grupo. Se registraron el número de interacciones de los machos con las ovejas con ("servicio") o sin eyaculación ("monta"), tomándose la hora de cada evento y calculándose posteriormente el intervalo de tiempo (min) entre dos servicios consecutivos. "Monta" es definida como la colocación del morueco sobre la hembra a horcajadas, contactando el pecho del morueco con la grupa de la oveja y "servicio" como una monta acompañada de penetración y eyaculación, caracterizada por un empujón de la pelvis (golpe de riñón), dirigiendo la cabeza hacia atrás, seguida por un breve periodo durante el cual el macho no muestra interés por la oveja (Kilgour y Whale, 1980).

El 12 de abril, el resto de las ovejas se dividieron en 12 apartados (4 x 4 m) (n = 5), introduciendo un macho en cada grupo (test individual). La duración del test y los registros

fueron similares al anterior y fueron llevados a cabo por tres observadores.

Se realizó un anova (GLM), con efectos fijos el tratamiento (melatonina o control), el test (grupal o individual), y su interacción. Dado que la interacción no fue significativa, se realizó un anova para comparar el efecto de los factores individualmente. Además para ver la evolución de los parámetros estudiados durante las horas de control se realizó un anova con medidas repetidas, con efectos fijos el tratamiento (melatonina o control), el test (grupal o individual), y la hora de control, y sus interacciones. Los datos se presentan como media ± error estándar de la media (EEM). Se ha utilizado SPSS 19.0.

**Resultados**

En conjunto, se ha encontrado un efecto significativo del tratamiento con melatonina ($P < 0,05$) sobre el número de montas y servicios y sobre el intervalo medio entre servicios. Los machos tratados presentaron una mayor actividad sexual que los control (C: 24,5 ± 3,0; M: 25,9 ± 2,3 montas+servicios; $P < 0,05$) y un menor intervalo medio de tiempo entre servicios (C: 36,6 ± 6,6; M: 27,6 ± 2,1 min; $P < 0,05$). Este menor intervalo fue especialmente evidente en grupo ($P < 0,01$) (Tabla 1).

Cuando los machos se encontraban acompañados por otros moruecos, fueron capaces de montar y servir un número significativamente mayor de veces que en solitario (Grupo: 27,8 ± 3,1; Individual: 22,6 ± 1,8; $P < 0,05$). Esta diferencia fue significativa al comparar dentro del grupo C ($P < 0,01$), pero no en el M (Tabla 1).

Tabla 1. Montas y servicios, e intervalo entre dos servicios consecutivos, de moruecos tratados (M) o no (C) con melatonina 60 días antes de la realización de test de monta en grupo o individuales (media ± EEM[1])

*Table 1. Mounts and services and interval between two consecutive services (min) of rams treated (M) or not (C) with melatonin, 60 days before the serving capacity test, in group or individually (mean ± SEM)*

| | Grupo | | Individual | | Trat[2] | Test |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | C | M | C | M | | |
| Montas | 12,5 ± 2,5 | 9,5 ± 2,7 | 6,3 ± 1,2 | 10,3 ± 2,0 | ns | ns |
| Servicios | 16,3 ± 3,6[a] | 17,3 ± 1,4[a] | 13,8 ± 1,7[b] | 14,7 ± 1,4[b] | * | ** |
| Montas + Servicios | 28,8 ± 5,3[a] | 26,8 ± 3,8 | 20,2 ± 1,9[b] | 25,0 ± 2,8 | * | * |
| Intervalo (min) | 39,9 ± 12,3[c] | 24,5 ± 1,8[d] | 33,3 ± 6,0 | 30,6 ± 3,5 | * | ns |

[1] Error estándar de la media; [2] Tratamiento.

Para cada parámetro: a, b: $P < 0,05$ entre test; c, d: $P < 0,01$ entre tratamientos.

La evolución del número de servicios y el intervalo entre dos consecutivos a lo largo de las 6 h de los test se muestran en la Figura 1. Se observó un claro descenso del número de servicios por h con el paso del tiempo, y un aumento del intervalo entre servicios; los valores medios alcanzados durante la primera hora fueron significativamente superiores al resto de las horas ($P < 0,05$). Durante las horas 2, 3 y 6, los machos en grupo mostraron una mayor número de servicios que en solitario ($P <$

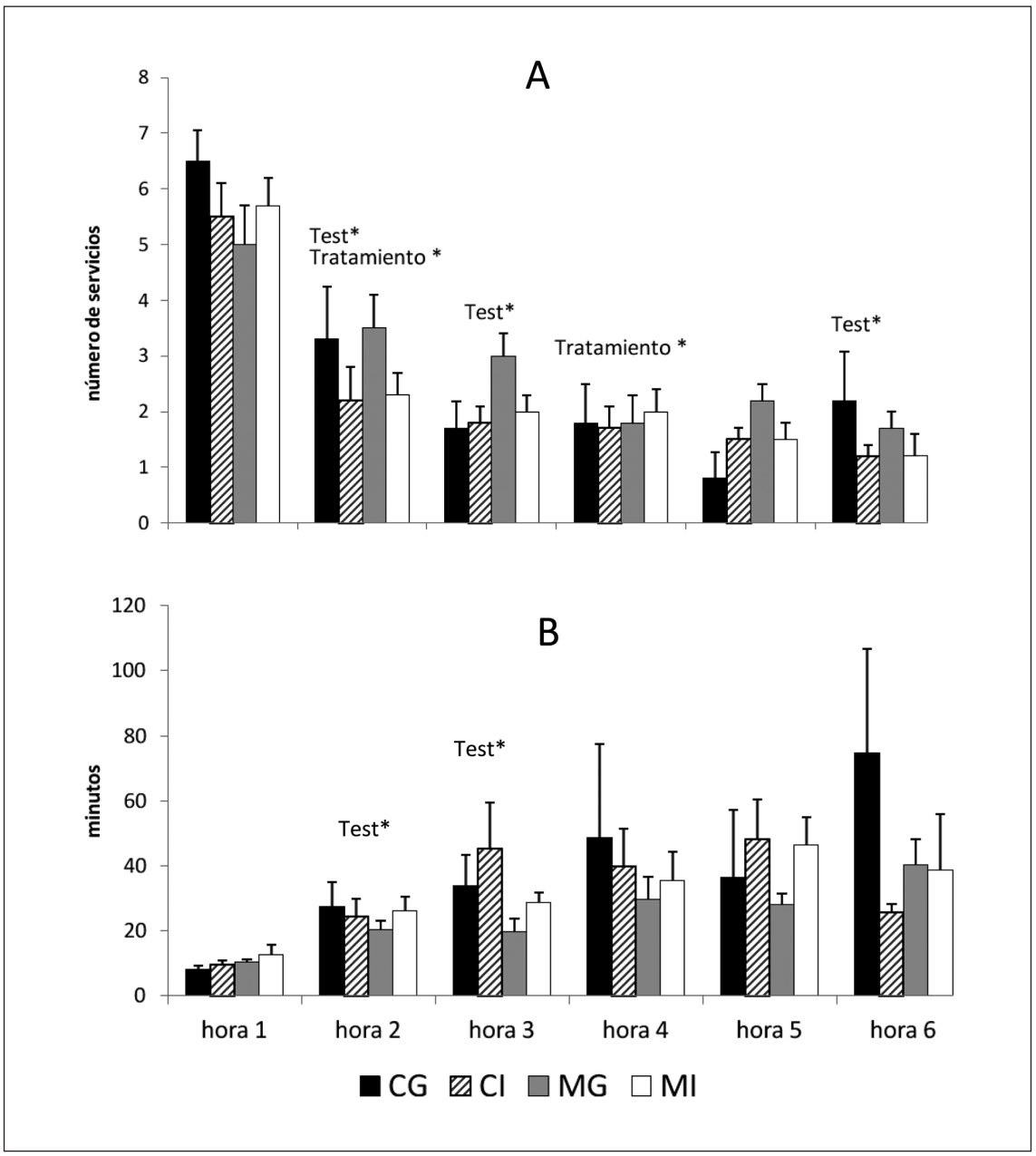



Figura 1. Número de servicios (A) e intervalo entre dos consecutivos (min) (B), de moruecos tratados (M) o no (C) con melatonina 60 días antes de la realización de test de monta en grupo (G) o individuales (I) (* P < 0,05).

Las barras verticales representan el error estándar.

*Figure 1. Number of serves (A) and interval between services (min) (B) of rams treated (M) or not (C) with melatonin, 60 days before the serving capacity test, in group (G) or individually (I).*

0,05). El tratamiento con melatonina tuvo un efecto significativo ($P < 0,05$) sobre este parámetro, de modo que los machos M sirvieron más ovejas que los C en las horas 2 y 4.

## Discusión

El tratamiento de moruecos con melatonina exógena en primavera ha demostrado ser eficaz al aumentar la actividad sexual de los machos, coincidiendo con Rosa y Bryant (2003). La mayor frecuencia de montas y saltos en grupo es similar a la frecuencia de aproximaciones laterales, los intentos de monta y las montas con eyaculación observadas por Lacuesta y Ungerfeld (2012), que fueron significativamente superiores cuando los machos se mantuvieron en parejas que en solitario, concluyendo que el agrupamiento de los machos modifica su estrategia sexual, dando lugar a un aumento del número de saltos exitosos. Se ha demostrado que un macho que acaba de montar es capaz de estimular la monta de otro compañero de rebaño (Maina y Katz, 1997), sugiriendo que algún tipo de señal olfativa, asociada a la oveja o al propio hecho de la monta estimula el comportamiento del macho contiguo.

Las diferencias entre los test grupales o individuales se atenuaron en el grupo tratado con melatonina, lo que podría venir mediado por el efecto de la melatonina sobre la concentración de testosterona (Casao *et al*., 2010), aunque ésta se relaciona más con la capacidad de los machos por competir por las hembras, a través de su relación con el comportamiento que determina la jerarquía social (Martin *et al*., 2013), que por su efecto sobre la competitividad del morueco por la oveja (Preston *et al*., 2012).

En conclusión, el tratamiento de los moruecos con implantes de melatonina en primavera dio lugar a un aumento del número y la frecuencia de montas y servicios, observándose una mayor actividad sexual cuando los machos se encontraban en grupo que en solitario, independientemente del tratamiento.

## Agradecimientos

A la ganadería Hermanos Rosales por su colaboración.

## Bibliografía

Casao A, Cebrián I, Asumpção ME, Pérez-Pé R, Abecia JA, Forcada F, Cebrián-Pérez JA, Muiño-Blanco T (2010). Seasonal variations of melatonin in ram seminal plasma are correlated to those of testosterone and antioxidant enzymes. Reproductive Biology and Endocrinology, 8: 59-67.

Kilgour RJ, Whale RG (1980). The relation between mating activity of rams in pens and subsequent flock mating performance. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry 20: 5-8.

Lacuesta L, Ungerfeld R (2012). Sexual performance and stress response of previously unknown rams after grouping them in dyads. Animal Reproduction Science 134: 158-163.

Maina D, Katz LS (1997). Exposure to a recently mated male increases ram sexual performance. Applied Animal Behaviour Science 5: 69-74.

Martin AM, Presseault-Gauvin H, Festa-Bianchet M, Pelletier F (2013). Male mating competitiveness and age-dependent relationship between testosterone and social rank in bighorn sheep. Behavioral Ecology and Sociobiology 67: 919-928.

Perkins A, Fitzgerald JA, Price EO (1992). Sexual performance of rams in serving capacity tests predicts success in pen breeding. Journal of Animal Science 70: 2722-2725.

Preston BT, Stevenson IR, Lincoln GA, Monfort, SL, Pilkington JG, Wilson K (2012). Testes size, testosterone production and reproductive behaviour in a natural mammalian mating system. Journal of Animal Ecology 81: 296-305.

Rosa HJD, Bryant MJ (2003). Seasonality of reproduction in sheep. Small Ruminant Research 48: 155-171.

Stellflug JN, Cockett NE, Lewis GS (2006). The relationship between sexual behavior classifications of rams and lambs sired in a competitive breeding environment. Journal of Animal Science 84: 463-468.

Stellflug JN, Lewis GS, Moffet CA, Leeds TD (2008). Evaluation of three-ram cohort serving capacity tests as a substitute for individual. Journal of Animal Science 86: 2024-2031.

(Aceptado para publicación el 14 de julio de 2014)

# Aceptación de variedades tradicionales de tomate en mercados locales. Un estudio de valoración contingente

L. Martínez-Carrasco*, M. Brugarolas-Mollá, A. Martínez-Poveda, J.J. Ruiz-Martínez y S. García-Martínez

Universidad Miguel Hernández de Elche. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Ctra. Beniel, km. 3,2. 03312 Orihuela (Alicante)

**Resumen**

Una alternativa a la creciente globalización alimentaria son los cultivos de variedades agrícolas locales y su comercialización a través de canales cortos o mercados locales. Sin embargo, muchas de las variedades tradicionales autóctonas adolecen de diversos problemas de vulnerabilidad a enfermedades y menor productividad que las hacen menos atractivas para los agricultores. La mejora genética de estas variedades mediante retrocruzamiento y selección natural permite obtener variedades mejoradas que solucionan estos problemas productivos, aunque en último término han de ser aceptadas por los consumidores. En este trabajo se analiza la aceptación de los consumidores locales de dos variedades tradicionales de tomate mejoradas genéticamente mediante el análisis de la disposición a pagar por ellas y en comparación con sus homólogas sin mejorar. El método empleado ha sido la valoración contingente. Los resultados apuntan a la existencia de un segmento potencial de consumidores de estas variedades que pagarían por ellas como mínimo su precio de referencia. La disposición a pagar por ellas se incrementa significativamente cuando se enfatiza su origen y cuando se cultivan bajo criterios ecológicos, por lo que son dos estrategias a recomendar para su comercialización.

**Palabras clave:** Valoración contingente, disposición a pagar, alimentos locales, variedades tradicionales.

**Abstract**
**Acceptance of traditional tomato varieties in local markets. A contingent valuation study**

An alternative to the increasing food globalization is the growing of local varieties and its commercialization through short marketing channels or local markets. However, many of the traditional agricultural varieties suffer from various problems of vulnerability to illness and lower productivity that make them less attractive to farmers. The breeding of these varieties by backcrossing and natural selection allows for improved varieties that address these production problems, but finally they have to be accepted by consumers. In this work we analyze the consumer acceptance of two traditional tomato varieties genetically improved by analyzing the willingness to pay for them in comparison with their counterparts which are not genetically improved. We use the contingent valuation method to estimate the willingness to pay. The results indicate the existence of a potential consumer of these varieties who would pay for them at least its reference price. The willingness to pay for these varieties increases significantly when its origin is emphasized and when they are organically grown, so these are two strategies to be considered for marketing.

**Key words:** Contingent valuation, willingness to pay, local food, traditional varieties.

* Autor para correspondencia: lmartinez@umh.es
http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.005

## Introducción

Alimentar a la población y salvaguardar el planeta es uno de los retos a los que se enfrenta la generación actual. La actividad agrícola no solo produce alimentos, sino que permite mantener ecosistemas únicos, evitar el despoblamiento de las zonas rurales y constituye el sustento económico de muchas familias rurales en todo el mundo. Pero no toda la actividad agrícola es igualmente sostenible. Muchas de las críticas actuales se enfocan hacia los modelos productivistas y globalizados que cultivan la tierra de forma intensiva, poniendo en peligro la biodiversidad y sin solucionar el problema del hambre.

Estas críticas hacia los modelos globalizados hacen que surjan redes o sistemas alternativos de alimentación en los que, entre otros aspectos, se promueven los canales de producción y comercialización cortos (Tregear, 2011). Entre estas alternativas, la comercialización de productos locales en mercados locales enfatizando su origen se perfila como una estrategia interesante para ayudar a los agricultores a mantener sus rentas y evitar el abandono de la actividad agraria (Brugarolas *et al.*, 2010).

La investigación sobre la influencia del origen en el comportamiento del consumidor de los alimentos no es algo nuevo. El concepto de etnocentrismo (Le Vine y Campbell, 1972) fue trasladado al campo del comportamiento del consumidor por Shimp y Sharma (1987), quienes se refieren al consumidor etnocentrista como aquel que rechaza la compra de productos extranjeros por considerar que dañan la economía doméstica y causan pérdida de empleos. En un sentido positivo, la investigación se ha centrado en el efecto del origen sobre la preferencia por productos de la misma procedencia que el consumidor (Verlegh y Steenkamp, 1999). Las primeras investigaciones se centran de una manera más amplia en el *país de origen* y su efecto sobre la evaluación de productos (Bilkey y Nes, 1982; Hong y Wyer, 1989). La aparición de los sistemas de certificación y protección del origen en la UE centra la investigación en la *región de origen* y el análisis de las preferencias de los consumidores hacia los *alimentos regionales* (Tregear *et al*., 1998; Van der Lans *et al.*, 2001; Van Ittersum *et al*., 2003).

Aunque en la misma línea, el concepto de *alimento local* es algo más reciente y está relacionado con el auge de los movimientos que defienden los canales cortos de comercialización de alimentos (McIntyre y Rondeau, 2011). Se trata de un concepto relativamente nuevo y sobre el que todavía existe mucha discusión. No en vano, parte de la investigación sobre alimentos locales se centra en averig el significado que para los consumidores de alimentos tiene este término (Belliveau, 2005, Roininen *et al*., 2006, Guerrero *et al.*, 2010).

Algunos trabajos aplicados se han centrado en analizar las actitudes de los consumidores hacia los alimentos locales en general (Weatherell *et al*., 2003, Chambers *et al.*, 2007, Pieniak *et al.*, 2009) o hacia algunos en particular como el caso del aceite de oliva en España (Brugarolas *et al.*, 2010) o las manzanas en Dinamarca (Denver y Jensen, 2014).

Las variedades tradicionales proporcionan un valor añadido adicional, ya que no sólo son producidas localmente, sino que fomentan la biodiversidad y recuperan sabores y tradiciones perdidos ante el auge de los cultivos comerciales. Precisamente la proliferación de cultivos procedentes de semillas híbridas y la pérdida de biodiversidad, es otra de las críticas frecuentes a la globalización alimentaria. Estos cultivos son preferidos por los agricultores al suponer un menor riesgo y ser más productivos que las variedades locales tradicionales. Sin embargo, los cultivos locales constituyen un recurso natural que ha ganado importancia en los últimos años por ser los cimientos para la producción de alimentos, y la base biológica para la seguridad

alimentaria, los medios de vida y el desarrollo económico (FAO, 2010). En este Segundo Informe de la FAO sobre el Estado de los recursos fitogenéticos en el mundo para la alimentación y la agricultura se insiste en la necesidad acuciante de conservar y utilizar la diversidad genética de los cultivos locales.

Pese a la gran cantidad de estudios que abordan aspectos productivos de las variedades tradicionales, hasta la fecha existen pocos estudios que analicen el punto de vista del consumidor (Dinis *et al.*, 2011; Martínez-Carrasco *et al.*, 2012). En este trabajo se analiza la aceptación de los consumidores hacia variedades tradicionales de tomate que están siendo recuperadas mediante un programa de recuperación de variedades autóctonas.

## Las variedades tradicionales y sus posibilidades productivas y comerciales

En las últimas décadas los parámetros que han primado la selección de semillas para el cultivo de tomate han sido fundamentalmente los de resistencia, productividad y alargamiento de la vida comercial de los frutos, obteniéndose así variedades comerciales de diseño (Martínez-Carrasco *et al.*, 2012). Estas variedades han desplazado el cultivo de variedades tradicionales locales al ser menos rentables para los agricultores, poniendo en peligro su conservación y por ende, la biodiversidad de los ecosistemas agrarios.

En el caso concreto del producto que compete a este trabajo, el tomate tradicional, su baja resistencia a determinadas virosis ha hecho que su cultivo prácticamente haya desaparecido de determinadas zonas. Sin embargo, en los últimos años están surgiendo proyectos de investigación para recuperar el cultivo de las variedades locales, muchos de ellos vinculados a programas de agroecología. Concretamente, en el caso del tomate y en la zona a estudio, se está llevando a cabo la recuperación del cultivo de dos variedades autóctonas denominadas Muchamiel y De la Pera, con unas propiedades organolépticas muy apreciadas por los consumidores de la zona. El programa de mejora genética[1] consiste en la introducción de genes de resistencia a las principales virosis mediante selección natural (García-Martínez *et al.*, 2008). Como consecuencia de ello, se han obtenido variedades tradicionales mejoradas genéticamente que, en principio no deberían diferir organolépticamente de las variedades sin mejorar, y que podrían sustituir a las que actualmente se comercializan siempre y cuando sean aceptadas por el consumidor.

En cuanto a sus posibilidades comerciales, dos estrategias diferenciadoras muy vinculadas con el carácter tradicional son el origen y el cultivo ecológico. Por un lado, las variedades tradicionales están muy ligadas al origen y al territorio. De ahí que su conocimiento por parte de los consumidores se limite en muchos casos a las zonas productoras y que se comercialicen en mercados locales. Por otro lado, la recuperación de su cultivo está muy vinculada a nuevos valores como los ecológicos. Son precisamente los productores más comprometidos con el medioambiente los que están reintroduciendo el cultivo de estas variedades. Precisamente por ello en este trabajo se analiza la influencia que tendría la diferenciación mediante estos dos factores, origen y ecológico, en la estrategia comercial de los tomates.

1. En este sentido, es importante distinguir entre la mejora genética mediante selección natural tal y como se ha venido realizando tradicionalmente en la agricultura y la mejora genética por transgénesis, mas actual, que da lugar a los alimentos u organismos modificados genéticamente y que no es objeto de este proyecto.

En efecto, se trata de dos tendencias de consumo que para los productores pueden suponer un valor añadido, dada la existencia de un segmento de consumidores que prefieren consumir productos locales (Brugarolas *et al*., 2010) o que están dispuestos a pagar más por productos ecológicos (Wier y Calverley, 2002).

## Objetivos e hipótesis

El objetivo fundamental de este trabajo es analizar la aceptación de los consumidores locales de dos variedades tradicionales de tomate mejoradas genéticamente mediante el análisis de la disposición a pagar por ellas.

Como objetivos específicos, podemos citar los siguientes:

- Analizar la disposición a pagar por los tomates de variedad Muchamiel y De la Pera mejorados genéticamente en comparación con sus homólogos no mejorados.
- Determinar si el atributo *origen* y el atributo *ecológico* producen cambios significativos en la disposición a pagar.
- Discutir las posibilidades de mercado de las variedades tradicionales de tomate mejoradas genéticamente en el mercado local.
- Definir el perfil del consumidor potencial del producto.

Respecto a las hipótesis de trabajo, se resumen en los siguientes puntos:

H1: Los consumidores no aprecian diferencias organolépticas entre las variedades que se comercializan actualmente y las variedades mejoradas genéticamente, por lo que no existen diferencias en la disposición a pagar entre ambas.

H2: Existe un segmento de consumidores dispuestos a pagar por las variedades mejoradas el precio de referencia de sus homólogos sin mejorar.

H3: Los consumidores valoran el origen local de los tomates, por lo que la disposición a pagar (DAP) media se incrementa de forma significativa al revelar el origen local de los tomates.

H4: Los consumidores valoran el cultivo ecológico de los tomates por lo que la DAP media se incrementa de forma significativa al revelar el cultivo ecológico de los tomates.

## Materiales y métodos

### La Valoración Contingente (VC)

Una de las formas de medir la aceptación de un producto es mediante la determinación de la disposición a pagar por él. Entre los diferentes métodos existentes para medir la disposición a pagar en este trabajo se ha utilizado el método hipotético de la valoración contingente que, utilizando como recurso una encuesta, intenta crear un mercado hipotético para un bien o servicio construyendo un escenario en el que los entrevistados indican la cantidad de dinero que pagarían por adquirir el bien o servicio descrito en la encuesta (Mitchell y Carson, 1989). Aunque el método de valoración contingente se ha utilizado tradicionalmente para la determinación del valor de bienes que no tienen mercado, como los bienes ambientales, su utilización se ha extendido a muy diversas aplicaciones, desde el transporte y el turismo, al ámbito sanitario o el contexto agroalimentario. Las primeras aplicaciones de la VC en el ámbito agroalimentario surgen en el contexto de la seguridad alimentaria, como por ejemplo para estimar la DAP por un producto libre de residuos (Misra *et al*., 1991; Buzby *et al.,* 1995; Buzby *et al.*, 1998). Más recientemente, y ante la polémica surgida ante los organismos genéticamente modificado, son diversos los estudios que han empleado la VC para estudiar las actitudes hacia alimentos potenciales derivados de estos organismos (Li *et al.*, 2002, McClus-

key *et al.*, 2003; Loureiro y Hine, 2004). También es posible encontrar aplicaciones de la VC para analizar la disposición a pagar un sobreprecio por el valor añadido de un producto, como los ecológicos (Sánchez *et al.,* 2001, Loureiro y Hine, 2002, Brugarolas *et al.*, 2005; Batte *et al.*, 2007).

Pese a las controversias que rodean a esta metodología, la VC sigue siendo un método ampliamente utilizado para medir la DAP. En el contexto agroalimentario, podemos encontrar aplicaciones recientes del VC para analizar la disposición a pagar por alimentos que representan alguna novedad (Grunert *et al.*, 2009, Bett *et al.*, 2013, Lacaze, 2014, Nordström, 2012) o por nuevas formas de distribución, como la venta directa aplicada a la carne de ternera (Sanjuán *et al.,* 2012).

En el caso abordado en este trabajo, se ha utilizado la valoración contingente para analizar si el consumidor detecta diferencias entre dos productos similares (los tomates mejorados y los no mejorados), mediante la existencia o no de un sobreprecio. Como se comentó anteriormente, una de las hipótesis de partida es que no hay diferencias en la disposición a pagar, puesto que la mejora genética no debería introducir cambios organolépticos que produjesen el rechazo de las variedades mejoradas. Por tanto, se espera que los consumidores no detecten diferencias significativas entre ambos tipos de tomate y por tanto, que no haya diferencias en la disposición a pagar.

Para la pregunta de la valoración contingente, se eligió el formato mixto, que comienza con una pregunta discreta (binaria o de referéndum) seguida de una pregunta abierta o continua. Independientemente de que la respuesta sea afirmativa o negativa en la siguiente pregunta se pide cual sería la máxima disposición al pago por el bien (pregunta nº 2). La ventaja de esta fórmula reside en que es algo más sencilla para la persona entrevistada que el tradicional formato de subasta, si bien comparte la mayoría de inconvenientes de los precios de partida. Este precio condiciona a la persona entrevistada que acaba optando por un valor (influida por el que se indica en la pregunta) que no es el que verdaderamente cree (Herriges y Shogren, 1996). Este caso se da a veces por complacencia con el entrevistador. Para minimizar el sesgo, se dividió a la muestra en cuatro submuestras a cada una de las cuales se ofreció un precio de partida diferente. Estos precios de partida resultaron de aplicar un porcentaje (+10%, +25%, +50%, +100%) sobre el precio de referencia, es decir, sobre el precio de la variedad sin mejorar (Tabla 1).

Tabla 1. Precios de partida aplicados a cada submuestras y tamaño de la submuestra
*Table 1. Starting prices for each subsample and subsample size*

| | | Muchamiel (2,80 €/kg)* | | De la Pera (3,00 €/kg)* | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Sobreprecio (%) | Precio de partida | Tamaño submuestra | Precio de partida | Tamaño submuestra |
| Submuestra 1 | +10% | 3,10 €/kg | 26,9% | 3,30 €/kg | 22,2% |
| Submuestra 2 | +25% | 3,50 €/kg | 25% | 3,75 €/kg | 25,9% |
| Submuestra 3 | +50% | 4,20 €/kg | 25,9% | 4,50 €/kg | 25% |
| Submuestra 4 | +100% | 5,60 €/kg | 22,2% | 6,00 €/kg | 26,2% |

* Precio de referencia para aplicar los incrementos de sobreprecio.

Selección de la muestra

La población objeto de estudio han sido los "compradores habituales de tomate de ensalada mayores de edad residentes en la provincia de Alicante".

Dadas las limitaciones presupuestarias, la selección de la muestra fue por conveniencia, siguiendo el procedimiento de muestreo denominado de bola de nieve (Grande y Abascal, 2005). Aunque se trata de un tipo de muestreo no probabilístico, su uso se justifica en el caso de estudios exploratorios como el presente. En cualquier caso, los resultados hay que interpretarlos con cautela. Este tipo de muestreo se lleva a cabo en etapas (Bailey, 1994), en la que una primera muestra de participantes señala otros posibles sujetos con las características requeridas. De esta forma, y aunque se inició el muestreo entre miembros de la comunidad universitaria (estudiantes, personal de administración y servicios y personal docente), se les pidió que invitasen a familiares y amigos que cumpliesen el requisito de ser compradores habituales de tomate y residentes en la provincia de Alicante. Con ello, y aún sin poder generalizar los resultados al conjunto de la población, se trataba de lograr una mayor representatividad muestral. Se establecieron cuatro estratos por edad (de 18 a 29, de 30 a 44, de 45 a 64 y mayor de 65), de forma que la muestra representara la distribución por edades de la población alicantina. A los encuestados se les gratificaba con 10 euros por su participación. Teniendo en cuenta las limitaciones presupuestarias, el tamaño de la muestra fue de 100 participantes.

En la tabla 2 se puede observar el perfil sociodemográfico de los participantes.

Desarrollo de una sesión

La recogida de información se realizó mediante una encuesta guiada en grupo y con presencia de producto real. Las encuestas definitivas se llevaron a cabo en el mes de julio de 2010. Se realizaron un total de 12 sesiones de grupo con un número de participantes comprendido entre 8 y 12 y la duración fue entre 30 y 45 minutos.

Al llegar a la sala, los participantes encontraban expuestas dos muestras de tomates de una de las variedades (Muchamiel o Pera). Estas dos muestras se correspondían con la variante mejorada y la no mejorada y estaban codificadas con letras aleatorias (F: Muchamiel sin mejorar, Y: Muchamiel mejorado) o (K: Pera sin mejorar, B: Pera mejorado). Como única información disponible se proporcionaba un precio de referencia para la variedad sin mejorar. Estos precios fueron para el caso del tomate Muchamiel 2,80 €/kg y para el De la Pera 3 €/Kg, precios obtenidos mediante observaciones comerciales en lugares habituales de compra. No se mencionaba el nombre de las variedades ni su carácter tradicional, aunque sí se realizó una pregunta al comenzar la sesión para averiguar si los consumidores eran capaces de identificar las variedades. Los participantes desconocen las diferencias entre ambos tipos de tomate y no se menciona en ningún momento su carácter mejorado/no mejorado. Con respecto al origen de las variedades, sólo fue revelado cuando se planteó la segunda pregunta de valoración contingente. Los encuestados tenían un tiempo para manipular y catar ambas variedades, antes de responder a la primera pregunta de valoración contingente ("¿Está dispuesto a pagar…?") (Tabla 3). Independientemente de la respuesta, en la siguiente pregunta se pide cual sería la máxima disposición al pago por el tomate (pregunta nº 2). A continuación, se plantearon dos preguntas abiertas en las que se volvía a preguntar la disposición a pagar por el producto indicando en primer lugar que el tomate es de origen local (pregunta nº 3) y a continuación que es de producción ecológica (pregunta nº 4). Una vez respondidas estas cuatro preguntas por la

Tabla 2. Características sociodemográficas de la muestra
*Table 2. Sample sociodemograhphic profile*

| Variable | Categoría | % |
|---|---|---|
| Sexo | Mujer | 65,4 |
| | Hombre | 34,6 |
| Edad | De 18 a 24 años | 13,9 |
| | De 25 a 34 años | 19,4 |
| | De 35 a 49 años | 37,0 |
| | De 50 a 64 años | 21,3 |
| | Mayor de 64 años | 8,3 |
| Actividad | Ama de casa | 11,1 |
| | Trabaja por cuenta ajena | 40,7 |
| | Estudiante | 15,7 |
| | Autónomo | 1,9 |
| | Jubilado | 6,5 |
| | Parado | 4,6 |
| | Empresario | 2,8 |
| | Otros | 16,7 |
| Ingresos | < 1.000 € | 15,8 |
| | 1.001 a 2.000 € | 39,6 |
| | 2.000 a 3.000 € | 22,8 |
| | 3.000 a 4.000 € | 6,8 |
| | > 4.000 € | 5,0 |
| Nivel estudios | Primarios | 20,8 |
| | FP/Bachiller | 26,4 |
| | Universitarios | 52,8 |

primera de las variedades, se hacía una breve pausa, en la que se retiraban las primeras muestras y se sacaban las dos muestras correspondientes a la segunda de las variedades. Con esta pausa se conseguía también paliar en parte el cansancio o desinterés (Ruiz, 2012) que pudieran experimentar los encuestados ante las sucesivas preguntas sobre la DAP. El orden de presentación de las variedades se fue alternando entre sesiones.

Para terminar se recogió información sobre los hábitos de compra de tomate y datos sociodemográficos de las personas entrevistadas.

En la Tabla 3 se presenta un resumen del procedimiento.

Tabla 3. Resumen del procedimiento de valoración contingente
*Table 3. Summary of the contingent valuation procedure*

| | Tomate F (REF: 2,80 €/kg) | Tomate K (REF: 3 €/kg) |
|---|---|---|
| 1ª Pregunta | ¿Está dispuesto a pagar REF + 10% (+ 25%, + 50%, + 100%) por el tomate Y? | ¿Está dispuesto a pagar REF + 10% (+ 25%, + 50%, + 100% por el tomate B? |
| 2ª Pregunta | Máxima DAP por el tomate Y | Máxima DAP por el tomate B |
| 3ª Pregunta | Máxima DAP por el tomate Y sabiendo que es de origen local | Máxima DAP por el tomate B sabiendo que es de origen local |
| 4ª Pregunta | Máxima DAP el tomate Y sabiendo que es de cultivo ecológico | Máxima DAP por el tomate B sabiendo que es de cultivo ecológico |

REF: referencia; DAP: disposición a pagar.

## Resultados

Respuestas de los participantes según si están o no dispuestos a pagar el precio de partida

Los resultados sobre la primera pregunta de valoración contingente se muestran en la Tabla 4.

Para analizar la existencia del sesgo del precio de partida, y puesto que tanto el sobreprecio como la respuesta a la pregunta dicotómica de la DAP pueden considerarse variables cualitativas, se recurrió a una tabla de contingencia y al estadístico Chi-cuadrado.

En el caso del tomate Muchamiel mejorado, resultó no significativo por lo que las respuestas a la primera pregunta sobre la disposición a pagar no están influidas por dicho sobreprecio. En el caso del tomate De la Pera mejorado la significación asintótica del Chi-cuadrado de Pearson bilateral es 0,022, por lo que no se puede descartar la existencia del sesgo del precio de partida, así que nos centraremos sólo en los resultados de la variedad Muchamiel.

Nuestra primera hipótesis plantea la inexistencia de un sobreprecio por la variedad me-

Tabla 4. Porcentaje de participantes dispuestos a pagar el sobreprecio preguntado por un kilo de tomate Muchamiel y De la Pera mejorados
*Table 4. Percentage of participants willing to pay the premium price for one kilogram of tomato Muchamiel and De la Pera*

| | Muchamiel | | De la Pera | |
|---|---|---|---|---|
| % de Sobreprecio | Sí | No | Sí | No |
| 10% | 20,7% | 79,3% | 33,3% | 66,7% |
| 25% | 25,9% | 74,1% | 14,3% | 85,7% |
| 50% | 11,1% | 88,9% | 3,7% | 96,3% |
| 100% | 8,3% | 91,7% | 10,3% | 89,7% |

jorada, puesto que si los productores optan por cultivar las nuevas variedades, los consumidores no deben percibir diferencias con respecto a su homólogo sin mejorar, es decir, la mejora genética por selección natural no debería introducir diferencias organolépticas que supusieran el rechazo por parte de los consumidores de las variedades mejoradas. Los resultados parecen indicar lo contrario, al menos en la variedad Muchamiel en la que no existe el sesgo del precio de partida. Es decir, sí hay una disposición previa a pagar un sobreprecio por la variedad mejorada. Este resultado puede deberse a la propia metodología empleada, es decir, al tratarse de un método hipotético en el que no se requiere un compromiso económico por parte de los participantes, se sobrevalora la disposición a pagar (Neill *et al.*, 1994). No obstante, seguiremos indagando en esta hipótesis explorando los siguientes resultados.

### Disposición a pagar por los tomates mejorados. Variaciones al revelar el origen local y el cultivo ecológico

La segunda pregunta de la valoración contingente, es una pregunta abierta en la que se pidió a los participantes que indicasen lo máximo que estarían dispuestos a pagar por un kilo de tomate mejorado de cada variedad. La tercera y cuarta pregunta son similares solo que añadiendo las utilidades "origen alicantino" y "ecológico" respectivamente. Para analizar estas preguntas también se ha analizado en primer lugar la posible incidencia del sesgo del precio de partida.

Puesto que en este caso las preguntas sobre la DAP son variables numéricas, se utilizaron pruebas paramétricas de comparación de medias (ANOVA) para los datos con distribución normal y pruebas no paramétricas para muestras independientes (prueba de Kruskal-Wallis) para los datos cuya distribución no es normal. Ninguna de las pruebas ha resultado significativa para el tomate Muchamiel. Sin embargo, en el tomate De la Pera, se detectaron diferencias significativas en la tercera de las preguntas en función del sobreprecio preguntado, por lo que podría haber sesgo del precio de partida. A través de una Prueba post-hoc o contraste lineal de medias se trató de averiguar el origen de esas diferencias, no resultando significativa ninguna de estas pruebas, por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias. Todo esto indica que los sobreprecios preguntados no influyeron necesariamente en los posteriores valores de precios dados por los encuestados como máxima disposición a pagar por las variedades de tomate mejorado genéticamente.

Descartado el sesgo del precio de partida en estas preguntas, es posible considerar las respuestas conjuntas de los encuestados. La Tabla 5 muestra los estadísticos básicos de los precios ofrecidos por los participantes para ambos tomates y para cada una de las preguntas.

Para el tomate Muchamiel, el precio medio que estarían dispuestos a pagar el conjunto de los participantes es de 2,62 €/kg, un 6,4% inferior al precio base (2,80 €/kg) Este precio medio aumenta hasta 2,72 €/kg cuando se añade la utilidad "origen alicantino" y hasta 3,21 €/kg cuando se añade la utilidad "ecológico". Mediante una prueba T para muestras relacionadas se encontró que estas variaciones en las medias son significativas, es decir, la DAP media aumentó de forma significativa al revelar el origen local, y aumentó nuevamente de forma significativa el revelar la producción ecológica.

El tomate De la Pera mejorado alcanzó una media de 2,55 €/kg en la primera pregunta. Este precio es inferior al precio base en un 15%. La DAP media cuando se reveló el origen alicantino del tomate fue de 2,67 €/kg y para el "ecológico" de 3,09 €/kg. También en este caso una prueba T para muestras relacionadas

Tabla 5. Estadísticos de los precios ofrecidos por los encuestados en las tres preguntas sobre la máxima disposición a pagar (DAP) por los tomates mejorados
*Table 5. Statistical of prices offered by respondents in the three questions on the maximum willingness to pay for improved tomatoes*

| | | Med | Desv.típ. | Mín. | Máx. |
|---|---|---|---|---|---|
| DAP 1 | Muchamiel | 2,62 | 0,99 | 0,75 | 6,00 |
| | De la Pera | 2,55 | 1,01 | 0,80 | 6,00 |
| DAP 2 (origen) | Muchamiel | 2,72 | 0,99 | 0,75 | 6,00 |
| | De la Pera | 2,67 | 1,06 | 0,80 | 6,00 |
| DAP 3 (ecológico) | Muchamiel | 3,21 | 1,09 | 1,20 | 7,00 |
| | De la Pera | 3,09 | 1,15 | 0,90 | 6,00 |

reveló que los incrementos en la DAP fueron significativos en ambas preguntas.

Ello parece confirmar la tercera y cuarta de las hipótesis de nuestra investigación, es decir, que los consumidores valoran tanto el origen local como el cultivo ecológico de los tomates.

A continuación, y con el fin de aproximarnos al perfil del consumidor potencial, se ha calculado la frecuencia de los individuos que están dispuestos a pagar menos, lo mismo o más del precio base, por el tomate mejorado.

Para el tomate Muchamiel el 58,5% pagaría menos de 2,80 €/kg frente al 1,9% que pagaría igual y el 39,6% que estaría dispuesto a pagar un precio mayor. En el caso del tomate De la Pera, el porcentaje de individuos dispuestos a pagar menos del precio de referencia (3 €/kg) es de un 63,0%, los que están dispuestos a pagar lo mismo suponen un 14,8% y los que están dispuestos a pagar más, representan un 22,2%. Sorprende que en este último caso haya un porcentaje apreciable de individuos dispuestos a pagar lo mismo. En cualquier caso, para ambos tomates, el tamaño del segmento de los que están dispuestos a pagar lo mismo o más que el precio de referencia es muy similar (39% para el Muchamiel y 37% para el tomate De la Pera).

La Tabla 6 muestra la DAP media de los encuestados según si pertenecen al segmento de los que están dispuestos a pagar al menos el precio de referencia o al resto de los individuos. De los que están dispuestos a pagar un precio igual o mayor en el caso del tomate Muchamiel el sobreprecio alcanzado es de un 22%. Mediante una prueba T para muestras relacionadas se ha detectado que este sobreprecio se incrementa de forma significativa hasta un 23% cuando se añade el atributo alicantino y hasta un 32% cuando se añade el atributo ecológico. En el caso del tomate De la Pera, estos sobreprecios son del 16%, 19% y 27% respectivamente y también se ha comprobado mediante una prueba T para muestras relacionadas que el incremento en la DAP conforme se suceden las fases es significativo.

Para los que están dispuestos a pagar menos también se observan estos incrementos significativos de la DAP cuando se añaden los atributos origen y ecológico. Nótese sin embargo, que, para estos individuos, ni siquiera en la tercera de las preguntas (origen ecológico) se alcanza el precio de referencia.

Tabla 6. Disposición a pagar (DAP) media por segmentos según si están o no dispuestos a pagar el precio de referencia
*Table 6. Average willingness to pay by segments according whether they are willing or not willing to pay the reference price*

| | Muchamiel | | De la Pera | |
|---|---|---|---|---|
| | Menos | Igual o Más | Menos | Igual o Más |
| DAP1 | 1,93 | 3,58 | 1,95 | 3,58 |
| DAP2 | 2,05 | 3,66 | 2,07 | 3,70 |
| DAP3 | 2,58 | 4,09 | 2,51 | 4,09 |

La cuestión es si se trata de respuestas protesta porque su máxima disposición al pago por el producto en estudio (tomate) está por debajo del precio de referencia o si realmente no valoran el tomate mejorado. Para ello se ha relacionado la máxima disposición al pago con el precio pagado por un kilo de tomate en la última compra (cuestión que se realizó al finalizar la sesión). A través de tablas de contingencia se detectó la existencia de diferencias significativas (Chi cuadrado de Pearson con nivel de significación < 0,05) en la disposición a pagar por ambos tipos de tomate en función del precio pagado en la última compra de tomate.

En el tomate Muchamiel, de los que pagarían menos del precio de referencia, el 82,6% pagó menos de ese precio en su última compra de tomate (Tabla 7). También se puede destacar de estos resultados que un 57,1% de los individuos dispuestos a pagar por nuestro tomate al menos su precio de referencia, habían pagado menos en la última compra de tomate, resultado por tanto favorable al tomate mejorado.

En el tomate De la Pera (Tabla 8), el análisis efectuado mediante tabla de contingencia no ha resultado significativo.

Tabla 7. Tabla de contingencia que relaciona la disposición a pagar (DAP) máxima por tomate Muchamiel con el precio pagado en la última compra de tomate
*Table 7. Crosstable relating the maximum WTP for tomato Muchamiel with the price paid in the last purchase tomato*

| | | DAP máxima Muchamiel | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Menos de 2,80 €/kg | Igual o más de 2,80 €/kg | Total |
| Precio última compra | Menos de 2,80 €/kg | 82,6% | 57,1% | 74,6% |
| | Igual o Más de 2,80 €/kg | 17,4% | 42,9% | 25,4% |

Chi- cuadrado de Pearson = 3,880, Sig. unilateral = 0,051.

Tabla 8. Tabla de contingencia que relaciona la disposición a pagar (DAP) máxima por tomate De la Pera con el precio pagado en la última compra de tomate
*Table 8. Crosstable relating the maximum willingness to pay for tomato De la Pera with the price paid in the last tomato purchase*

| | | DAP máxima Muchamiel | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Menos de 3 €/kg | Igual o más de 3 €/kg | Total |
| Precio última compra | Menos de 3 €/kg | 87,2% | 80,0% | 85,1% |
| | Igual o más de 3 €/kg | 12,8% | 20,0% | 14,9% |

Chi cuadrado de Pearson = 0,578, Sig. unilateral = 0,339.

En resumen, por un lado, parece existir un sobreprecio para las variedades mejoradas (lo que descarta hipótesis 1), por otro lado, parece existir un segmento dispuesto a pagar el precio de referencia por las variedades mejoradas (confirma hipótesis 2). Por último, los atributos origen y ecológico incrementan significativamente la DAP en el conjunto de los individuos encuestados (confirma hipótesis 3 y 4).

### Perfil del consumidor potencial

Para obtener el perfil de los participantes dispuestos a pagar más se relacionó la disposición a pagar con diversas variables sociodemográficas preguntadas en la encuesta (sexo, edad, nivel de estudios, nivel de ingresos y actividad laboral) mediante tablas de contingencia.

En el caso de la variedad Muchamiel (Tabla 9), resultan significativas tanto la variable Ingresos (chi-cuadrado 13,526, significación 0,009) como la variable Nivel de Estudios (chi-cuadrado 7,112, significación 0,029) para explicar las diferencias en la disposición a pagar. Así, entre los que pagarían más que el precio de referencia hay más individuos con ingresos superiores, especialmente con ingresos familiares mensuales superiores a 3000 €. También hay más individuos con estudios universitarios. Cuando se revela el origen local del producto, siguen siendo los participantes con rentas superiores a 3000 € quiénes están dispuestos a pagar más (chi-cuadrado 11,833, significación 0,019). Sin embargo, en este caso la variable Nivel de estudios no resulta significativa. Cuando se revela la producción ecológica, el Nivel de Ingresos sigue siendo significativo (chi-cuadrado 9,898, significación 0,042) y aparece una nueva variable significativa para explicar el perfil de los que pagan más. Se trata de la actividad laboral (chi-cuadrado 5,758, significación 0,568), existiendo un mayor porcentaje de estudiantes, amas de casa y empresarios dispuestos a pagar el precio de referencia, y un menor porcentaje de jubilados y trabajadores por cuenta ajena.

En el caso del tomate De la Pera, ninguna de las variables analizadas resulta significativa en ninguno de los casos.

## Discusión

En la búsqueda de alternativas más sostenibles para la producción de alimentos, el cultivo de variedades autóctonas y su comercialización en mercados locales pueden constituir una so-

Tabla 9. Tabla de contingencia que relaciona los segmentos obtenidos según la disposición a pagar (DAP) el precio de referencia por tomate Muchamiel y diversas características sociodemográficas
*Table 9. Crosstable relating the segments obtained according to the willingness to pay of the reference price for tomato Muchamiel and various sociodemographic characteristics*

| | | DAP1 | | DAP2 | | DAP3 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Menos | Más | Menos | Más | Menos | Más | Total |
| Sexo | Mujer | 62,9 | 70,5 | 59,6 | 72,0 | 57,9 | 69,6 | 66,0 |
| | Hombre | 37,1 | 29,5 | 40,4 | 28,0 | 42,1 | 30,4 | 34,0 |
| Edad | De 18 a 24 años | 9,7 | 20,5 | 10,5 | 17,6 | 7,9 | 17,1 | 14,2 |
| | De 25 a 34 años | 16,1 | 25,0 | 14,0 | 25,5 | 13,2 | 22,9 | 19,8 |
| | De 35 a 49 años | 38,7 | 36,4 | 40,4 | 33,3 | 39,5 | 35,7 | 37,7 |
| | De 50 a 64 años | 25,8 | 13,6 | 28,1 | 13,7 | 31,6 | 15,7 | 20,8 |
| | Mayor de 64 años | 9,7 | 4,5 | 7,0 | 9,8 | 7,9 | 8,6 | 7,5 |
| Actividad laboral | Ama de casa | 11,3 | 11,4 | 8,8 | 13,7 | **5,3** | **14,3** | 11,3 |
| | Trabajador por cuenta ajena | 45,2 | 34,1 | 47,4 | 33,3 | **55,3** | **32,9** | 40,6 |
| | Estudiante | 9,7 | 25,0 | 8,8 | 23,5 | **5,3** | **21,4** | 16,0 |
| | Autónomo | 1,6 | 2,3 | 1,8 | 2,0 | **2,6** | **1,4** | 1,9 |
| | Jubilado | 8,1 | 4,5 | 8,8 | 3,9 | **10,5** | **4,3** | 6,6 |
| | Parado | 6,5 | 2,3 | 7,0 | 2,0 | **5,3** | **4,3** | 4,7 |
| | Empresario | 1,6 | 4,5 | 1,8 | 3,9 | | **4,3** | 2,8 |
| | Otros | 16,1 | 15,9 | 15,8 | 17,6 | **15,8** | **17,1** | 16,0 |
| **Nivel de ingresos** | **< 1.000 €** | **24,1** | **4,9** | **22,6** | **8,3** | **22,2** | **12,3** | 16,2 |
| | **1.001 a 2.000 €** | **41,4** | **36,6** | **41,5** | **37,5** | **30,6** | **44,6** | 39,4 |
| | **2.000 a 3.000 €** | **24,1** | **22,0** | **26,4** | **18,8** | **36,1** | **15,4** | 23,2 |
| | **3.000 a 4.000 €** | **8,6** | **29,3** | **7,5** | **27,1** | **8,3** | **21,5** | 17,2 |
| | **> 4.000 €** | **1,7** | **7,3** | **1,9** | **8,3** | **2,8** | **6,2** | 4,0 |
| **Nivel de estudios** | **Primarios** | **27,9** | **7,0** | 26,8 | 14,0 | 21,6 | 20,3 | 19,2 |
| | **FP/Bachiller** | **24,6** | **30,2** | 25,0 | 28,0 | 24,3 | 27,5 | 26,9 |
| | **Universitarios** | **47,5** | **62,8** | 48,2 | 58,0 | 54,1 | 52,2 | 53,8 |

En negrita aparecen las variables para las que el análisis ha resultado significativo.

lución para los pequeños agricultores. Como argumentan Dinis *et al*. (2011), la recuperación del cultivo de variedades tradicionales se perfila como una de las formas de afrontar la competitividad por parte de éstos, así como de responder a los deseos de los consumidores cada vez más concienciados con el medioambiente, con la herencia natural y cultural y con la diversificación de experiencias y sabores. Para ello, estas variedades deben ser rentables para los agricultores y aceptadas por los consumidores.

Los resultados de nuestro estudio indican que, en la muestra utilizada, sería posible sustituir las actuales variedades locales que se comercializan (vulnerables a virosis y cuyo cultivo es por tanto rechazado por los agricultores) por las variedades locales mejoradas genéticamente, ya que no sólo existe un segmento dispuesto a pagar el precio de referencia, sino que parece existir una disposición a pagar mayor por las variedades mejoradas, pese a que en principio no deberían diferir en aspecto y cata de sus homólogas sin mejorar. Nuestros resultados son consistentes con otros estudios que han identificado segmentos de consumidores en la población local dispuestos a pagar más por productos locales (Loureiro and Hine, 2002; Darby *et al.*, 2006; Brugarolas *et al.*, 2010; Carpio e Isengildina-Massa, 2009). En nuestro estudio este segmento se sitúa en torno a un 40%. Un trabajo similar, aunque empleando subastas experimentales cuantificó este segmento en torno a un 30% (Martínez-Carrasco *et al.,* 2012), lo cual puede deberse a la metodología empleada, ya que no olvidemos que el presente estudio utiliza como método para obtener la disposición a pagar la valoración contingente que suele sobreestimar la disposición a pagar frente a otras metodologías (Neill *et al.*, 1994). Otros trabajos han identificado segmentos de consumidores potenciales de productos locales más amplios como en el caso de Brugarolas *et al.* (2010)*,* quienes encontraron que hasta un 75% de los consumidores valencianos estaban dispuestos a pagar más por aceite de oliva local.

En cuanto al perfil sociodemográfico de los consumidores, para la variedad Muchamiel, los ingresos, el nivel de estudios y la actividad laboral son variables determinantes en la disposición a pagar. En el caso de la variedad De la Pera, no se puede establecer un perfil claro de este segmento. Otros estudios han encontrado que los determinantes sociodemográficos de los sobreprecios por productos locales son la edad, el género y los ingresos (Carpio e Isengildina-Massa, 2009). Sin embargo, Dinis *et al.* (2011), no encontraron relación entre las características sociodemográficas de los consumidores y la DAP por variedades tradicionales de manzana, concluyendo que la DAP depende más de los propios atributos del producto que de las características personales de quienes los consumen. Creemos por tanto que es necesaria mucha más investigación a nivel local y con productos específicos para poder establecer los determinantes sociodemográficos de la mayor disposición a pagar por variedades locales.

Como estrategias para comercializar estos tomates, proponemos seguir investigando si el origen local y el cultivo ecológico podrían perfilarse como atributos clave en la diferenciación de estos productos, ya que, nuestro estudio así lo sugiere. En este sentido Denver y Jensen (2014) encuentran una asimetría interesante entre la preferencia por productos locales y ecológicos, ya que los consumidores con una percepción positiva hacia las manzanas ecológicas también tienen relativamente una fuerte preferencia hacia las manzanas que se producen a nivel local; sin embargo, los encuestados con una percepción positiva hacia los productos locales no tuvieron preferencias más acusadas hacia las variedades ecológicas. Conviene por tanto seguir investigando la relación entre estos dos atributos.

Dado el carácter exploratorio de este estudio, sería necesario ampliar la investigación para poder obtener resultados de una muestra representativa. No obstante, cabría recomendar un mayor apoyo de las administraciones públicas a la investigación en la mejora de estas variedades y en su difusión entre los agricultores y los consumidores locales. Finalmente enfatizar los beneficios que representan los canales cortos de comercialización al reducir la contaminación procedente del transporte y al favorecer el desarrollo de las comunidades locales. Es por tanto una estrategia que representa una ganancia para el consumidor, para el agricultor y para toda la sociedad.

## Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto "Efecto de la introducción de genes de resistencia a virosis sobre la calidad organoléptica y otros caracteres agronómicos de variedades de tomate localmente adaptadas" (AGL2008-03822/AGR) financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España en su convocatoria de ayudas a proyectos I+D 2008.

## Bibliografía

Bailey K (1994). Methods of Social Research 4th Edition. The Free Press. New York.

Batte MT, Hooker N, Haab T, Beaverson J (2007). Putting their money where their mouths are: Consumer willingness to pay for multi-ingredient, processed organic food products. Food Policy 32 (2): 145-159.

Belliveau S (2005). Resisting global, buying local: Goldschmidt revisited. Great Lakes Geographer 12(1): 45-53.

Bett HK, Peters KJ, Nwankwo UM, Bokelmann W (2013). Estimating consumer preferences and willingness to pay for the underutilised indigenous chicken products. Food Policy 41: 218-225.

Bilkey WJ, Nes E (1982). Country-of-origin effects on product evaluations. Journal of international business studies 13(1): 89-100.

Brugarolas M, Martínez-Carrasco L, Martínez-Poveda A, Rico M (2005). Determination of the surplus that consumers are willing to pay for an organic wine. Spanish Journal of Agricultural Research 3(1): 43-51.

Brugarolas M, Martínez-Poveda A, Martínez-Carrasco L (2010). Aceptación de productos agrarios propios en los mercados locales: el aceite de oliva virgen extra en la Comunidad Valenciana. Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros 226: 207-224.

Buzby J, Skees J, Ready R (1995). Using Contingent Valuation to Value Food Safety: a Case Study of Grapefruit and Pesticide Residues. In: Valuing Food Safety and Nutrition (Ed. Caswell JA), Boulder, CO: Westview Press. pp. 219-256.

Buzby JC, Fox JA, Ready RC, Crutchfield SR (1998). Measuring consumer benefits of food safety risk reductions. Journal of Agricultural and Applied Economics 30: 69-82.

Carpio CE, Isengildina-Massa O (2009). Consumer willingness to pay for locally grown products: the case of South Carolina. Agribusiness 25(3): 412-426.

Chambers S, Lobb A, Butler L, Harvey K, Bruce Traill W (2007). Local, national and imported foods: a qualitative study. Appetite 49(1): 208-213.

Darby K, Batte MT, Ernst S, Roe B (2006). Willingness to pay for locally produced foods: A customer intercept study of direct market and grocery store shoppers. Annual Meeting of the American Agricultural Economics Association, 23-26 julio 2006. California, EE.UU.

Denver S, Jensen J D (2014). Consumer preferences for organically and locally produced apples. Food Quality and Preference 31: 129-134.

Dinis I, Simões O, Moreira J (2011). Using sensory experiments to determine consumers' willingness to pay for traditional apple varieties. Spanish Journal of Agricultural Research 2: 351-362.

FAO (2010). Segundo Informe sobre el Estado de los Recursos Filogenéticos en el Mundo para la Alimentación y la Agricultura. Dirección de Producción y Sanidad Vegetal. Ed. FAO, Roma, Italia.

García-Martinez S, García-Gusano M, Grau A, Alonso-Sanchis A, Valero M, Ferranez A, Ruiz JJ (2008). Resultados de un programa de mejora genética para la incorporación de resistencia a virosis en variedades tradicionales de tomate. Agrícola Vergel: Fruticultura, horticultura, floricultura 318: 272-277.

Grande I, Abascal E (2005). Análisis de encuestas. Madrid, España: Esic Editorial. 292 p.

Grunert KG, Juhl HJ, Esbjerg L, Jensen BB, Bech-Larsen T, Brunsø K, Madsen CØ (2009). Comparing methods for measuring consumer willingness to pay for a basic and an improved ready made soup product. Food Quality and Preference 20(8): 607-619.

Guerrero L, Claret A, Verbeke W, Enderli G, Zakowska-Biemans S, Vanhonacker F, Hersleth, M (2010). Perception of traditional food products in six European regions using free word association. Food Quality and Preference, 21(2), 225-233.

Herriges JA, Shogren JF (1996). Starting Point Bias in Dichotomous Choice Valuation with Follow-Up Questioning. Journal of Environmental Economics and Management 30: 112-131.

Hong ST, Wyer RS (1989). Effects of country-of-origin and product-attribute information on product evaluation: An information processing perspective. Journal of Consumer Research 16(2): 175-187.

Lacaze MV (2014). Valoración contingente de hortalizas frescas obtenidas bajo manejo integrado de plagas: El caso de la papa (patata) en Argentina. Información Técnica Económica Agraria 110 (1): 102-118.

Le Vine RA, Campbell DT (1972). Ethnocentrism: Theories of Conflict, Ethnic Attitudes and Group Behaviour. John Wiley & Sons. Nueva York, EE. UU. 310 pp.

Li Q, Curtis KR, McCluskey JJ, Wahl TI (2002). Consumer attitudes toward genetically modified foods in Beijing, China. The Journal of Agrobiotechnology Management and Economics 5(4): 145-152.

Loureiro ML, Hine S (2002). Discovering niche markets: A comparison of consumer willingness to pay for local (Colorado grown), organic, and GMO-free products. Journal of Agricultural and Applied Economics 34 (3): 477-488.

Loureiro ML, Hine S (2004). Preferences and willingness to pay for GM labeling policies. Food Policy 29(5): 467-483.

Martínez-Carrasco L, Brugarolas M, Martínez-Poveda A, Espinosa D, Fresquet E (2012). Disposición a pagar por tomates mejorados genéticamente. Aplicación de una subasta experimental. Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros 233: 101-128.

McCluskey JJ, Grimsrud KM, Ouchi H, Wahl TI (2003). Consumer response to genetically modified food products in Japan. Agricultural and Resource Economics Review 32(2): 222-231.

McIntyre L, Rondeau K (2011). Individual consumer food localism: A review anchored in Canadian farmwomen's reflections. Journal of Rural Studies 27 (2): 116-124.

Misra SK, Huang CL, Ott SL (1991). Consumer willingness to pay for pesticide-free fresh produce. Western Journal of Agricultural Economics 16(2): 218-227.

Mitchell R, Carson R (1989). Using Surveys to Value Public Goods. The Contingent Valuation Method. Resources for the future. Ed. Samuel Allen, Nueva York, EE. UU. 463 pp.

Neill HR, Cummings RG, Ganderton PT, Harrison GW, McGuckin T (1994). Hypothetical Surveys, Provision Rules, and Real Economics Commitments. Land Economics 70: 145-154.

Nordström J (2012). Willingness to pay for wholesome canteen takeaway. Appetite 58(1): 168-179.

Pieniak Z, Verbeke W, Vanhonacker F, Guerrero L, Hersleth M (2009). Association between traditional food consumption and motives for food choice in six European countries. Appetite 53(1): 101-108.

Roininen K, Arvola A, Lähteenmäki L (2006). Exploring consumers' perceptions of local food with two different qualitative techniques: Laddering and word association. Food quality and preference 17(1): 20-30.

Ruiz JI (2012). Metodología de la investigación cualitativa. Ed. Universidad de Deusto, Bilbao, España. 344 pp.

Sánchez M, Grande I, Gil JM, Gracia A (2001). Diferencias entre los segmentos del mercado en la disposición a pagar por un alimento ecológico: valoración contingente y análisis conjunto. Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros 190: 141-163.

Sanjuán AI, Resano H, Zeballos G, Sans P, Panella-Riera N, Campo M, Santolaria P (2012). Consumers' willingness to pay for beef direct sales. A regional comparison across the Pyrenees. Appetite 58(3): 1118-1127.

Shimp TA, Sharma D (1987) Consumer ethnocentrism: construction and validation of the CETSCALE. Journal of Marketing Research 24: 280-289.

Tregear A (2011). Progressing knowledge in alternative and local food networks: Critical reflections and a research agenda. Journal of Rural Studies 27 (4): 419-430.

Tregear A, Kuznesof S, Moxey A (1998). Policy initiatives for regional foods: some insights from consumer research. Food Policy 23(5): 383-394.

Van der Lans IA, Van Ittersum K, De Cicco A, Loseby M (2001). The role of the region of origin and EU certificates of origin in consumer evaluation of food products. European Review of Agricultural Economics 28(4): 451-477.

Van Ittersum K, Candel MJ, Meulenberg MT (2003). The influence of the image of a product's region of origin on product evaluation. Journal of Business Research 56(3): 215-226.

Verlegh PWJ, Steenkamp JBEM (1999) A review and meta-analysis of country of origin research. Journal of Economic Psychology 20: 521-546.

Weatherell C, Tregear A, Allinson J (2003). In search of the concerned consumer: UK public perceptions of food, farming and buying local. Journal of Rural Studies 19(2): 233-244.

Wier M, Calverley C (2002). Market potential for organic foods in Europe. British Food Journal 104 (1): 45-62.

(Aceptado para publicación el 3 de junio de 2014)

# Factores críticos del éxito de una fusión de cooperativas

E. Meliá-Martí* y A. Martínez-García

Centro de Investigación en Gestión de Empresas (CEGEA). Universidad Politécnica de Valencia. Edificio 7J, Camino de Vera, s/n 46022 Valencia, España

**Resumen**

Cualquier fusión o integración es un proceso complejo donde se ponen en juego muchos intereses y en el que ejercen su influencia diversos factores, en numerosas ocasiones difícilmente controlables o predecibles por los agentes involucrados en ellas. Este artículo pretende evaluar, mediante la técnica del análisis logit, distintas hipótesis que pueden ofrecer resultados concluyentes sobre la influencia de tamaño o la situación económico-financiera de partida de las cooperativas agrarias implicadas en los procesos de fusión registrados en España entre 1995 y 2005, estableciendo si estas variables influyen o condicionan el buen fin de una fusión. Los resultados obtenidos muestran que aquellas entidades que parten de una menor dimensión y unos ratios de rentabilidad más ajustados son las que consiguen una mejora más significativa en sus resultados post-fusión.

**Palabras clave:** Agrarias, tamaño, integración, dimensión, sinergias.

**Abstract**
**Factors that contribute to the success of a merger of cooperatives**

Any merger or integration is a complex process where many interests are at stake and in which various factors exert their influence on numerous hardly controllable or predictable by the agents involved in these cases. This article aims to evaluate, using the technique of logit analysis, different scenarios that can provide conclusive results on the influence of size or financial situation starting agricultural cooperatives involved in mergers recorded in Spain between 1995 and 2005, establishing whether these variables influence or determine the success of a merger. The results show that entities are starting from a lower dimension and profitability ratios are tighter they get a significant improvement in their post-merger results.

**Key words:** Agricultural, size, integration, dimension, synergies.

## Introducción

El cooperativismo agrario español se caracteriza, entre otros aspectos, por una excesiva atomización, que provoca una dispersión de la oferta agraria, debilidad que se traduce en una escasa capacidad negociadora frente al resto de agentes del mercado (Campos-Climent y Chaves-Ávila, 2012; Juliá *et al*., 2012). En consecuencia las estrategias que han venido implementando las cooperativas agro-

* Autor para correspondencia: emeliam@esp.upv.es
http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.006

alimentarias en orden a concentrar oferta por medio de procesos de integración son de distinto índole como las basadas en la cooperación, a través de la creación de estructuras de segundo grado y las alianzas empresariales, y más recientemente a través de procesos de fusión. La Ley 13/2013, de 2 de agosto, de fomento de la integración de cooperativas y de otras entidades asociativas de carácter agroalimentario (BOE, 2013), aprobada recientemente, constituye un paso más hacia la consecución de cooperativas mejor dimensionadas, impulsando a través de la integración cooperativa la modernización, la mejora de la competitividad y de su capacidad para operar en mercados exteriores. Y esto lo hace creando una figura, la "entidad asociativa prioritaria, a la que se puede llegar por propio crecimiento interno, si la cooperativa alcanza una dimensión suficiente, a través de procesos basados en la cooperación, o bien por fusión.

Las ventajas e inconvenientes del crecimiento por cooperación y por fusión han sido analizadas en distintos foros académicos (Arcas y Hernandez-Espallardo; 2013), y existen ejemplos exitosos y fracasos en ambas modalidades. Sin embargo, estas estrategias no son excluyentes, sino que los grandes grupos cooperativos alimentarios, participan en mayor o menor medida de las diferentes modalidades de crecimiento. Hay múltiples ejemplos, como es el caso Murjiverde, cooperativa de segundo grado resultado de la fusión de Agromurgi y Ejidoverde en 2005, a las que se sumaron Geosur y Campovícar en 2009. O muchas cooperativas de primero o segundo grado, las cuales suman a su propio crecimiento interno, adquisiciones estratégicas de empresas (para satisfacer intereses comerciales en otros países, diversificar producto, complementar oferta o procesos, etc.), fusiones con otras cooperativas (si son de primer grado), o promueven fusiones entre sus cooperativas asociadas (si son de segundo grado). Sin embargo, si bien la fusión, constituye una de las fórmulas clave para conseguir esa mayor integración, la realidad es que su éxito no está asegurado. Recientes investigaciones empíricas demuestran que entre el 50 y el 75% de las fusiones de empresas no alcanzan los objetivos esperados (Papadakis, 2005; Ketelhöhn y Martín, 2009). La complejidad de estas operaciones y los múltiples factores tanto intrínsecos como externos, pueden condicionar el buen fin de las mismas: expectativas poco realistas, deficiente reestructuración de personal, mala planificación y comunicación, dificultades de integración, etc. (Schuler y Jackson, 2001; Brouthers *et al*., 1998, Meliá, 2004), hacen que sea muy difícil establecer criterios de generalización o patrones de repetición que puedan ser extendidos a todas las empresas.

Los resultados obtenidos en distintos trabajos no son concluyentes o no consiguen obtener resultados significativos de cuáles son los verdaderos factores que contribuyen a que las fusiones logren los objetivos con los que fueron planteadas, en muchos casos originadas por las diferentes metodologías empleadas (tamaño de empresas, localización geográfica, períodos de tiempo observados, etc.) o por la forma de elegir los indicadores de medición (Ketelhöhn y Martín, 2009), lo que hace que mientras unos observan generación de sinergias y éxitos, otros perciban resultados menos favorables y hasta destrucción de valor en la empresa resultante.

En el ámbito de las cooperativas agrarias, Meliá y Martínez-García (2014) analizan los resultados de los procesos de fusión de cooperativas agrarias españolas, diferenciando entre los obtenidos en los procesos de fusión pura y por absorción, y determinan que éstos no siempre han generado muchos de los resultados esperados, ya que muchas de las variables y ratios analizados evolucionan de forma negativa tras la integración. Este trabajo se plantea como una consecuencia lógica

del anterior, con el principal objetivo de determinar, una vez establecidos los procesos de fusión exitosos y los que no lo son, cuáles son los principales factores que han determinado el éxito o fracaso de dichas fusiones.

## La importancia del tamaño en los resultados de la fusión

El impacto del tamaño inicial de las entidades en el éxito o fracaso de las fusiones y adquisiciones es uno de los factores más estudiados, pudiéndose agrupar los mismos en función de los resultados obtenidos.

Así pues, encontramos trabajos como el de Brouthers *et al*. (1998), donde se obtienen resultados dispares e incluso contradictorios sobre la influencia del tamaño en las diferentes variables. En su trabajo realizan una división de las fusiones por tamaño (grandes y pequeñas) y examinan la influencia del tamaño en variables como el incremento de las ventas, los beneficios o la reducción de costes. Únicamente obtiene diferencias significativas en el aumento de las ventas para las fusiones más grandes, determinando que no existen diferencias de rendimiento entre ambos colectivos.

González y Correa (1998) también obtienen resultados contradictorios por medio un análisis de regresión donde analizan la influencia del tamaño de la empresa en su crecimiento post-fusión, estableciendo la existencia de una ligera relación negativa entre ambas variables, así como que la probabilidad de crecimiento no es igual para las diferentes categorías, siendo las empresas pequeñas las que registran las tasas más altas de crecimiento medio. Clark y Ofek (1994) también afirman que son estas entidades las que obtienen mejores resultados tras una fusión, al integrarse con más facilidad, ya que la dirección de las mismas está más definida. Resultados similares obtienen Palomo y Sanchis (2010), en su trabajo sobre la concentración de las cajas rurales españolas donde establecen la hipótesis de si el incremento de tamaño se traduce en un aumento de la rentabilidad y de la eficiencia. Concluyen que no existe una relación directa y positiva, ya que los mayores niveles de rentabilidad y eficiencia se sitúan en posiciones intermedias según tamaño, incluso algunas variables como la rentabilidad y la eficiencia es mayor en las cajas más pequeñas. En el trabajo de Kaplan y KPMG (2008) miden el éxito de las fusiones de 510 empresas estableciendo si las mismas ofrecen un retorno positivo y significativo a efectos estadísticos. Obtienen que cuanto menor es el tamaño de la entidad absorbente, más exitosa es la operación.

Otros autores como Lubatkin (1983) y Seth (1990) establecen que el tamaño sí es una variable influyente en los resultados positivos de un proceso integrador, afirmando que son más exitosas las fusiones que integran a empresas más grandes. Ruiz *et al*. (2006) resaltan que el éxito del cooperativismo agrario requiere de unas organizaciones eficientes con mayor capacidad negociadora y mayores cuotas de mercado, siendo fundamental alcanzar una mayor dimensión mediante procesos de concentración. Arcas *et al*. (2002), García *et al*. (2002) o Senise y Parras (2003), también señalan la integración cooperativa como un mecanismo adecuado para mejorar la competitividad, hacer frente a la globalización de los mercados y mejorar el poder de negociación frente al resto de agentes de la cadena agroalimentaria.

Con todo, y pese a los resultados contradictorios de los estudios previos en sociedades de capital, la inexistencia de trabajos que analicen en cooperativas la influencia de la dimensión inicial agregada, es decir la de la suma de las entidades fusionantes, sobre los resultados de la misma, nos lleva a plantear la primera hipótesis:

**Hipótesis 1: La dimensión inicial agregada de las entidades que participan en una fusión tiene una influencia significativa en los resultados de la misma.**

A los trabajos que estudian los efectos del tamaño de algunas de las entidades fusionantes o del agregado, se unen otros que analizan la incidencia del tamaño relativo entre las sociedades fusionantes en los resultados de fusión.

En este sentido, encontramos teorías que defienden que las entidades absorbentes deben tener un tamaño relativo superior a las absorbidas para favorecer el éxito del proceso. Bruton *et al*. (1994) se enmarcan en este contexto y a partir del estudio de 51 adquisiciones de empresas con problemas financieros, establecen que la relación entre el tamaño de las entidades no es una variable significativa determinante del éxito de la operación. No obstante, recomienda que la empresa absorbente tenga la suficiente capacidad económica para solventar las dificultades de la empresa que va a comprar, y esto sólo se consigue si es significativamente más grande que la entidad absorbida.

Los trabajos de Diven (1984), Kusewitt (1985), Ravenscraft y Scherer (1987) y Datta *et al*. (1991) también abogan por un mayor tamaño de la absorbente, para aumentar la posibilidad de alcanzar sinergias potenciales y obtener economías de escala. Del mismo modo, Ingham *et al*. (1992) sugieren que las fusiones donde las dos empresas son muy diferentes en tamaño tienden a producir un mayor rendimiento que cuando las entidades son similares en tamaño, atribuyendo dichas diferencias de rendimiento a la facilidad de combinar operaciones. Con idéntico propósito, Larsson y Finkelstein (1999) a través de una encuesta, concluye que el potencial de combinación es mayor cuanto mayor sea el tamaño relativo de la absorbida sobre la absorbente. Así mismo, Loderer y Martin (1990) afirman que si las absorbidas son más grandes se obtiene una rentabilidad más alta, ya que el impacto sobre el precio de las acciones es mayor.

Meliá *et al*. (2010) y Meliá y Martínez-García (2014) analizando de forma independiente las fusiones por absorción y creación, concluyen que el mayor volumen de ventas es uno de los factores que parecen determinar el que una fusión se realice por absorción, y en la misma determina el rol de sociedad absorbente.

De forma opuesta Ketelhöhn y Martín (2009), concluyen que el tamaño relativo de las empresas no es un factor concluyente a la hora de determinar el éxito de una fusión. Ramaswamy (1997) tampoco obtiene que la diferencia de tamaño sea una variable significativa para explicar las similitudes estratégicas que llevan a las empresas a fusionarse. Igualmente, Bruton *et al*. (1994) y Viscio *et al*. (1999) no han llegado a conclusiones estadísticamente significativas en sus estudios empíricos. Kitching (1967) defiende que existe un mayor riesgo de fracaso cuanto mayor es la diferencia de tamaño entre entidades. En su trabajo, analiza 69 fusiones, y obtiene que en el 84% de las transacciones clasificados como fracasos, las ventas de las empresas absorbidas constituían menos del 2% de las ventas de las absorbentes; siendo sus hallazgos confirmados por Hunt (1990), en una investigación más reciente.

Papadakis (2005), siguiendo la metodología de Diven (1984) concluye que la fusión es más exitosa, cuando mayor es el tamaño relativo, medido por el cociente entre el número de empleados de la absorbente sobre la adquirida. Aiginger y Tichy (1991), evidencian que la diferencia de tamaño podría generar mayores sinergias y creación de valor en los procesos de integración en los que participan empresas de menor tamaño.

Estos estudios se han efectuado sobre sociedades de capital, lo que nos lleva a contrastar si este hecho también se manifiesta en las sociedades cooperativas analizadas:

**Hipótesis 2: Cuanto mayor es la diferencia de tamaño entre las cooperativas que participan en una fusión, más probabilidad de éxito tiene la fusión.**

### Efecto de la situación económico-financiera previa a la fusión en los resultados de la fusión

Ketelhöhn y Martín (2009), establecen como factor clave del éxito de la fusión el desempeño financiero previo. Así mismo, Servaes (1991) y Morck *et al*. (1990) defienden que altos niveles de rentabilidad previos de las absorbentes, contribuyen significativamente al buen fin de un proceso; esto significa que las empresas bien administradas antes de una fusión tienden a seguir esta tendencia tras la integración. De forma opuesta, Clark y Ofek (1994) y Servaes (1991) manifiestan que los procesos en los que participan empresas con bajos niveles de rentabilidad tienden a lograr mejores resultados, así mismo Morck *et al*. (1990) afirman que las empresas exitosas tienden a tener menos éxito porque las empresas absorbentes suelen enfrentar a la competencia con múltiples ofertas y terminan pagando precios más altos por las entidades adquiridas.

Dada la contradicción de los estudios previos, parece interesante contrastar si el hecho de que las cooperativas implicadas en la fusión tengan una elevada rentabilidad pre-fusión tiene un efecto positivo en el éxito de la misma:

**Hipótesis 3: Aquellas fusiones de cooperativas que parten de mayores niveles de rentabilidad, tienen más probabilidad de éxito.**

Lo mismo se puede indicar acerca de lo mejor o peor dimensionadas en activos fijos que llegan las cooperativas a la fusión, en la medida en que se espera que sean aquellas cooperativas que ya acuden a la fusión no sobredimensionadas en activos, las que tienen más posibilidades de éxito, ya que de partida aportan menores cargas de amortización al proceso.

**Hipótesis 4: Aquellas cooperativas que antes de la fusión presentan un volumen de activos más ajustados con respecto a la cifra de ventas, y por tanto soportan menores costes estructurales, tienen más probabilidad de éxito.**

Lago y Vaquero (2009) establecen que uno de los efectos inmediatos de una fusión es el incremento de los recursos propios y de la solvencia, pero dicho efecto dependerá en buena medida de la situación patrimonial de las entidades que se fusionan. Así mismo, Owen *et al*. (2011) identifican que son 30 los factores clave para el éxito de fusiones de organizaciones sin ánimo de lucro, entre ellos destaca la estabilidad financiera antes de la integración, advirtiendo del peligro que supone embarcarse en un proceso de integración si la empresa presenta una mala situación financiera previa.

Con todo, resulta de interés comprobar en el ámbito de las cooperativas la relación entre la situación de solvencia inicial de las cooperativas fusionantes y el resultado de la fusión, lo que nos conduce a plantear la 5ª hipótesis del presente trabajo:

**Hipótesis 5: La mejor situación de solvencia de las cooperativas antes del proceso integrador tiene un efecto positivo en los resultados de la fusión.**

### La reestructuración y los ajustes en los procesos de fusión

El alcance de sinergias es otro de los factores que llevan a una empresa a embarcarse en un proceso de fusión. Su concesión o logro depende en muchos casos de que, durante y con posterioridad al proceso, se realicen una serie de ajustes estructurales tales como reducción de costes en partidas de personal, de producción o amortizaciones.

La revisión bibliográfica en este campo nos lleva a encontrar trabajos, como el de Harrison (2011), que analiza el efecto de las fu-

siones de 312 hospitales en la consecución de reducción de costes, obteniendo que se produce una reducción de costes el primer año después tras la fusión (N+1), pero que esta reducción va disminuyendo a medida que aumenta el tiempo tras la integración (N+2 y N+3). Simon y Wilcox (1999) también encuentran una reducción significativa en costes de personal en su estudio sobre fusiones bancarias registradas entre 1985 y 1997. La aportación de Healy y Palepu (1990) se centra en el estudio del rendimiento operativo de 50 empresas industriales públicas de Estados Unidos en el período 1979-1983. Sus resultados muestran que tras la fusión disminuye el número medio de empleados, consiguiendo mejoras en la eficiencia operativa. Sin embargo, en el período posterior a la fusión no parece haber continuidad en las reducciones de estos costes, y por tanto cambios significativos en los márgenes operativos. Kelly *et al*. (1999), determinan que tras la fusión la reducción de personal es el área donde la mayoría de empresas han logrado beneficios, lo que se da en el 65% de la muestra estudiada. En esta línea, pero con resultados opuestos se sitúa Harmelen (2012) que estudia la eficiencia en los costes de las fusiones en las inmobiliarias holandesas, concluyendo que se produce un ligero aumento de los gastos tras la integración, así como una disminución de la productividad y de la calidad de tasación de los servicios.

García-Tabuenca y Crespo-Espert (2007) estudian la eficiencia en costes en fusiones de empresas no cotizadas en España entre 1999 y 2005, obteniendo resultados poco concluyentes, siendo únicamente los procesos de concentración de pequeñas empresas las que consiguen reducciones en los costes de explotación y de personal.

**Hipótesis 6. La reestructuración de costes, y concretamente los de personal es uno de los factores condicionantes del éxito de una fusión de cooperativas.**

## Material y métodos

### Población objeto de estudio

La población objeto de estudio está constituida por todas las fusiones de cooperativas agrarias registradas en España durante el período comprendido entre 1995 y 2005, incluyendo tanto las fusiones por absorción como las que han empleado el método de integración por nueva creación. Los procesos de fusión fueron identificados a través de la consulta a todos los Registros de Cooperativas en las diferentes comunidades autónomas de España y sus correspondientes oficinas provinciales, y en ciertos casos en los Registros Mercantiles. En total son 147 procesos de fusión en los cuales han participado un total de 374 cooperativas. De todas ellas, se ha dispuesto de información de 70 procesos de fusión, es decir, un 48,2% de las fusiones llevadas a cabo, en las que participaron un total de 156 cooperativas (Tabla 1).

### Datos muestrales

Con objeto de establecer la representatividad de la muestra dentro de la población estudiada, se ha considerado un porcentaje de fiabilidad deseado para la media muestral del 95% ($z = 1,96$), un error máximo permitido del 5% y una varianza poblacional de 0,25. En la medida en que el tamaño de la muestra obtenida ha sido superior al 10% de la población, se ha incorporado una corrección para poblaciones finitas (Malhotra, 2004), determinándose que el tamaño de la muestra representativa de esa población es de 62 fusiones. Al estar nuestra muestra compuesta por 70 fusiones, podemos considerar que nuestras conclusiones pueden generalizarse a la población.

Tabla 1. Procedimiento de selección de la muestra
*Table 1. Procedure of sample selection*

| | |
|---|---|
| Número total de entidades participantes en los procesos de fusión analizados:<br>– 366 cooperativas<br>– 8 Sociedades Agrarias de Transformación (Incluidas por participar en los procesos de fusión entre cooperativas estudiados y adoptar tras el proceso esta forma jurídica) | 374 |
| Fusiones de cooperativas agrarias registradas en España durante el período desde 1995 hasta 2005:<br>– 115 por absorción<br>– 28 por nueva creación<br>– 4 por escisión-absorción | 147 |
| Cuentas anuales disponibles | 114 |
| Cuentas anuales incompletas | 25 |
| Cuentas anuales con erratas | 18 |
| Fusiones incluidas en la muestra final:<br>– 55 por adquisición<br>– 15 por nueva creación | 70 |
| Cooperativas incluidas en la muestra analizada:<br>– 55 cooperativas absorbentes<br>– 65 cooperativas absorbidas<br>– 6 cooperativas participantes en una fusión por nueva creación | 156 |

## Horizonte temporal e información para el análisis

El horizonte temporal de análisis comprende desde un año anterior a la fusión (N-1) hasta cuatro posteriores a la misma (N+4). La información utilizada para el análisis son los estados financieros. Teniendo en cuenta que las fusiones tienen lugar de 1995 a 2005, las cuentas anuales a analizar abarcan el periodo comprendido entre 1994 hasta 2009, siendo 312 el número de cuentas que se han incluido en el estudio. De forma adicional, para cada variable y año de estudio (1994-2009) se ha llevado a cabo el ajuste de todas las variables con la media del sector, obtenida por medio de una consulta a la base de datos SABI, extrayendo de la misma los datos contables de 3.193[1] cooperativas agroalimentarias españolas, para el periodo comprendido de 1994 a 2009.

1. El número total de cooperativas agrarias en España en el período objeto de estudio es de 3.939, OSCAE (2012).

## Selección de variables a explicar y explicativas

Algunas variables utilizadas se refieren a la situación antes de la fusión, ello obliga a establecer unas cuentas agregadas ficticias para el año anterior a la fusión (N-1), siguiendo la metodología de Healy *et al*. (1992), Clark y Ofek (1994) y Apellániz *et al*. (1996). Para ello, se han calculado los valores de cada cooperativa resultante de un proceso de fusión para el año anterior a que ésta se produzca, mediante la agregación de los datos de las entidades originales, ponderados por el tamaño, medido a partir del volumen de activos de cada una de dichas cooperativas en la entidad resultante tras la integración. Con ello se consigue que el valor alcanzado por los ratios de las entidades absorbidas tengan de alguna forma repercusión en los ratios estimados para el agregado antes de la fusión, ya que, si se calculan a partir del balance consolidado, el reducido valor que aportan en muchas ocasiones las cuentas de la sociedad absorbida al mismo, hace que su aportación quede muy diluida en el total agregado.

### *Variables a explicar*

Tal y como se ha visto en la revisión bibliográfica, son varios los enfoques o modos de analizar el éxito o fracaso de la fusión: aumento de la rentabilidad (Loderer y Martin, 1990; Ingham *et al*., 1992; Palomo y Sanchis, 2010), incremento de las ventas y de los beneficios (Kitching, 1967; Hunt, 1990 o Brouthers *et al*., 1998) o la reducción de costes (Healy y Palepu, 1990; Simon y Wilcox, 1999 o Harrison, 2008). En este trabajo vamos a considerar que una fusión de cooperativas es exitosa, cuando consigue mejorar la rentabilidad del socio, y por el contrario no lo es, cuando este rendimiento disminuye. De hecho, la mayor parte de los estudios que pretenden analizar el éxito o fracaso de una fusión se centran en el impacto que tiene la fusión sobre la rentabilidad de los accionistas en las empresas. Entre ellos, Apellániz *et al*. (1999), valoran los resultados de las fusiones a partir de cambios en las cotizaciones bursátiles de las empresas involucradas en estos procesos. En la misma línea, Kelly *et al*. (1999), miden el éxito de la fusión basándose en el valor pre y post de las acciones.

Es ampliamente aceptado que el rendimiento financiero de las cooperativas difiere significativamente de las empresas de capital (IOFs) (Staatz y Eicher, 1984; Caves y Peterson, 1986; Akridge y Hertel, 1992; Gentzoglanis, 1997; Lerman y Parliament, 1990; Parliament *et al.*, 1990; Baourakis *et al.*, 2002; Soboh *et al.*, 2011). Guzmán *et al*. (2006) y Sarasa *et al*. (2013) manifiestan que el rendimiento no puede ser evaluado atendiendo exclusivamente a medidas basadas en ratios económicos tradicionales, ya que la estructura de propiedad particular de las cooperativas y la dualidad socio-proveedor existente en las cooperativas, en este caso agroalimentarias, influyen sobre los resultados empresariales. En este contexto, Van Dijk y Klep (2005) establecen que las cooperativas deben compatibilizar un doble objetivo: proporcionar beneficio a sus socios y a la vez competir sanamente en el mercado, siendo este objetivo dual una de las razones que hace que las cooperativas no se encuentren entre las entidades que persiguen como objetivo central la maximización de la rentabilidad. En este sentido, sus socios tradicionalmente prefieren percibir una mayor rentabilidad en forma de mejores liquidaciones por sus productos o tener que pagar un menor precio por sus suministros, en lugar de recibir un retorno directo por su participación en el capital de la cooperativa (Lerman y Parliament, 1990). Siguiendo este esquema, podemos considerar que la rentabilidad del socio tiene dos orígenes: la que procede de la liquidación de la producción que aporta a la cooperativa, y la procedente de los retornos que a partir de los resultados después de impuestos puede distribuir la cooperativa. En base a ello, proponemos dos ratios para analizar la rentabilidad del socio:

**R1: Variación de los Gastos de Aprovisionamientos/Valor Producción:** Este ratio mide la rentabilidad como mejora de la liquidación al socio por sus producciones. Conviene matizar al respecto de este ratio que la partida "gastos de aprovisionamientos" constituye la mejor aproximación que a partir de las cuentas anuales se puede hacer de las adquisiciones a socios, aunque como es sabido, esta partida contiene igualmente los consumos de otras materias primas y las compras a terceros.

Esta aproximación se efectúa teniendo en cuenta que en muchas cooperativas las compras a terceros son inexistentes, y cuando se dan son poco representativas con respecto a las compras a socios. Además, por una cuestión lógica de preferencia de socios frente a terceros, lo normal es que por término medio las adquisiciones a socios se realicen a igual, o si es posible superior precio que a terceros. Por todo ello, y pese a las salvedades apuntadas, podemos considerar que una mejora en la proporción que los gastos de aprovisionamientos representan sobre el valor de la producción, conduce a una mejora de la retribución media de los socios por su producción.

**R2: Variación del Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción:** Este ratio representa la rentabilidad global del socio, ya que contiene por una parte la capacidad de la cooperativa para beneficiar a los miembros a través de los pagos por sus productos (liquidaciones), y por otra parte a partir de los retornos.

*Variables explicativas*

Las variables y ratios económico-financieros utilizadas para los contrastes de las diferentes hipótesis planteadas se detallan en la Tabla 2.

Metodología y análisis

En primer lugar, las 70 fusiones analizadas han sido clasificadas en dos grupos en función de que mejore o empeore con la fusión la rentabilidad del socio (R1 y R2). Tres empresas han sido eliminadas del estudio por presentar datos muy extremos (outliers)[2]. Con objeto de identificar si existen diferencias en los indicadores económico-financieros entre ambos colectivos, se ha realizado un contraste no paramétrico, ya que no podemos asumir normalidad en las variables estudiadas: fusiones que mejoran la rentabilidad del socio y fusiones que la empeoran.

**R1:** 43 han sido las fusiones que han empeorado la rentabilidad del socio (R1) tras la fusión, es decir las que presentan unos gastos de aprovisionamiento/valor de la producción post fusión menores que los arrojados en la situación pre-fusión y 24 son las fusiones en las que han mejorado (Tabla 3).

Entre ambos grupos se observan diferencias estadísticamente significativas para las variables: INCN pre, AP/VP pre, INCN post, Var GP/VP, Var GAM/VP, Var R1 y Var R2.

**R2:** en 50 fusiones ha empeorado la rentabilidad global del socio (R2) tras la fusión, y en 17 ha mejorado (Tabla 4).

Para R2, y al igual que para R1, con excepción de INCNpost, se observan diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos para: INCNpre, AP/VP pre, Var GP/VP, Var GAM/VP, Var R1 y Var R2.

En general, vemos que aquellas fusiones en las que se produjo una mejora de la rentabilidad (R1 y R2) presentan una mediana de dimensión de partida agregada significativamente inferior, en torno a 2 millones de euros, frente

2. Distancia de Cook superior a 1 y distancia de Mahalanobis de $P < 0,001$.

Tabla 2. Ratios y variables empleados en el análisis
*Table 2. Ratios and variables used in the analysis*

| Ratios y variables | Definición |
|---|---|
| Variables a explicar | |
| Var R1 | Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción = Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4) - Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |
| Var R2 | Variación de N-1 a N+4 del Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción = Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |
| Variables explicativas | |
| a) Indicadoras de tamaño | |
| INCN pre | Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas antes de la fusión (N-1). |
| INCN post | Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas después de la fusión (N+4). |
| Var INCN | Variación de N-1 a N+4 del INCN / Valor Producción = INCN Post-Fusión (N+4) - INCN Pre-Fusión (N-1). |
| $\sqrt{(AFcm - \overline{AF}_c)^2}$ | Diferencia de tamaño entre las cooperativas prefusión (N-1): siendo *AF*: activos fijos; *cm*: cooperativa con mayor volumen de activos fijos en una fusión; *c*: resto de cooperativas implicadas en una fusión (excluida la de mayor dimensión). |
| AF/VP pre | Activos No Corriente/Valor Producción antes de la fusión (N-1). |
| b) Indicadores de la situación económico-financiera | |
| SOLV pre | Solvencia (N-1)= Activo Total/Exigible Total. |
| c) Indicadores de eficiencia en costes | |
| R1 pre | Aprovisionamientos / Valor Producción antes de la fusión (N-1). |
| R2 pre | Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción (N-1) |
| Var GP/VP | Variación de de N-1 a N+4 de los Gastos de Personal / Valor Producción = Gastos de Personal Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Personal Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |
| Var GAM/VP | Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Amortización / Valor Producción = Gastos de Amortización Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Amortización Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |
| GAP/VP pre | Gastos de Aprovisionamiento Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |
| Var GAP/VP (Var R1) | Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Aprovisionamiento / Valor Producción = Gastos de Aprovisionamiento Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Aprovisionamiento Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1). |

Tabla 3. Análisis de los estadísticos descriptivos para R1 (Variación de los Gastos de aprovisionamientos / Valor producción)
*Table 3. Analysis of descriptive statistics for R1 (Supplies costs variation / turnover)*

| Ratios | Mejoran R1 (N = 24) | | Empeoran R1 (N = 43) | | Nivel sig. (p-valor) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Media | Mediana | Media | Mediana | U-W[m] | K-S[n] |
| Var R1[a] | 0,13 | 0,05 | -0,178 | -0,077 | 0,00 | 0,00 |
| Var R2[b] | 0,1 | 0,18 | -0,168 | -0,071 | 0,00 | 0,00 |
| INCN pre[c] | 4,96 | 2,22 | 11,55 | 6,97 | 0,069 | 0,098 |
| INCN post[d] | 5,71 | 2,3 | 12,3 | 5,36 | 0,063 | 0,073 |
| Var INCN [e] | 0,74 | 0,33 | 0,74 | 0,32 | 0,855 | 0,423 |
| $\sqrt{(AFcm - \overline{AF}_c)^2}$ [f] | 1,31 | 0,29 | 1,52 | 0,6 | 0,48 | 0,138 |
| AF/VP pre[g] | 0,55 | 0,28 | 0,58 | 0,27 | 0,896 | 0,705 |
| SOLV pre[h] | 3,11 | 1,74 | 2,92 | 1,89 | 0,647 | 0,648 |
| R2 pre[i] | 0,75 | 0,85 | 0,85 | 0,89 | 0,187 | 0,313 |
| Var GP/VP[j] | -0,01 | 0,00 | 0,03 | 0,005 | 0,065 | 0,396 |
| Var GAM/VP[k] | -0,02 | 0,00 | 0,005 | 0,007 | 0,01 | 0,034 |
| GAP/VP pre[l] | 0,71 | 0,85 | 0,83 | 0,89 | 0,022 | 0,051 |

[a] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción = Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4) - Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[b] Variación de N-1 a N+4 del Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción = Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[c] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas antes de la fusión (N-1). En millones de euros.

[d] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas después de la fusión (N+4). En millones de euros.

[e] Variación de N-1 a N+4 del INCN / Valor Producción = INCN Post-Fusión (N+4) - INCN Pre-Fusión (N-1). En millones de euros.

[f] Diferencia de tamaño entre las cooperativas prefusión (N-1): siendo AF: activos fijos; cm: cooperativa con mayor volumen de activos fijos en una fusión; c: resto de cooperativas implicadas en una fusión (excluida la de mayor dimensión). En millones de euros.

[g] Activos No Corriente/Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[h] Solvencia (N-1)= Activo Total/Exigible Total.

[i] Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción (N-1).

[j] Variación de de N-1 a N+4 de los Gastos de Personal / Valor Producción = Gastos de Personal Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Personal Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[k] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Amortización / Valor Producción = Gastos de Amortización Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Amortización Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[l] Gastos de Aprovisionamiento Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[m] Significatividad según la prueba U-Mann Whiney y el test de Wilcoxon.

[n] Significativo según la prueba Z de Kolmogorov- Smirnov.

Tabla 4. Análisis de los estadísticos descriptivos para R2
(Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción)
*Table 4. Analysis of descriptive statistics for R2 (Net profit (after taxes)+Supplies/turnover)*

| Ratios | Mejoran R2 (N = 17) | | Empeoran R2 (N = 50) | | Nivel sig. (p-valor) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Media | Mediana | Media | Mediana | U-W[m] | K-S[n] |
| Var R1[a] | 0,15 | 0,08 | -0,14 | -0,07 | 0,074 | 0,000 |
| Var R2[b] | 0,15 | 0,07 | -0,15 | -0,05 | 0,000 | 0,000 |
| INCN pre[c] | 4,43 | 2,14 | 10,82 | 6,76 | 0,084 | 0,251 |
| INCN post[d] | 5,27 | 2,32 | 11,53 | 5,19 | 0,11 | 0,243 |
| Var INCN [e] | 00,84 | 0,23 | 0,72 | 0,33 | 0,874 | 0,557 |
| $\sqrt{(AFcm - \overline{AF}_c)^2}$ [f] | 1,18 | 0,28 | 1,54 | 0,57 | 0,255 | 0,143 |
| AF/VP pre[g] | 0,51 | 0,37 | 0,60 | 0,26 | 0,379 | 0,517 |
| SOLV pre[h] | 2,10 | 1,68 | 3,29 | 1,89 | 0,195 | 0,421 |
| R2 pre[i] | 0,76 | 0,82 | 0,83 | 0,89 | 0,167 | 0,550 |
| Var GP/VP[j] | -0,03 | -0,02 | 0,03 | 0,01 | 0,002 | 0,003 |
| Var GAM/VP[k] | -0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,057 | 0,130 |
| GAP/VP pre[l] | 0,72 | 0,84 | 0,81 | 0,87 | 0,074 | 0,170 |

[a] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción = Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4) - Gastos de Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[b] Variación de N-1 a N+4 del Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción = Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[c] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas antes de la fusión (N-1). En millones de euros.

[d] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas después de la fusión (N+4). En millones de euros.

[e] Variación de N-1 a N+4 del INCN / Valor Producción = INCN Post-Fusión (N+4) - INCN Pre-Fusión (N-1). En millones de euros.

[f] Diferencia de tamaño entre las cooperativas prefusión (N-1): siendo AF: activos fijos; cm: cooperativa con mayor volumen de activos fijos en una fusión; c: resto de cooperativas implicadas en una fusión (excluida la de mayor dimensión). En millones de euros.

[g] Activos No Corriente/Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[h] Solvencia (N-1)= Activo Total/Exigible Total.

[i] Resultado Después de Impuestos + Aprovisionamientos / Valor Producción (N-1).

[j] Variación de de N-1 a N+4 de los Gastos de Personal / Valor Producción = Gastos de Personal Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Personal Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[k] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Amortización / Valor Producción = Gastos de Amortización Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Amortización Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[l] Gastos de Aprovisionamiento Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[m] Significatividad según la prueba U-Mann Whiney y el test de Wilcoxon.

[n] Significativo según la prueba Z de Kolmogorov- Smirnov.

a los casi 7 millones de las entidades que empeoraron R1 y R2. Además, las cooperativas que mejoraron R1 y R2 siguen siendo, tras 4 años de la fusión, cooperativas significativamente de menor tamaño. A su vez, en las fusiones exitosas, se han realizado mayores ajustes en gastos de personal y amortizaciones con respecto al valor de la producción, que en las que han reducido R1 y R2, siendo las diferencias estadísticamente significativas en ambos casos.

**Resultados**

La comprobación de cada una de las hipótesis planteadas se ha realizado mediante la técnica del análisis logit, muy útil en este caso en la medida en que permite obtener la probabilidad de que una observación pertenezca a un conjunto determinado, en función del comportamiento de las variables independientes (Mora, 1994), lo que en este caso significa poder obtener la incidencia de una serie de variables en la probabilidad de que la fusión sea exitosa o no lo sea. En nuestro caso, las variables independientes son los datos y ratios contables y la variable dependiente puede tomar valores comprendidos entre 0 y 1. El valor 0 significa que la fusión ha fracasado y el valor 1 que ha resultado exitosa (siempre en el ámbito del aumento o reducción de la rentabilidad del socio en el periodo que va desde antes de la fusión hasta 4 años con posterioridad a la misma) (Tabla 5).

Observamos que la menor dimensión inicial tiene un efecto significativo (al 10%) y positivo en la probabilidad de éxito de la fusión, medida como mejora de R2 o rentabilidad final del socio, aumentando por tanto, en aquellas cooperativas cuya dimensión agregada de partida es más reducida, la probabilidad de que mejore R2 tras la misma. El efecto sobre la mejora de R1 no resulta significativo, lo que parece indicar que sí bien influye significativamente sobre la rentabilidad global del socio (procedente de liquidaciones y retornos), no lo hace con igual intensidad en la procedente de la liquidación por la producción. Así, se constata que por cada millón de euros adicional de facturación agregada de la cooperativa pre-fusión, disminuye la probabilidad de que mejore la rentabilidad del socio R2 tras la fusión en un 2,1%. Esto puede deberse en parte a que es más fácil realizar la integración en una cooperativa de menor dimensión agregada, tesis que defienden autores como Clark y Ofek (1994). Por otra parte, hay que tener en cuenta el efecto de haber limitado el análisis post-fusión al periodo de 4 años inmediatamente posteriores a la misma, periodo en el que se producen una buena parte de los ajustes o reestructuraciones efectuados en la fusión, ajustes que por otra parte son normalmente de mayor magnitud en fusiones de mayor tamaño inicial. Como consecuencia, cabe esperar que en estas fusiones, las de mayor dimensión inicial agregada, la mejora de la rentabilidad se produzca con cierto retardo, por lo que no se verá reflejado en el análisis.

Con todo, podemos contrastar afirmativamente la Hipótesis 1, en lo que a R1 se refiere, esto es, que la dimensión inicial agregada de las cooperativas tiene una influencia significativa en los resultados de la misma. En este caso, la menor dimensión inicial agregada hace que aumente la probabilidad de que la fusión resulte exitosa, medida en términos de mejora de la rentabilidad global del socio.

Por otra parte, se observa que la diferencia de tamaño entre las cooperativas fusionantes o la solvencia inicial no son factores significativos en la probabilidad de éxito de la fusión (R1 y R2), lo que nos lleva a rechazar las hipótesis 2 y 5.

Por el contrario, sí ha resultado un elemento significativo y determinante del éxito de la fusión la rentabilidad inicial agregada de los so-

Tabla 5. Modelo logit para establecer los factores determinantes del éxito de la fusión, medido como mejora de la rentabilidad del socio R2
*Table 5. Logit model to establish the success factors of the merger, measured as profitability improvement of the cooperative members R2*

| Ratios | Coeficientes | p-valor | Errores estándar | Efectos marginales | p-valor | Errores estándar |
|---|---|---|---|---|---|---|
| INCNpre [a] | -0,183 | 0,098 | 0,111 | -0,021 | 0,076 | 0,012 |
| Var INCN [b] | -0,076 | 0,509 | 0,115 | -0,009 | 0,504 | 0,013 |
| $\sqrt{(AFcm - \overline{AF}_c)^2}_c$ | 0,243 | 0,335 | 0,252 | 0,028 | 0,324 | 0,029 |
| AF/VP pre[d] | -0,014 | 0,127 | 0,98 | -0,00177 | 0,103 | 0,108 |
| SOLV pre[e] | -0,276 | 0,269 | 0,250 | -0,0327 | 0,255 | 0,028 |
| R1 pre[f] | -0,048 | 0,017 | 2,05 | -,00580 | 0,002 | 0,191 |
| Var GP/VP[g] | -0,261 | 0,019 | 11,10 | -0,030 | 0,004 | 1,07 |
| Var GAM/VP[h] | -0,080 | 0,424 | 10,12 | -0,009 | 0,4108 | 1,18 |
| cons | 5,063 | 0,012 | 2,01 | | | |

Nº obs: 67; LR chi2(8) = 27.01; Prob > chi2 = 0.0007; Pseudo R2 = 0.3532; Log likelihood = -24.732903.

[a] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas antes de la fusión (N-1). En millones de euros.

[b] Variación de N-1 a N+4 del INCN / Valor Producción = INCN Post-Fusión (N+4) - INCN Pre-Fusión (N-1). En millones de euros.

[c] Diferencia de tamaño entre las cooperativas prefusión (N-1): siendo AF: activos fijos; cm: cooperativa con mayor volumen de activos fijos en una fusión; c: resto de cooperativas implicadas en una fusión (excluida la de mayor dimensión). En millones de euros.

[d] Activos No Corriente/Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[e] Solvencia (N-1)= Activo Total/Exigible Total.

[f] Aprovisionamientos / Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[g] Variación de de N-1 a N+4 de los Gastos de Personal / Valor Producción = Gastos de Personal Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Personal Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[h] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Amortización / Valor Producción = Gastos de Amortización Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Amortización Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

cios procedente de las liquidaciones (R1pre), constatándose al 1% de significatividad, que son aquellas cooperativas que parten de una situación inferior en lo que a R1 se refiere, las que tienen una mayor probabilidad de mejorar tanto R1 como R2, probablemente por la inferior situación de partida en comparación al resto. En el presente estudio, y para tratar de constatar si en cooperativas esta mejora podía tener su origen en este menor atractivo de las cooperativas con menor rentabilidad inicial, se analizó la influencia de la

rentabilidad individual de la cooperativa absorbida[3] en la probabilidad de éxito de la fusión (mejora de R2), no siendo este elemento un factor significativo. Este hecho nos permite contrastar la hipótesis 3, que establece que aquellas cooperativas que parten de unos menores niveles de rentabilidad, tienen mayor probabilidad de éxito.

Otro elemento, que ha resultado determinante de la probabilidad de éxito de la fusión (tanto en forma de mejora de R1 como de R2) es el volumen de activos fijos sobre el valor de la producción agregada inicial, indicador de lo ajustada o bien dimensionada en activos fijos que está una entidad. Este factor se ha manifestado con una influencia casi significativa (al 10%), siendo aquellas entidades que ya partían de unas estructuras más ajustadas en volumen de activos, las que manifiestan una mayor probabilidad de éxito en la fusión. Este elemento viene a confirmar un hecho desgraciadamente común en no pocas fusiones, que integran cooperativas ya de partida poco viables por estar sobredimensionadas en activos, y tener en muchos casos un problema añadido de pérdida progresiva de socios y de actividad, que agrava el problema de la sobredimensión, que ven en la fusión una salida a sus problemas. Hemos presenciado no pocas veces como la cooperativa resultante nace ya con un lastre de tal magnitud que es imposible remontar. El éxito de una fusión se incrementa si las cooperativas que integran no están sobredimensionadas en activos, quedando así contrastada la hipótesis 4, lo que aconseja, cuando sea posible, la reestructuración previa a la fusión.

Por último, en el ámbito de la reducción de costes, se ha contrastado como significativo y determinante de la mejora de R1 y R2 tras la fusión el ajuste de los gastos de personal, a un 1% de significatividad. En cuanto a otros ajustes en costes que hayan podido realizar las cooperativas con la fusión, se han analizado los correspondientes a las amortizaciones, ya que una reducción de las mismas podría ser indicativa de una reestructuración de activos productivos con la fusión, elemento muy necesario cuando se parte de cooperativas de por sí sobredimensionadas en activos. La variación de las amortizaciones se ha manifestado como significativa de la mejora de R1, pero no de R2, seguramente porque los ajustes en costes los han repercutido en mejorar las liquidaciones, llevando esta partida al máximo recomendado, práctica que debería reconsiderarse, en aras de lograr un mayor equilibrio entre R1 y R2. En la tabla 6, observamos que por cada punto porcentual que disminuye la diferencia entre la proporción de los gastos de amortización sobre el valor producción obtenida a los 4 años de la fusión y la anterior a la misma (es decir que reducen los gastos de amortización con respecto al valor de la producción), aumenta la probabilidad de que mejore R1 en un 3%. Sin embargo, este hecho no puede conducirnos a aceptar o rechazar la posible reestructuración de activos, ya que es bien sabido que la revalorización de activos es una práctica habitual de muchos procesos de fusión, lo que comporta necesariamente el aumento de las amortizaciones, sin que se vean modificados sustancialmente los activos.

Por tanto, queda contrastada la hipótesis 6, esto es, que la reestructuración de costes, especialmente los de personal, es uno de los factores determinantes del éxito de la fusión, tanto en forma de mejora de la liquidación del socio como de su rentabilidad global.

Finalmente, para evaluar la bondad del modelo, se han elaborado las tablas de aciertos, en base a las cuales podemos indicar que el modelo que plantea el éxito como mejora de R2 predice con un grado de acierto del 85,29%., siendo el mismo en el caso de R1 del 79,41%.

3. En el caso de fusiones por creación se ha escogido como asimilable a la absorbida la de menor dimensión, aunque somos conscientes de que la menor dimensión no siempre conduce al rol de absorbida.

Tabla 6. Modelo logit para establecer los factores determinantes del éxito de la fusión, medido como mejora de la rentabilidad del socio R1
*Table 6. Logit model to establish the success factors of the merger, measured as profitability improvement of the cooperative members R1*

| Ratios | Coeficientes | p-valor | Errores estándar | Efectos marginales | p-valor | Errores estándar |
|---|---|---|---|---|---|---|
| INCNpre [a] | -0,0852 | 0,208 | 0,067 | -0,013 | 0,195 | 0,010 |
| Var INCN [b] | -0,0653 | 0,461 | 0,088 | -0,01 | 0,456 | 0,013 |
| $\sqrt{(AFcm - \overline{AF}_c)^2}_c$ | 0,128 | 0,460 | 0,1736 | 0,020 | 0,456 | 0,027 |
| AF/VP pre[d] | -0,003 | 0,126 | 0,002 | -0,000 | 0,102 | 0,0003 |
| SOLV pre[e] | 0,0457 | 0,692 | 0,115 | 0,007 | 0,691 | 0,018 |
| R1 pre[f] | -0,049 | 0,009 | 0,018 | -0,007 | 0,001 | 0,002 |
| Var GP/VP[g] | -0,187 | 0,021 | 0,08 | -0,029 | 0,006 | 0,010 |
| Var GAM/VP[h] | -0,195 | 0,058 | 0,103 | -0,030 | 0,036 | 0,014 |
| cons | 3,872 | 0,027 | 1,748 | | | |

Nº obs: 67; LR chi2(8) = 25.55; Prob > chi2 = 0.0013; Pseudo R2 = 0.2857 Log likelihood = -31.94566.

[a] Importe Neto Cifra Negocios agregado de las cooperativas antes de la fusión (N-1). En millones de euros.

[b] Variación de N-1 a N+4 del INCN / Valor Producción = INCN Post-Fusión (N+4) - INCN Pre-Fusión (N-1). En millones de euros.

[c] Diferencia de tamaño entre las cooperativas prefusión (N-1): siendo AF: activos fijos; cm: cooperativa con mayor volumen de activos fijos en una fusión; c: resto de cooperativas implicadas en una fusión (excluida la de mayor dimensión). En millones de euros.

[d] Activos No Corriente/Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[e] Solvencia (N-1)= Activo Total/Exigible Total.

[f] Aprovisionamientos / Valor Producción antes de la fusión (N-1).

[g] Variación de de N-1 a N+4 de los Gastos de Personal / Valor Producción = Gastos de Personal Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Personal Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

[h] Variación de N-1 a N+4 de los Gastos de Amortización / Valor Producción = Gastos de Amortización Post-Fusión (N+4) / Valor Producción Post-Fusión (N+4)- Gastos de Amortización Pre-Fusión (N-1) / Valor Producción Pre-Fusión (N-1).

## Discusión

El objetivo principal de este estudio es conocer cuáles han sido los factores que han influido en el éxito de las fusiones de cooperativas agroalimentarias, siendo el enfoque asumido determinante del éxito la mejora de la rentabilidad del socio. Las conclusiones arrojan que del total de los 67 procesos analizados, se han registrados mejoras en la liquidación al socio por sus producciones aportadas a la cooperativa en 24 fusiones y en la rentabilidad global del socio en 17. De todas las variables analizadas, podemos clasificar

los resultados obtenidos en dos grupos. Por una parte, se encuentran los factores que podemos considerar como determinantes a la hora de establecer que una fusión ha tenido éxito; dentro de este grupo, la primera variable es la dimensión de partida de las entidades, concluyendo que la probabilidad de que una fusión sea más exitosa, en términos de que produzca una mejora de la rentabilidad global del socio, aumenta cuando las cooperativas que participan en la misma parten de una menor dimensión inicial agregada, lo que se explica por la mayor facilidad de realizar la integración en una cooperativa de menor dimensión agregada. La rentabilidad inicial agregada de los socios es el otro factor que ha resultado un elemento significativo y determinante del éxito de la fusión, constatándose al 1% de significatividad, que son aquellas cooperativas que parten de unos niveles reducidos de liquidación al socio por sus producciones (R1) las que tienen una mayor probabilidad de mejorar tanto la liquidación a los mismos como la rentabilidad global del socio. Entendemos que la explicación se encuentra, como hemos apuntado, en la inherente inferior situación de partida de estas cooperativas, que hace que sea más factible o probable su mejora que en fusiones que parten de niveles de rentabilidad ya de por sí elevados.

Por el contrario, los resultados reflejan que variables como la diferencia de tamaño entre las cooperativas fusionantes o la solvencia inicial de la cooperativa agregada pre-fusión, no son factores significativos o determinantes del éxito de la fusión.

En cambio, se ha constatado como factor significativo (al 10%) y que aumenta la probabilidad de éxito de la fusión, el hecho de que las cooperativas que se integran en una fusión estén ya de entrada bien dimensionadas en activos fijos, lo que aconseja, cuando sea posible, la reestructuración previa a la fusión.

Finalmente un último elemento que se ha demostrado significativo (al 1%) e influyente en el éxito de la fusión, tanto en forma de mejora de las liquidaciones al socio (el porcentaje que destinan sobre el valor de la producción), como de rentabilidad global del socio es la realización de reestructuraciones de costes, y concretamente los de personal, ajustes que si bien son de difícil encaje en todo proceso de fusión, más aún en las de cooperativas, dado el entramado de relaciones existentes en muchos casos entre el personal de la cooperativa y la base social, son en ocasiones necesarios en aras de conseguir el objetivo con el que se aborda la fusión, esto es mejorar la rentabilidad del socio.

## Agradecimientos

Este trabajo es parte del Proyecto de investigación "Información contable, financiación, resistencia a la crisis y cooperativas", financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación y Desarrollo (PAID-06-12) de la Universitat Politècnica de València.

## Bibliografía

Aiginger K, Tichy G (1991). Small firms and the merger mania. Small Business Economics 4: 83-101.

Akridge JT, Hertel TW (1992). Co-operative and investor-oriented firms efficiency: A multiproduct analysis. Journal of Agricultural Cooperation 7: 1-14.

Apellániz P, Serrano C, Apellániz T (1996). Evaluación de los resultados de las fusiones a partir de la información contable. Revista Española de Financiación y Contabilidad XXV 87: 429-457.

Apellániz T, Apellániz P, Serrano C (1999). Análisis Ex-post de fusiones y adquisiciones: Investigación empírica sobre la evaluación de los resultados de la fusión. La gestión de la diversidad: XIII Congreso Nacional, IX Congreso Hispano-Francés, Logroño (La Rioja), 16, 17 y 18 de junio,

1999/coord. Por Juan Carlos Ayala Calvo, Vol.2, 1999, ISBN 84-95301-11-3, pp 25-36

Arcas N, Munuera JL, Hernández M (2002). Beneficios de las cooperativas agrarias de segundo grado: contribución a los objetivos de sus socios. REVESCO 76: 7-26.

Arcas N, Hernandez-Espallardo M (2013). Tamaño y competitividad. Casos destacados de cooperativas agroalimentarias Españolas. En: El papel del cooperativismo agroalimentario en la economía mundial. (Ed. Baamonde E), 205-229. Serie Mediterráneo Económico. Cajamar Caja Rural.

Baourakis G, Doumpos M, Kalogeras N, Zopounidis C (2002). Multicriteria Analysis and Assessment of Financial Viability of Agribusinesses: The Case of Marketing Cooperatives and Juice-Producing Companies. Agribusiness 18(4): 543-58.

BOE (2013). Ley 13/2013, de 2 de agosto, de fomento de la integración de cooperativas y de otras entidades asociativas de carácter agroalimentario. Núm.185, de 3 de agosto de 2013, páginas 56582 a 56591.

Brouthers K, Van Hastenburg P, Van Den Ven J (1998). If most mergers fail why are they so popular? Long Range Planning 31: 347-53.

Bruton G, Oviatt B, Blanco M (1994). Performance of acquisitions of distressed firms. Academy of Management Journal 37, (4): 972-9B9.

Campos-Climent V, Chaves-Avila R (2012). El papel de las cooperativas en la crisis agraria. Estudio empírico aplicado a la agricultura mediterránea española. Cuadernos de desarrollo rural 9 (69), 175-194.

Caves R, Peterson B (1986). Cooperatives' Shares in Farm Industries: Organizational and Policy Factors. Agribusiness 2: 1-19.

Clark K, Ofek E (1994). Mergers as a Means of Restructuring Distressed Firms: An Empirical Investigation. Journal of Financial and quantitative analysis 29 (4), 541-565.

Datta DK, Grant JH, Rajagopalan N (1991). Management incompatibility and post acquisition autonomy: Effects on acquisition performance. En: Advances in strategic management (Ed. Shrivatsava P.), vol. 7: 157-182. Greenwich, CT: JAI Press.

Diven DL (1984). Organization planning: The neglected factor in merger and acquisitions strategy. Managerial Planning. July-August 1984, 4-12.

García AM, Oreja JR, González E (2002). Las relaciones verticales y el poder de negociación de los agricultores integrados en forma cooperativa frente a los individuales. CIRIEC España, Revista de economía pública, social y cooperativa 41: 111-138.

García-Tabuenca A, Crespo-Espert JL (2007). Análisis de los procesos de fusión y adquisición de empresas españolas no cotizadas 1999-2006. Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, Centro de Publicaciones, [2008]. ISBN 978-84-96275-70.

Gentzoglanis A (1997). Economic and financial performance of cooperatives and investor-owned firms: An empirical study. En: Strategies and Structures in the Agro-Food industries (Eds. Nilsson J. Van Dijk G.), pp. 171–183. Van Gorcum & Comp.

González A, Correa A (1998). Crecimiento y tamaño: un estudio empírico. Revista Española de Financiación y Contabilidad 27 (95): 541-573.

Guzmán I, Arcas N, García D (2006). La eficiencia técnica como medida de rendimiento de las cooperativas agrarias CIRIEC-España, Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa 55: 289-311.

Harmelen D (2012). Efficiency Effects: The Effects of a Horizontal Merger on Cost-Efficiency. Bachelor Thesis. University Rotterdam.

Harrison DT (2011). Do Mergers Really Reduce Costs? Evidence from Hospitals. Economic Inquiry 49(4): 1054–1069

Healy PM, Palepu KG (1990). Effectiveness of accounting-based dividend covenants. Journal of Accounting and Economics 12 (1): 97-123

Healy PM, Palepu KG, Ruback RS (1992). Does Corporate Performance Improve After Mergers? Journal of Financial Economics 31 (135): 135-175.

Hunt JW (1990). Changing Pattern of Acquisition Behaviour in Takeovers and the Consequences for Acquisition Processes Strategic Management Journal 11 (1): 69-77.

Ingham H, Kran I, Lovestam A (1992). Mergers and profitability: A managerial success story? Journal of Management Studies 29: 195-208.

Juliá J, García G, Meliá E (2012). La globalización y los modelos de crecimiento de los grupos cooperativos. Las cooperativas agroalimentarias en España y la Unión Europea. Ekonomiaz Revista vasca de economía 79: 83-113.

Kaplan S, KPMG Asesores (2008). Las claves del éxito en fusiones y adquisiciones ¿Qué factores contribuyen al éxito de estas operaciones? Disponible en: http://www.kpmg.com/ES/es/ActualidadyNovedades/ArticulosyPublicaciones/Documents/lasclavesdelexito.pdf.

Kelly J, Cook C, Splitzer D (1999). Mergers and Acquisitions: Global Research Report 1999. Unlocking shareholder value: The Keys to Success. KPMG, Londres (Gran Bretaña), 1-21.

Ketelhöhn N, Martín N (2009). Determinantes de éxito en fusiones y adquisiciones. INCAE Business Review 1(7) 16-23

Kitching J (1967). Why do mergers miscarry? Hardvard Business Review 45(6): 84-101.

Kusewitt J (1985). An exploratory study of strategic acquisition factors relating to performance. Strategic Management Journal 6: 151-169. Kwan, Simon H.

Kwan SH, Wilcox JA (2002), Hidden cost reductions in bank mergers: Accounting for more productive banks. En: Research in Finance 19. Emerald Group Publishing Limited, pp.109-124

Lago S, Vaquero A (2009). Fusiones de Cajas de Ahorro: ¿Qué Sabemos? Servicio de Estudios Cajasol. (Sevilla)

Larsson R, Finkelstein S (1999). Integrating strategic, organizational, and human resource perspectives on mergers and acquisitions: a case study of synergy realization, Organization Science 10: 1-26.

Lerman Z, Parliament C (1990). Comparative performance of cooperatives and investor-owned firms in US food industries. Agribusiness 6: 527–540.Loderer C, Martin K (1990). Corporate Acquisitions by Listed Firms: The Experience of a Comprehensive Sample. Financial Management 19: 17-33.

Lubatkin M (1983). Mergers and the performance of the acquiring firm. The Academy of Management Review 8 (2): 218-225.

Malhotra N (2004). Investigación de Mercados. Pearson Educación, México. 713 pp.

Meliá E (2004). La concentración empresarial en las cooperativas agrarias. Estudio metodológico de los procesos de fusión. Comité Económico y Social de la Comunidad Valenciana. 255 pp.

Meliá E, Juliá JF, Martinez-García A (2010). Mergers of agrifood cooperatives and their effects: from expectations to results. An empirical study in four Spanish Autonomous Regions. Spanish Journal of Agricultural Research 8 (2): 235-250.

Meliá E, Martínez-García A (2014). Caracterización y análisis del impacto y los resultados de las fusiones de cooperativas en el sector agroalimentario español. Editorial: Universidad de Almería.

Mora A (1994). Los modelos de predicción del fracaso empresarial: una aplicación empírica del Logit. Revista española de financiación y contabilidad 78: 203-233.

Morck R; Schleifer A, Vishney R (1990). Do managerial objectives drive bad acquisitions? The Journal of Finance 45(1): 31-48.

OSCAE (2012). Macromagnitudes del Cooperativismo agroalimentario español. Observatorio Socioeconómico del Cooperativismo Agroalimentario Español. Disponible en: http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/03961.pdf

Owen G, Pittman B, Martell L (2011). What do we know about nonprofit mergers? Joint research project of MAP for Nonprofits and Wilder Research. Wilder Research.

Palomo R, Sanchis J (2010). Efectos de las fusiones sobre la concentración y la eficiencia bancaria. Revista española de financiación y contabilidad 146: 289-319.

Papadakis VM (2005). The role of broader context and the communication program in merger and acquisition implementation success. Management Decision 43(2): 236-255.

Parliament C, Lerman Z, Fulton J (1990). Performance of Cooperatives and Investor-Owned

Firms in the Dairy Industry. Journal of Rural Cooperation 5: 1-16.

Ramaswamy K (1997). The Performance Impact of Strategic Similarity in Horizontal Mergers: Evidence from the U.S. Banking Industry. The Academy of Management Journal 40(3): 697-715.

Ravenscraft D J, Scherer F M (1987). Mergers, Sell-Offs and Economic Efficiency. Brookings Institution Washington D.C. (EE. UU.), 290 pp.

Ruiz MªC, Hernández MªJ, García E (2006). Estado actual de la investigación sobre sociedades cooperativas agrarias en España. CIRIEC-España, Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa 56: 65-86.

Sarasa C, Polo-Garrido F, Seguí-Más E (2013). Valoración de la actuación empresarial mediante técnicas multicriterio: un análisis aplicado a cooperativas agroalimentarias valencianas. CIRIEC-España, Revista de Economía Pública, Social y Cooperativa 77: 131-153.

Schuler R, Jackson S (2001). HR Issues and activities in mergers and acquisitions. European Management Journal 19(3): 239-53.

Servaes H (1991). Tobin's Q and the Gains from Takeovers. Journal of Finance 46: 409-419.

Senise O, Parras M (2003). Estructura de mercado, integración cooperativa y comercialización en el sector oleícola andaluza. REVESCO 81: 100-117.

Seth A (1990). Value creation in acquisitions: A reexamination of performance issues. Strategic Management Journal 11: 99-115.

Soboh R, Oude Lansink A, Van Dijk G (2011). Distinguishing dairy cooperatives from investor-owned firms in Europe using financial indicators. Agribusiness: An international Journal 1: 34-46.

Staatz J, Eicher CK (1984). Agricultural development ideas in historical perspective. En: Agricultural development in the Third World. Ed. Eicher CK, Staatz J, 3-30. Baltimore, Md. (U.S.A.). Johns Hopkins University Press.

Van Dijk G, Klep L (2005). Als 'de market' faalt (Inleiding tot cooperatie). Den Haag: Sdu Uitgevers bv.

Viscio A, Harbison J, Asin A, Vitaro R (1999). Post-merger integration: what makes mergers work? Best Practice 17: 26-33.

(Aceptado para publicación el 16 de junio de 2014)

ASOCIACION INTERPROFESIONAL
PARA EL DESARROLLO AGRARIO

**itea**
**Información Técnica Económica Agraria**

# CONCESIÓN DEL PREMIO PRENSA AGRARIA 2014 DE AIDA

**Presidente**
Pere Albertí Lasalle

**Secretaria**
Clara Mª Marín Alcalá

Dª. Clara Mª Marín Alcalá, Directora de la revista ITEA, en calidad de Secretaria del Jurado para la concesión del Premio Prensa Agraria 2014 de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA).

Notifica que reunido el Jurado para la concesión del Premio Prensa Agraria 2014 el día 27 de enero de 2015, en las instalaciones del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), del que forman parte el Presidente de AIDA que preside el Jurado, la Directora de la revista ITEA, el Director Gerente del CITA del Gobierno de Aragón, el Director del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, el Director de la Estación Experimental de Aula Dei y el Director del Instituto Pirenaico de Ecología han decidido por unanimidad que el Premio Prensa Agraria 2014 ha recaído en **A. Arbonés, M. Pascual** y **J. Rufat** por su artículo publicado en la revista ITEA titulado **"Análisis técnico-económico de diferentes sistemas de plantación de olivo en zonas semiáridas del Valle del Ebro".**

Zaragoza 27 de enero de 2015

EL PRESIDENTE DE AIDA
Pere Albertí Lasalle

# PREMIOS DE PRENSA AGRARIA 2015
# DE LA
# ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL
# PARA EL DESARROLLO AGRARIO

La Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA) acordó en Asamblea General celebrada en mayo de 1983, instaurar un premio anual de Prensa Agraria, con el objetivo de hacer destacar aquel artículo de los publicados en ITEA que reúna las mejores características técnicas, científicas y de valor divulgativo, y que refleje a juicio del jurado, el espíritu fundacional de AIDA de hacer de transmisor de conocimientos hacia el profesional, técnico o empresario agrario. Se concederá un premio, pudiendo quedar desierto.

Los premios se regirán de acuerdo a las siguientes

## BASES

1. Podran concursar todos los artículos que versen sobre cualquier tema técnico-económico-agrario.
2. Los artículos que podrán acceder al premio serán todos aquellos que se publiquen en ITEA en el año 2015. Consecuentemente, los originales deberán ser enviados de acuerdo con las normas de ITEA y aprobados por su Comité de Redacción.
3. El jurado estará constituido por las siguientes personas:
   a) Presidente de AIDA, que presidirá el jurado.
   b) Director de la revista ITEA, que actuará de Secretario.
   c) Director Gerente del CITA (Gobierno de Aragón).
   d) Director del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza.
   e) Director de la Estación Experimental de Aula Dei.
   f) Director del Instituto Pirenaico de Ecología.
4. El premio será anual y tendrá una dotación económica.
5. Las deliberaciones del jurado serán secretas, y su fallo inapelable.
6. El fallo del jurado se dará a conocer en la revista ITEA, y la entrega del premio se realizará con motivo de la celebración de las Jornadas de Estudio de AIDA.

# INSCRIPCIÓN EN AIDA

Si desea Vd. pertenecer a la Asociación rellene la ficha de inscripción y envíela a la siguiente dirección: **Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA). Avenida Montañana 930, 50059 Zaragoza.**

Si elige como forma de pago la domiciliación bancaria adjunte a esta hoja de inscripción el impreso de domiciliación sellado por su banco.

También puede hacer una transferencia a la cuenta de AIDA (CAI, Ag. 2, Zaragoza, nº ES66-2086-0002-12-3300254819) por el importe de la cuota anual. En ese caso, adjunte un comprobante de la transferencia.

| | | |
|---|---|---|
| Apellidos: | | Nombre: |
| NIF: | | |
| Dirección Postal: | | |
| Teléfono: | Fax: | e-mail: |
| Empresa: | | |
| Área en que desarrolla su actividad profesional: | | |

En _____ , a ___ de _____ de 20__

Firma:

**FORMA DE PAGO (CUOTA ANUAL: 42 EUROS)**

| | |
|---|---|
| | Cargo a cuenta corriente (rellenar la domiciliación bancaria) |
| | Transferencia a la cuenta de AIDA ES66-2086-0002-12-3300254819 (adjuntar comprobante) |

**DOMICILIACION BANCARIA**

Sr. Director del Banco/Caja

Muy Sr. mío,

Ruego a Vd. se sirva adeudar en la siguiente cuenta corriente (IBAN: 24 caracteres)

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

que mantengo en esa oficina, el recibo anual que será presentado por la **Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA).**

Atentamente,

| | |
|---|---|
| En _____ , a ___ de _____ de 20__<br><br>Firmado: | Sello de la Entidad: |

# NORMAS PARA LOS AUTORES (2015)

La revista ITEA es una publicación internacional indexada en las bases de datos de revistas científicas. La revista se publica en español en 4 números (marzo, junio, septiembre y diciembre) por año. De acuerdo con los fines de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA), ITEA publica artículos que hagan referencia a la Producción vegetal, Producción animal, Economía agroalimentaria. Se aceptan contribuciones en formato de artículo de investigación, de revisión o de nota técnica. El envío de un artículo implicará que el mismo no haya sido publicado o enviado para publicar en cualquier otro medio de difusión o lenguaje, y que todos los coautores aprueben dicha publicación. Los derechos sobre todos los artículos o ilustraciones publicados serán propiedad de ITEA, que deberá recibir por escrito la cesión o copyright, una vez aceptado el artículo. La publicación de un artículo en ITEA no implica responsabilidad o acuerdo de ésta con lo expuesto, significando solamente que el Comité de Redacción lo considera de suficiente interés para ser publicado.

## 1. Envío de manuscritos y evaluación

Los manuscritos originales, en español, se enviarán a través de la página web de AIDA (http://www.aida-itea.org/). Para ello, los autores deberán registrarse en la aplicación, y seguir las indicaciones pertinentes. El manuscrito se enviará como un único documento Word, incluyendo las tablas y figuras al final del mismo. Los autores deberán incluir una carta de presentación en la que figure el título, los autores y un listado con 4 revisores (nombre completo, dirección postal y correo electrónico), que no deberán estar en conflicto de intereses con los autores o el contenido de manuscrito, en cuyo caso el Comité Editorial podrá negarse a colaborar con dichos revisores.

Los manuscritos que no cumplan las normas para autores serán devueltos para su rectificación. El editor correspondiente remitirá el manuscrito a 2 revisores que conocerán la identidad de los autores, no así al contrario. En caso de que las evaluaciones de los 2 revisores difieran significativamente, el manuscrito podrá ser enviado a un tercer revisor. Una vez aceptados por el editor, los manuscritos serán revisados por el editor técnico.

Los autores deberán modificar el manuscrito teniendo en cuenta las modificaciones sugeridas por los editores y revisores. La decisión final se comunicará a los autores, que, en caso de solicitarse, estarán obligados a modificar el artículo en el plazo de 3 meses desde su comunicación, antes de que sea aceptado definitivamente. Los manuscritos revisados se enviarán a través de la página web de AIDA. Los autores deberán enviar el manuscrito corregido indicando los cambios realizados (por ejemplo, con la función de control de cambios activada), y deberán adjuntar una carta de respuesta a los evaluadores y editores con los cambios realizados. En caso de desacuerdo, los autores deberán justificarlo debidamente al editor. Una vez recibidas las pruebas de imprenta del manuscrito, los autores deberán devolver dicho manuscrito corregido en el plazo de 1 semana. Si el editor no recibe una respuesta por parte de los autores tras 6 meses el artículo será rechazado.

## 2. Preparación del manuscrito

**Los artículos de investigación y las revisiones** tendrán una extensión máxima de 30 páginas a doble espacio en hojas de tamaño DIN A4, tablas y figuras incluidas. Se utilizará la fuente Times New Roman (tamaño 12), se numerarán las líneas de manera consecutiva y las páginas, y se fijarán cuatro márgenes de 2,5 cm. Las referencias bibliográficas, tablas y figuras se incluirán en hojas separadas.

Los manuscritos incluirán en la primera página:

- Título: lo más conciso posible. No incluirá abreviaturas ni fórmulas químicas (excepto símbolos químicos para indicar isótopos). El formato del título será en negrita y formato tipo oración.
- Apellido de los autores, precedido de las iniciales del nombre, e indicando con un asterisco el autor para correspondencia. En caso de que pertenezcan a distintas instituciones, indicar a cada autor con números superíndices diferentes. Si un autor desea aparecer con dos apellidos, éstos deberán unirse con un guión.
- Nombre y dirección postal profesional de los autores. Si se quiere poner la dirección actual, deberá indicarse con una letra minúscula como superíndice.
- Correo electrónico del autor a quien se va a dirigir la correspondencia

Ejemplo:

J. Smith[1,a],* P.E. Jones[2], J.M. Garcia[1,3] and P.K. Martin Jr[2]

[1]Department of Animal Nutrition, Scottish Agricultural College, West Main Road, Edinburgh EH9 3JG, Reino Unido

[2]Animal Science Department, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7621, EE. UU.

[3]Laboratorio de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, C. Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza, España

[a]Dirección actual: Dairy Science Laboratory, AgResearch, Private Bag 11008, Palmerston North, Nueva Zelanda

*Autor para correspondencia: jsmith@edi.uk

El manuscrito incluirá a continuación:

- Resumen, que deberá tener un máximo de 250 palabras, e incluirá brevemente los objetivos del trabajo, el material y métodos, los resultados más relevantes y las conclusiones. Se evitará el uso de abreviaturas.
- Palabras clave, un máximo de 6, evitando las ya incluidas en el título.
- En Inglés: Título del artículo, Resumen, Palabras clave.
- Apartados de los artículos de investigación: Introducción, Materiales y métodos, Resultados, Discusión y Referencias bibliográficas (ver especificaciones en el siguiente apartado), tablas y figuras. Los resultados y discusión se pueden presentar de manera conjunta.

**Las notas técnicas,** referidas a trabajos experimentales de extensión reducida, no excederán de 2.000 palabras, incluidas Tablas y/o Figuras, y deberán incluir la traducción al inglés del Título del artículo, Resumen, Palabras clave, título de tablas y pie de figuras.

## 3. Apartados del manuscrito

El formato de títulos de los apartados será en negrita, pero el de los subapartados no.

- **Introducción**: deberá explicar la finalidad del artículo. El tema se expondrá de la manera más concisa posible, indicando al final los objetivos del trabajo.
- **Material y métodos**: deberá aportar la información necesaria que permita la réplica del trabajo, incluyendo el nombre del fabricante de productos o infraestructuras utilizadas. Los manuscritos deberán incluir una descripción clara y concisa del diseño experimental y de los análisis estadísticos realizados. Se indicará el número de individuos, valores medios y medidas de variabilidad.
- **Resultados**: los resultados se presentarán en Tablas y Figuras siempre que sea posible. No se repetirá en el texto la información recogida en las Figuras y Tablas. Se recomienda presentar el valor de significación para que el lector pueda tener la mayor información.
- **Discusión**: deberá interpretar los resultados obtenidos, teniendo en cuenta además otros trabajos publicados. Finalizará indicando las conclusiones a las que han llegado los autores del manuscrito, así como las posibles implicaciones prácticas que de ellas puedan derivarse.
- **Agradecimientos**: podrá mencionarse el apoyo prestado por personas, asociaciones, instituciones y/o fuentes de financiación del trabajo realizado.

- **Referencias bibliográficas**: sólo se citarán aquellas referencias relacionadas con el trabajo o que contribuyan a la comprensión del texto. Como máximo se podrán utilizar 60 citas en los artículos de investigación. En las revisiones podrán figurar las citas que sean necesarias. En el manuscrito, se mantendrá el orden cronológico en caso de citar varios autores. Las referencias en el texto deben hacerse siguiendo los siguientes ejemplos:
    * un autor (Padilla, 1974)
    * dos autores (Vallace y Raleigh, 1967)
    * más de 3 autores: (Vergara *et al*., 1994)

Los nombres de entidades u organismos que figuren como autores, por ejemplo Dirección General de la Producción Agraria (DGPA), deberán citarse completos en la Bibliografía la primera vez. Las referencias múltiples se harán según se indica en el siguiente ejemplo: (Martínez et al., 1971 y 1979). Se añadirá una letra al año de publicación para identificar artículos del mismo autor y del mismo año (2012a, b). La cita podrá formar parte de la frase en el texto, como sigue "como indicaban Gómez *et al*. (1969)".

Al final del trabajo se citarán en orden alfabético por autor todas las referencias utilizadas en el texto. Se podrán citar trabajos "en prensa", siempre que el documento haya sido aceptado para su publicación. En casos excepcionales, se aceptarán menciones como "Comunicación personal" o "Resultados no publicados", aunque no constarán entre las referencias bibliográficas. Se indican a continuación ejemplos de cita bibliográfica (artículo, libro, capítulo de libro, acta de Congreso, fuente electrónica, documento de trabajo, documento legal).

Artículo

– Blanc F, Bocquier F, Agabriel J, D'Hour P, Chilliard Y (2006). Adaptative abilities of the females and sustainability of ruminant livestock systems. A review. Animal Research 55: 489-510.

Capítulo de libro

– Verlander JW (2003). Renal physiology. En: Textbook of Veterinary Physiology (Ed. JG Cunningham), pp. 430-467. W.B. the Saunders Company, an Elsevier imprint.

Libro

– AOAC (1999). Official Methods of Analysis, 16th. Ed. AOAC International, MD, USA. 1141 pp.

Acta de congreso

– Bispo E, Franco D, Monserrat L, González L, Pérez N, Moreno T (2007). Economic considerations of cull dairy cows fattened for a special market. Proceedings of 53rd International Congress of Meat Science and Technology, 5-10 agosto 2007, Beijing, China, pp. 581-582.

Fuente electrónica

– FAO (2011). Food and Agriculture Organization statistical database. Disponible en http://faostat.fao.org/default.aspx (30 enero 2012).

Documento oficial

– MARM (2009). Anuario de estadística agroalimentaria y pesquera 2007. Subsecretaría General Técnica, Ministerio de Medio Ambiente, Medio rural y Marino, 937 pp.

En la pagina web de AIDA se puede descargar el fichero de estilo de endnote "ITEA.ens".

- **Tablas y Figuras**: su número se reducirá al mínimo necesario, y los datos no deberán ser presentados al mismo tiempo en forma de tabla y de figura. Se recomienda un tamaño de 8 o 16 cm. Se incluirán en el mismo documento, pero en hojas separadas al texto, y señalando su emplazamiento aproximado. Las tablas y figuras llevarán numeración diferente y deberán estar citadas en el texto. Sus encabezamientos deberán redactarse de modo que el sentido de la ilustración pueda comprenderse sin necesidad de acudir al texto. Los encabezamientos y pies de figuras deberán aparecer en español e inglés (en cursiva).

Para el diseño de las tablas no se usarán tabulaciones. No se utilizarán líneas verticales entre columnas ni horizontales entre filas. Sólo se separarán con líneas horizontales los títulos.

Ejemplo de tabla:

Tabla 3. Tarjetas de productos hipotéticos expuestos a los encuestados

*Table 3. Hypothetical products cards shown to those surveyed*

| Nº Tarjeta | Precio | Tipo de carne | Origen | Sistema |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 22 €/kg | Lechal | Nacional | Convencional |
| 2 | 22 €/kg | Cebo | Extranjero | Ecológico |
| 3 | 18 €/kg | Lechal | CLM | Ecológico |
| 4 | 18 €/kg | Ternasco | Extranjero | Convencional |
| 5 | 18 €/kg | Cebo | Nacional | Convencional |
| 6 | 14 €/kg | Lechal | Extranjero | Convencional |
| 7 | 14 €/kg | Cebo | CLM | Convencional |
| 8 | 22 €/kg | Ternasco | CLM | Convencional |
| 9 | 14 €/kg | Ternasco | Nacional | Ecológico |

Fuente: Diaz *et al.* (2013)

Las figuras se presentarán con la mayor calidad posible. Se podrán presentar en blanco y negro o en color. Los dibujos, gráficos, mapas y fotografías se incluirán como figuras. Para mayor claridad en las gráficas se recomienda el uso, en primer lugar, de líneas continuas; en segundo lugar, de puntos; y en último lugar, de rayas. Se recomienda el uso de símbolos □, ■, ○, ■, ▲, Δ, ◊, ♦, +, y ×. No utilizar líneas de división horizontales en el gráfico. Incluir barras de error cuando no entorpezcan la interpretación de la figura. En los ejes figurarán las unidades de las medidas referidas (entre paréntesis o separadas por coma). El número de la figura y su leyenda se indicarán en la parte inferior de la misma. Si las figuras se confeccionan con un programa distinto de los del paquete Office deberán ser de una calidad de 300 píxeles por pulgada o superior o escalable. Se enviarán las fotografías por separado como archivos de imagen (jpg, tiff o similar) con una resolución final de al menos 300 píxeles por pulgada.

## 4. Normas de estilo

- Se aplicará el Sistema Internacional de Unidades.
- Los decimales se indicarán en español con una coma (,) y en inglés con un punto (.).
- Las abreviaturas se definirán la primera vez que se citen en el texto.
- Las frases no podrán comenzar con una abreviatura o un número.
- Los nombres latinos de géneros, especies y variedades se indicarán en cursiva y los nombres de cultivares entre comillas simples (p. ej. 'Sugar Baby').
- Los nombres de hormonas o productos químicos comenzarán con minúsculas (sulfato de metilo, en vez de Sulfato de Metilo).
- Las fórmulas químicas se nombrarán según las normas IUPAC (p. ej. H2SO4 en vez de SO4H2) y los nombres comerciales comenzarán con mayúscula (p.ej. Foligón).
- Las llamadas en nota a pie de página o cuadro deberán ser las menos posibles y, en todo caso, se indicarán mediante números correlativos entre paréntesis (p. ej. (1), (2), evitando el uso de asteriscos, letras o cualquier otro signo).
- Los niveles de significación estadística no necesitan explicación (* = P<0,05; ** = P<0,01; ***= P<0,001; NS = no significativo).

Volumen 111
Número 1
Marzo 2015

# itea

información técnica económica agraria

www.aida-itea.org

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO




Calidad de Revistas Científicas Españolas
FECYT | FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA LA CIENCIA Y LA TECNOLOGÍA | 2014