itea

información técnica económica agraria

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO



Volumen 118

Número 1

Marzo 2022

aida-itea.org

itea

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

2022- AÑO LIII Vol. 118 N.º 1 http://dx.doi.org/10.12706/itea	**DIRECCIÓN Y REDACCIÓN** Avda. Montañana, 930 50059 ZARAGOZA (ESPAÑA) Tel.: 34-976 716305 Fax.: 34-976 716335 E-mail: direccion@aida-itea.org	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 2386-3765 INO Reproducciones, S.A. Pol. Malpica, calle E, 32-39 (INBISA II, nave 35) 50016 Zaragoza

DIRECCIÓN: Albina Sanz, CITA de Aragón. España

EDICIÓN CIENTÍFICA: José Manuel Alonso, CITA de Aragón. España
Javier Álvarez, Universidad de Lleida. España
Paula Gaspar, Universidad de Extremadura. España
Gabriel Pardo, CITA de Aragón. España
Ana Pina Sobrino, CITA de Aragón. España
Helena Resano, IA2-Universidad de Zaragoza. España
Guillermo Ripoll, CITA de Aragón. España
Ana Isabel Sanjuán, CITA de Aragón. España

EDICIÓN TÉCNICA: María Salillas, Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. España

COMITÉ DE REDACCIÓN: Alfonso Abecia, Universidad de Zaragoza. España
Jorge Álvaro, EEAD Zaragoza. España
Arancha Arbeloa, EEAD Zaragoza. España
Carlos Calvete, CITA de Aragón. España
Fernando Escriu, CITA de Aragon. España
Vicente González, CITA de Aragón. España
Cristina Mallor, CITA de Aragón. 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 • Camilla Moonen, Scuola Superiore Sant'Anna di Pisa, Italia • Mª Teresa Muiño, Universidad de Zaragoza, España • César Revoredo-Giha, SAC, Reino Unido • Ricardo Revilla, 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 y EBSCO.

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.

https://www.aida-itea.org/index.php/revista-itea/presentacion-itea



Foto y Texto de portada: Guillermo Ripoll

Los pigmentos de la carne están en continua transformación, desde el color rojo-púrpura apagado y poco atractivo de la carne recién cortada, pasando por el rojo brillante y apetecible de la oximioglobina, para acabar (o no) con el marrón desagradable de la metamioglobina. En función de la proporción de cada pigmento presente en la superficie de la carne, más o menos querremos llevarnos esa pieza a casa. La carne es un producto agradecido pero delicado, y cuando no se le trata bien nos lo hace saber. Así, cuando el envasado al vacío del lomo de la foto no fue el correcto, dos manchas de metamioglobina destacaban sobre el intenso rojo de la oximioglobina, mirándonos como diciendo "tened más cuidado".

Agradecimiento

Desde el Comité editorial de la Revista ITEA-Información Técnica Económica Agraria, queremos agradecer a todos los evaluadores de artículos su colaboración con la Revista ITEA. Cada artículo precisa para su publicación en una revista indexada de una evaluación "por pares", interviniendo a menudo en el proceso de evaluación un tercer evaluador. A lo largo del 2021, han colaborado en el proceso de evaluación de los artículos publicados en la Revista ITEA 109 revisores. Conocedores de que la evaluación de un artículo para su publicación es una tarea que resta al investigador tiempo de dedicación a sus trabajos de investigación y que a menudo el evaluador realiza esta revisión en su tiempo libre, hacemos pública la relación de evaluadores de artículos que han pasado un proceso de revisión en la Revista ITEA en el año 2021 en señal de agradecimiento, haciendo notar que algunos evaluadores desean permanecer en el anonimato, por lo que la relación no es completa.

José Alfonso Abecia Martínez
Raúl Allende Molar
Manuel Álvarez Rodríguez
Inmaculada Argemi Armengol
Xavier Averós Florensa
Isabel Bardají Azcárate
Alejandro Belanche
Irene Blanco
Isabel Blanco Penedo
Raúl Bodas Rodríguez
Silvana Bravo
Javier Calatrava
Julia Calderón Díaz
Luis Calvo Adiego
Marimar Campo
Ana Carrapiso Martínez
Ángel Luis Ceular
Edilberto Chacón
Ángel Cobos
Sandra Costa-Roura
Juan Pablo Damián
Montserrat Dueñas Patón
Héctor Escalona-Buendía
Emma Fábrega
Maria Font-i-Furnols
Aline Freitas de Melo
Pilar Frutos
Beatriz Gallardo
Rosa Gallardo Cobos
Carmen Gallo
Ana Garcés-Claver
Teresa Garcia Lopez de Meneses
Juan García Casco
Marta García Molla
Emilio Gómez Izquierdo
Vicente González García
José González Gómez
Manuel González Gómez
Gustavo González-Gómez
M. Dolores Guerrero-Baena
Federico Gutiérrez Miceli
Ana L. Ibáñez
Eva Iglesias
Karla Inostroza
Ramón Isla
Margalida Joy
Teresa Juan
Inmaculada Larena Nistal
Sandra Lobón Ascaso
Josefa López Marín
Marco López Santiago
Sergi López Verges

María Dolores Luque de Castro
Tiziana de Magistris
Daniel Martín Collado
Susana Martín
Adela Martínez Fernández
Pedro Arturo Martínez Hernández
Felipe Martínez Pastor
Javier Mateo Oyagüe
Iván Mateos Álvarez
Amparo Melián Navarro
Eduardo de Mercado
Francisco Javier Mesías Díaz
María José Milán Sendra
José Manuel Mirás Avalos
Jessica Molin
Eduarda Molina-Alcaide
Patrocinio Morrondo
Ana Olaizola Tolosana
José Luis Olleta Castañer
Carlos Palacios
Daniel Palmero Llamas
Begoña Panea Doblado
Arturo Pardo-Giménez
Luz Peña Avelino
Margarita Pérez Clavijo
Dolores Pérez Marín
Rosaura Pérez Pe
Darío Piguin
Paloma Rebollar
Helena Resano
Isabel Revilla Martín
Ana Isabel Rey
Dianela Rincón Prieto
Guillermo Ripoll
Anabel Rodríguez Racca
José Ruiz Chico
María Ruiz Franco
Raúl Sánchez Sánchez
Blanca Sánchez Toledano
Ana Sanjuán
Albina Sanz
Beatriz Serrano
Mario Soliño
Zoila Solis Hidalgo
Xavier Such
Natalia Szerman
Alfredo Teixeira
Olaia Urrutia
Alma Velarde Mendívil
Lluïsa Vilaplana Holgado
Elena Villacrés Poveda
Daniel Villalba Mata

Sumario

Producción Vegetal

Susceptibilidad a plaguicidas de la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en el centro de México.
Insecticide Susceptibility of the Diamondback Moth (Plutella xyloestella *L.*) (*Lepidoptera: Plutellidae*) *in central Mexico*.
José Francisco Rodríguez-Rodríguez, Ernesto Cerna-Chávez, Yisa María Ochoa-Fuentes, Jerónimo Landeros-Flores y Luis Patricio Guevara-Acevedo 5

Salinidad y silicio en el crecimiento vegetativo y la concentración de pigmentos en cuatro cultivares de higuera (*Ficus carica* L.).
Salinity and silicon in vegetative growth and pigment concentration in four fig cultivars (Ficus carica *L.*).
Carlos Alberto Garza-Alonso, Fernando de Jesús Carballo-Méndez, Pablo Alán Rodríguez-Salinas, Emilio Olivares-Sáenz y Juan Carlos Rodríguez-Ortiz 19

Producción Animal

Efecto del modo de cría de borregos de raza Merina nacidos en otoño sobre su actividad sexual, desarrollo testicular y secreción de testosterona en primavera.
Effect of breeding mode on the triggering of puberty in autumn-born Merino ram-lambs.
Francisco Antonio Arrebola-Molina, Esteban Castillejo-Lacalle, Francisco Borjas-Muñoz, Francisco Jesús Querino-Santiago, Francisca Cecilia Redondo-Cardador y José Alfonso Abecia 36

Pradera de *Lolium perenne* y *Trifolium repens* en Asturias. I. Evolución de la composición química y de la digestibilidad *in vivo* sobre vacas frisonas a lo largo del año.
Sown meadows of Lolium perenne *and* Trifolium repens *in Asturias. I. Evolution of the chemical composition and in vivo digestibility on Friesian cows throughout the year.*
Begoña de la Roza-Delgado, Adela Martínez-Fernández, María Sagrario Modroño y Alejandro Argamentería 48

Potencial nutricional y fitohelmíntico de los extractos acuosos de *Tithonia diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) en pequeños rumiantes en el trópico mexicano.
Nutritional and phytohelminthic potential of the aqueous extracts of Tithonia diversifolia *(Asteraceae) in sheep in the Mexican tropics.*
José de la Cruz-López, Manuel M. Hernández-Villegas, Manuel E. Aranda-Ibáñez, Gloria I. Bolio-López, Miguel A. Velázquez-Carmona y Samuel Córdova-Sánchez 69

Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión.
Doppler Ultrasonography and its application in bovine reproduction: a review.
Uxía Yáñez, Juan J. Becerra, Pedro G. Herradón, Ana I. Peña y Luis A. Quintela 82

Economía Agraria

Análisis del impacto multifacético de la componente monetaria en la elección de los aceites de oliva.
Analysis of the multifaceted impact of the monetary component in the choice of olive oils
Manuel Arriaza, Melania Salazar-Ordóñez y Macario Rodríguez-Entrena 101

Análisis coste-eficacia en la gestión de subproductos ganaderos de vacuno de leche para la reducción de la contaminación por nitrógeno.
Cost-effectiveness analysis of livestock by-products management of dairy cattle for the reduction of nitrogen pollution.
M. Soledad Muñoz-Luque y Julio Berbel 119

Evaluación de la sostenibilidad de tres sistemas de cultivo de viña característicos de la Región de Murcia.
Sustainability assessment of three vine cropping systems in the Region of Murcia.
Begoña García-Castellanos, Benjamín García-García y José García-García 137

Susceptibilidad a plaguicidas de la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en el centro de México

José Francisco Rodríguez-Rodríguez[1], Ernesto Cerna-Chávez[2], Yisa María Ochoa-Fuentes[2,*], Jerónimo Landeros-Flores[2] y Luis Patricio Guevara-Acevedo[3]

[1] Estudiante de Doctorado en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
[2] Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro. Calzada Antonio Narro 1923, 25315, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
[3] Instituto Tecnológico de Roque, Km 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Apartado Postal 508, 38110, Celaya; Guanajuato, México

Resumen

Plutella xylostella es la plaga más importante en el cultivo del brócoli. Ocasiona incrementos significativos en los costes de producción y afecta a la calidad del producto que puede llegar a ser rechazado para su exportación. En México, el control de esta plaga se basa principalmente en el empleo de plaguicidas químicos, lo que aumenta la presencia de residuos en el producto comestible, así como el riesgo de aparición de resistencia a los plaguicidas. Por ello, se realizaron bioensayos para determinar la susceptibilidad de larvas de tercer estadio de *P. xylostella* a spinosad, abamectina, fipronil, cipermetrina, lambda cyhalotrina, imidacloprid, indoxacarb y chlorphenapyr sobre seis poblaciones del centro de México y una línea susceptible para detectar la posible presencia de fenómenos de resistencia. Los resultados muestran que las poblaciones de San Luis de la Paz y Valle de Santiago presentan problemas de resistencia para cipermetrina, mientras que el resto de las poblaciones muestran una tendencia al desarrollo de resistencias contra este insecticida. Para el resto de los plaguicidas evaluados no se observaron problemas de resistencia en larvas de tercer estadio de ninguna de las poblaciones en estudio.

Palabras clave: Cipermetrina, fipronil, abamectina, indoxacarb, resistencia.

Insecticide Susceptibility of the Diamondback Moth (*Plutella xyloestella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in central Mexico

Abstract

Plutella xylostella is the most important pest in broccoli cultivation, causing significant increases in production costs, by affecting the quality of the product that is rejected for export. In Mexico, the control of this pest is based mainly on chemical pesticides, which increases the presence of residues in the edible product, as well as the development of resistance to pesticides. Therefore, resistance tests were ca-

* Autor para correspondencia: yisa8a@yahoo.com

Cita del artículo: Rodríguez-Rodríguez JF, Cerna-Chávez E, Ochoa-Fuentes YM, Landeros-Flores J, Guevara-Acevedo LP (2022). Susceptibilidad a plaguicidas de la polilla de las crucíferas (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) en el centro de México. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 5-18. https://doi.org/10.12706/itea.2021.014

rried out to determine the susceptibility of third instar larvae of *P. xylostella* to spinosad, abamectin, fipronil, cypermethrin, lambda cyhalothrin, imidacloprid, indoxacarb and chlorphenapyr on six populations of the central Mexico and one susceptible line. The results show that the populations of San Luis de la Paz and Valle de Santiago present resistance problems for cypermethrin, while the rest of the populations show a tendency to develop resistance against this insecticide. For the rest of the pesticides evaluated, there are no resistance problems in third instar larvae of any of the populations under study.

Keywords: Cypermethrin, fipronil, abamectin, indoxacarb, resistance.

Introducción

El cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* L.) es socioeconómicamente importante en la región del Bajío en México (Montesinos, 2005), siendo el estado de Guanajuato el principal productor, aportando el 63 % de la producción nacional con un valor de $ 1.791.255 MXN (SIAP, 2017a). Este cultivo representa una importante fuente de divisas y significativos beneficios para los productores (Bujanos-Muñiz *et al.,* 2013) ya que el 80 % de su producción se destina a la exportación, siendo Estados Unidos su principal mercado en ventas internacionales (SIAP, 2017b). *Plutella xylostella* (L.) es la plaga más importante a nivel mundial en los cultivos de crucíferas (Fathi *et al.,* 2011; Zalucki *et al.,* 2012; Fathipour *et al.*, 2019. Ocasiona incrementos significativos en los costes de producción (Li *et al.,* 2016), ya que es una especie altamente migratoria y muy destructiva (Heckel, 2006). Afecta al crecimiento y desarrollo de la planta generando malformaciones, pudiendo incluso llegar a causar su muerte. Sin embargo, su principal daño es el de afectar a la calidad del producto debido a la presencia de huevos y larvas que ocasiona su rechazado para la exportación (Da Silva Carvalho, 2008). Actualmente, en México, el control de la polilla de las crucíferas se basa principalmente en el empleo de plaguicidas químicos de amplio espectro (Tabone *et al.,* 2010 y 2012; Ferreira *et al.,* 2020). Desafortunadamente, la mayoría de esos plaguicidas son dañinos para el medio ambiente y se ha observado que producen múltiples efectos secundarios en artrópodos benéficos (depredadores, parasitoides y polinizadores) (Biondi *et al.,* 2012; Lu *et al.,* 2012; Ndakidemi *et al.,* 2016). Por otro lado, se pueden provocar efectos adversos para la salud humana por la presencia de sus residuos en el producto comestible, así como para el personal de campo (Bujanos-Muñiz *et al.,* 2013; Shoaib *et al.,* 2018). Además, debido al uso excesivo e inadecuado de este tipo de plaguicidas, la polilla de las crucíferas ha desarrollado resistencia a varios de los productos utilizados para su control (Talekar y Shelton, 1993; Tabashnik, 1994; Sun *et al.,* 2012; APRD, 2020). De acuerdo con la Arthropod Pesticide Resistance Data base (APRD), para el año 2020 *P. xylostella* había desarrollado resistencia a, aproximadamente, 95 compuestos con diferentes modos de acción, incluyendo: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, análogos de nereistoxina, benzoilureas, *Bacillus thuringiensis*, avermectinas, spinosinas, fenilpirazoles, indoxacarb, diacilhidrazinas y diamidas (APRD, 2020). Por todo ello, resulta necesario adoptar técnicas y tácticas para controlar a *P. xylostella* que, siendo económicamente satisfactorias, presenten menos efectos secundarios (Campos *et al.,* 2019). En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue generar conocimientos sobre la posible existencia de resistencia a plaguicidas de diferentes grupos toxicológicos en larvas de tercer estadio de la polilla de las crucíferas en México mediante la determinación de la susceptibilidad frente a ellos, de seis poblaciones de *P. xylostella* del estado del centro de México.

Material y métodos

Ubicación del experimento

La presente investigación se llevó acabo en el Laboratorio de Fitosanidad del Departamento de Ciencias Agropecuarias del Instituto Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque en Celaya, Guanajuato, México.

Plaguicidas

Se evaluaron los ocho plaguicidas químicos siguientes, representantes de subgrupos toxicológicos diversos: Glance® (abamectina), Entrust® SC (spinosad), Confidor® 70 WG (imidacloprid), Sunfire® 2 SC (chlorphenapyr), Cipermetrina® 200 CE (cipermetrina), Avaunt® EC (indoxacarb), Pateador® 5 EC (fipronil) y Lamdex® 5 EC (lambda cyhalotrina) (Tabla 1). Cada producto se evaluó a 6 dosis las cuales se determinaron en ensayos preliminares para que cubrieran una ventana biológica que comprendía mortalidades de 0-100 %.

Poblaciones de Plutella xylostella

Se estudiaron seis poblaciones de *P. xylostella* capturadas en el Estado de Guanajuato en las localidades siguientes: Valle de Santiago, Celaya, San José Iturbide, San Luis de la Paz, Abasolo y Juventino Rosas.

Tabla 1. Plaguicidas evaluados en diferentes poblaciones de *Plutella xylostella* del Estado de Guanajuato, México.
Table 1. Pesticides evaluated in different populations of Plutella xylostella *from the State of Guanajuato, Mexico.*

Plaguicida	Ingrediente activo	Subgrupo químico	Sitio de acción
Glance®	Abamectina	Avermectinas	Moduladores alostéricos del canal de cloruro regulado por glutamato.
Entrust® SC	Spinosad	Spinosinas	Moduladores alostéricos del receptor nicotínico de acetilcolina.
Confidor® 70 WG	Imidacloprid	Neonicotinoide	Moduladores competitivos del receptor nicotínico de acetilcolina.
Sunfire® 2 SC	Chlorphenapyr	Pirroles	Desacopladores de la fosforilación oxidativa a través de la interrupción del gradiente de protones.
Cipermetrina® 200 CE	Cipermetrina	Piretroide	Moduladores del canal de sodio.
Avaunt® EC	Indoxacarb	Oxidiazinas	Bloqueadores de los canales de sodio dependientes del voltaje.
Pateador® 5 EC	Fipronil	Fenilpirazol	Bloqueadores de los canales de cloruro activados por GABA.
Lamdex® 5 EC	Lambda cyhalotrina	Piretroide	Moduladores del canal de sodio.

Fuente: IRAC (2017).

Colecta de material biológico en campo

La colecta de los individuos se realizó de forma manual en lotes comerciales del cultivo de brócoli en las localidades antes mencionadas. Se colectaron larvas, pupas y adultos de *P. xylostella* y se trasladaron a cajas entomológicas (60 cm × 40 cm × 40 cm) en condiciones controladas de laboratorio (25 ± 2 °C, 65 % HR y 16:8 horas luz:oscuridad). Las larvas fueron alimentadas con plantas de brócoli de 50 días de edad, las cuales eran cambiadas cada 2 días; los adultos se alimentaron con una solución azucarada al 15 %, con la finalidad de asegurar su apareamiento y la oviposición. Los individuos de cada población se reprodujeron hasta F3 de modo que se pudiera disponer de suficientes larvas para su posterior estudio. Para la población susceptible se utilizaron individuos proporcionados por el Campo Experimental Bajío del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), reproducidos desde 1996 sin presión de selección por plaguicidas.

Bioensayos

Para la evaluación de los plaguicidas se empleó el método de la película residual (IRAC, 2017), utilizando larvas de tercer estadio de un día de edad *P. xylostella* seleccionadas con base a lo descrito por Bujanos-Muñiz *et al.* (2013). El método consiste en sumergir una hoja de una planta de brócoli de 40-50 días de edad en cada una de las soluciones en estudio por un tiempo de 10 s. Después se deja secar en papel absorbente durante una hora para eliminar excesos. Posteriormente se obtienen discos de esas hojas y son colocados en placas Petri provistas de papel absorbente saturado con agua y a cada uno de ellos se transfieren 10 larvas de *P. xylostella* mediante un pincel de pelo de camello 000. Todo el conjunto se colocó en una cámara climática a 27 °C, 50 % de humedad relativa (HR) y un fotoperiodo de 16:8 h luz:oscuridad. A las 24 h a partir del inicio del experimento se realizaron conteos de mortalidad de las larvas. El criterio utilizado para considerar que los individuos estaban muertos, fue el de estimularlos con un pincel de pelo de camello 000 en la parte dorsal, de modo que todo aquel que no respondía a dicho estímulo fue considerado como muerto. Se utilizó un diseño experimental al azar con 6 tratamientos y 1 tratamiento testigo blanco tratado con agua más adherente (1 mL L^{-1}), con 4 repeticiones por tratamiento.

Análisis estadístico

Con los datos obtenidos en los bioensayos se obtuvo la mortalidad corregida Abbott (Abbott, 1925). Los resultados de la corrección de mortalidad se sometieron a un Análisis Probit (Finney, 1971) para obtener la curva de respuesta concentración-mortalidad y así obtener la recta de regresión ponderada probit y, junto con otros datos, la concentación letal media (CL_{50}). Para ello se utilizó el programa estadístico computacional SAS System. Una vez obtenida la CL_{50} para las líneas de campo y la línea susceptible, se determinó la proporción de resistencia dividiendo los valores de la concentación letal media de las líneas de campo por la concentación letal media de la línea susceptible (Georghiou, 1962). En el presente artículo se considera que una población presenta problemas de resistencia cuando presenta una proporción de resistencia mayor o igual a 10.

Resultados

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en el análisis probit sobre la caracterización de la actividad plaguicida de los ocho compuestos ensayados sobre las larvas de tercer estadio de *P. xylostella* pertene-

Tabla 2. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de la línea susceptible de *Plutella xylostella,* tratadas con los ocho plaguicidas ensayados.
Table 2. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of the susceptible line of Plutella xylostella*, treated with eight pesticides tested.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P
Cipermetrina	43,2	26,7-78,5	143,4	y = –4,0266 + 2,4614x	<0,0001
Imidacloprid	1054	962,3-1147	3677	y = –9,1598 + 3,0303x	<0,0001
Lambda cyhalotrina	289,4	246,8-334,3	605,8	y = –9,8338 + 3,9950x	<0,0001
Spinosad	2,7	1,4-4,7	24,3	y = –0,5892 + 1,3485x	<0,0001
Fipronil	0,09	0,04-0,1	0,6	y = 1,5829 + 1,5715x	<0,0001
Indoxacarb	10,1	4,3-21	237,2	y = –0,9392 + 0,9350x	<0,0001
Chlorphenapyr	3,3	2,5-4,3	10,9	y = –2,3798 + 3,0188x	<0,0001
Abamectina	0,7	0,2-1,8	10,4	y = 0,1531 + 1,1074x	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

cientes a la línea susceptible (LS). Para la línea de campo de San Luis de la Paz, el insecticida cipermetrina presentó la proporción de resistencia más alta con un factor de 12,2 respecto a la línea susceptible, por lo que se puede considerar a esta línea de campo con problemas de resistencia a cipermetrina. Por su parte, el resto de plaguicidas evaluados muestran proporciones de resistencia menores de 3 (Tabla 3). En el caso de la línea de campo de San José Iturbide, para ninguno de los plaguicidas se superó el valor de 10 para la proporción de resistencia respecto a la línea susceptible (Tabla 4), siendo la cipermetrina el plaguicida para el que se obtuvo el valor más alto (7,3), aunque no se pueda considerar que se trate de una línea resistente a este insecticida. Para el resto de los plaguicidas restantes la proporción de resistencia no superó el valor de 2. Cipermetrina e indoxacarb presentaron las proporciones de resistencia más altas en el caso de la línea capturada en el Valle de Santiago, con valores de 11,4 y 4,4 respectivamente (Tabla 5). En el caso de la cipermetrina se deben tener en cuenta problemas de resistencia en esta zona productora. Por su parte, indoxacarb aún no muestra problemas de resistencia, pero se deben contemplar posibles problemas futuros si no se tiene un manejo adecuado de este plaguicida. Para las líneas de campo de Abasolo (Tabla 6), Celaya (Tabla 7) y Juventino Rosas (Tabla 8) no se detectaron problemas de resistencia a los plaguicidas evaluados. Sin embargo, se observa una tendencia al desarrollo de resistencia en el caso de la cipermetrina con proporciones de resistencia de 5,7; 9,0 y 9,7; respectivamente. En el caso de las líneas capturadas en Celaya y Juventino Rosas también se observó una ligera tendencia al desarrollo de resistencia a fipronil, con una proporción de resistencia de 4,9 y 4,2; respectivamente.

Tabla 3. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en San Luis de la Paz, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 3. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in San Luis de la Paz, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	528,2	433,0-664,7	1099	y = –10,9634 + 4,0264x	12,2	<0,0001
Imidacloprid	1019	895,2-1149	5881	y = –6,4973 + 2,1600x	0,9	<0,0001
Lambda cyhalotrina	414	335,1-524,2	907,7	y = –9,8381 + 3,7592x	1,4	<0,0001
Spinosad	3,2	1,2-7,1	26,3	y = –0,7133 + 1,4042x	1,2	<0,0001
Fipronil	0,2	0,1-0,5	3,0	y = 0,6774 + 1,2355x	2,9	<0,0001
Indoxacarb	18,5	8,8-35,4	267,6	y = –1,4000 + 1,1046x	1,8	<0,0001
Chlorphenapyr	4,7	4,1-5,4	20,0	y = –1,3876 + 2,0493x	1,4	<0,0001
Abamectina	1,8	0,9-4,2	45,7	y = –0,2360 + 0,9140x	2,5	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior, P.R.: Proporción de resistencia con respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Tabla 4. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en San José Iturbide, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 4. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in San José Iturbide, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	317,5	226,6-452,4	649,09	y = –10,3261 + 4,1274x	7,3	<0,0001
Imidacloprid	1227	882,1-1620	4849	y = –6,6325 + 2,1472x	1,2	<0,0001
Lambda cyhalotrina	401,8	329,6-494,1	790,4	y = –11,3589 + 4,3620x	1,4	<0,0001
Spinosad	3,0	1,3-6,2	24,8	y = –0,6925 + 1,4155x	1,1	<0,0001
Fipronil	0,1	0,04-0,2	0,9	y = 1,3390 + 1,4062x	1,1	<0,0001
Indoxacarb	17,2	12,8-22,9	371,4	y = –1,1881 + 0,9610x	1,7	<0,0001
Chlorphenapyr	4,5	2,8-6,7	20,01	y = –1,3284 + 2,0056x	1,4	<0,0001
Abamectina	1,3	0,5-4,1	73,2	y = –0,1055 + 0,7438x	1,9	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; P.R.: Proporción de resistencia respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Tabla 5. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en Valle de Santiago, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 5. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in Valle de Santiago, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	491,7	368,8-701,1	1056	y = –10,3983 + 3,8630x	11,4	<0,0001
Imidacloprid	1054	962,3-1147	2790	y = –9,1598 + 3,0303x	1	<0,0001
Lambda cyhalotrina	331,7	209,2-496,8	1075	y = –6,3253 + 2,5093x	1,1	<0,0001
Spinosad	2,5	1,9-3,1	34,5	y = –0,4487 + 1,1243x	0,9	<0,0001
Fipronil	0,2	0,1-0,2	6,5	y = 0,5819 + 0,8570x	2,1	<0,0001
Indoxacarb	43,9	22,6-86,5	468,1	y = –2,0507 + 1,2478x	4,4	<0,0001
Chlorphenapyr	4,1	1,7-7,1	19,7	y = –1,1530 + 1,8797x	1,2	<0,0001
Abamectina	1,1	0,4-2,8	15,3	y = –0,0695 + 1,1393x	1,6	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; P.R.: Proporción de resistencia con respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Tabla 6. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en Abasolo, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 6. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in Abasolo, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	245,4	219,0-273,3	822,3	y = –10,1825 + 3,9325x	5,7	<0,0001
Imidacloprid	1156	1043-1279	3749	y = –6,2469 + 2,3898x	1,1	<0,0001
Lambda cyhalotrina	382,2	298,8-507,5	965,8	y = –8,3006 + 3,2102x	1,3	<0,0001
Spinosad	1,5	0,5-3,0	13,9	y = –0,2372 + 1,3284x	0,6	<0,0001
Fipronil	0,1	0,09-0,2	1,4	y = 1,0835 + 1,3376x	1,6	<0,0001
Indoxacarb	14,5	7,0-28,5	428,8	y = –1,0162 + 0,8729x	1,4	<0,0001
Chlorphenapyr	4,7	3,9-5,6	37,1	y = –0,9785 + 1,4401x	1,4	<0,0001
Abamectina	2,4	2,0-3,0	22,4	y = –0,5165 + 1,3302x	3,4	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; P.R.= Proporción de resistencia con respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Tabla 7. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en Celaya, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 7. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in Celaya, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	388,4	330,8-464,4	822,6	y = –10,1825 + 3,9325x	9,0	<0,0001
Imidacloprid	411,1	367,5-457,7	1413	y = –6,2469 + 2,3898x	0,4	<0,0001
Lambda cyhalotrina	457,6	425,6-494,5	13,7	y = –10,1208 + 3,8041x	1,6	<0,0001
Spinosad	5,1	3,3-8,5	22,7	y = –0,8572 + 1,2006x	1,9	<0,0001
Fipronil	0,4	0,3-0,6	5,6	y = 0,3786 + 1,1954x	4,9	<0,0001
Indoxacarb	36,4	26,5-50,7	1151	y = –1,3343 + 0,8546x	3,6	<0,0001
Chlorphenapyr	5,6	1,7-9,4	22,7	y = –1,6016 + 2,1234x	1,7	<0,0001
Abamectina	0,6	0,3-1,3	13,7	y = 0,1546 + 0,9911x	1,0	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; P.R.: Proporción de resistencia con respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Tabla 8. Parámetros de la recta de regresión ponderada probit para la mortalidad de larvas de tercer estadio de *Plutella xylostella* capturadas en Juventino Rosas, tratadas con los ocho plaguicidas ensayados, y proporción de resistencia respecto a la línea susceptible.
Table 8. Parameters of the probit weighted regression line for the mortality of third instar larvae of Plutella xylostella *captured in Juventino Rosas, treated with eight pesticides tested, and resistance ratio with respect to the susceptible line.*

Insecticida	CL_{50} (ppm)	LFI-LFS	CL_{90} (ppm)	Ecuación Predicción	P.R.	P
Cipermetrina	420,0	345,9-524,3	783,7	y = –12,4133 + 4,7319x	9,7	<0,0001
Imidacloprid	1054	962,3-1147	2790	y = –9,1598 + 3,0303x	1	<0,0001
Lambda cyhalotrina	375,3	319,4-445,1	451,4	y = –9,5010 + 3,6905x	1,3	<0,0001
Spinosad	4,3	3,5-5,3	834,9	y = –0,8059 + 1,2616x	1,6	<0,0001
Fipronil	0,4	0,2-0,7	153,8	y = 0,4174 + 1,0696x	4,2	<0,0001
Indoxacarb	11,3	5,1-21,9	64,2	y = –1,1981 + 1,1338x	1,1	<0,0001
Chlorphenapyr	7,3	5,3-10,1	32,7	y = –1,7094 + 1,9746x	2,2	<0,0001
Abamectina	0,7	0,4-1,2	17,7	y = 0,1022 + 0,9432x	1,1	<0,0001

LFI: Limite Fiducial Inferior; LFS: Limite Fiducial superior; P.R.: Proporción de resistencia con respecto a la línea susceptible. CL_{50}: Concentración Letal Media; CL_{90}: Concentración Letal al 90 %.

Discusión

La susceptibilidad a plaguicidas en poblaciones criadas en laboratorio se puede ver influenciada por diferentes factores, como el tiempo sin exposición a plaguicidas, así como también su ubicación geográfica y las condiciones en las cuales son mantenidas. Wang *et al.* (2019) menciona que un coste de aptitud puede reducir el nivel de resistencia en una población cuando se elimina la presión de selección del plaguicida porque los efectos negativos de la pleiotropía se expresan con mayor fuerza. Este puede ser uno de los motivos por los que en los resultados obtenidos en esta investigación, las CL_{50} de los plaguicidas evaluados sobre la línea susceptible de *P. xylostella* difieren a lo descrito en investigaciones previas. Para cipermetrina, Shao *et al.* (2013) calcularon una CL_{50} de 3,55 ppm en una línea susceptible de *P. xylostella*. En lo referente a imidacloprid (CL_{50} de 1054 ppm) es 219,5 veces mayor al resultado obtenido por Ninsin (2004) en un insecticida neonicotinoide (acetamiprid) en la línea susceptible KOBII-NS. Para lambda cyhalotrina, la CL_{50} fue 289,45 ppm, siendo este resultado inferior a lo descrito por Bujanos-Muñiz *et al.* (2003) en otra línea susceptible donde determinaron una CL_{50} de 850 ppm. Por su parte Balasubramani *et al.* (2008) encontraron una CL_{50} de 10 ppm para la línea susceptible Lab-UK. En relación al spinosad, la CL_{50} de 2,73 ppm superó a lo observado en otras líneas susceptibles, con valores de 0,004 ppm (Barrera-Urzúa *et al.,* 2006) y 0,120 ppm (Shao *et al.,* 2013). La CL_{50} de Fipronil fue 0,09 ppm que resulta ser 2,2 veces más alto en comparación a otra línea susceptible evaluada por Barrera-Urzúa *et al.* (2006) para este mismo insecticida. Mohan y Gujar (2003) calcularon una CL_{50} de 0,22 ppm en la línea susceptible IARI 17-65. En relación al insecticida indoxacarb, se determinó una CL_{50} de 10,10 ppm resultando ser mayor a la obtenida con otras líneas susceptibles por otros autores. Así, Barrera-Urzúa *et al.* (2006), Shao *et al.* (2013), Santos *et al.* (2011) obtuvieron valores de 0,46 ppm; 0,52 ppm, y 0,2 ppm, respectivamente. Chlorphenapyr presentó una CL_{50} de 3,38 ppm superando en 8,4 veces el valor descrito por Shao *et al.* (2013). En el caso de abamectina, la CL_{50} (0,72 ppm) superó los resultados obtenidos por Shao *et al.* (2013) y Santos *et al.* (2011) que encontraron valores de 0,02 ppm y 0,01 ppm respectivamente.

El uso de productos de síntesis química es el principal método de control de *P. xylostella*. Por ello, el monitoreo de la resistencia a los plaguicidas se ha de convertir en uno de los factores más importantes a la hora de aplicar las estrategias de manejo de *P. xylostella* (Guo *et al.,* 2014; Sparks y Nauen, 2015). El desarrollo de la resistencia de *P. xylostella* a plaguicidas se ve influenciado por la frecuencia de aplicación de los mismos, por la utilización repetida de cultivos de Brassicaceae y por la capacidad de variación genética de las poblaciones de la plaga (Meghana *et al.,* 2018). El monitoreo de la resistencia genera información sobre las respuestas naturales de las poblaciones de *P. xylostella* a los plaguicidas y sobre la identificación de áreas geográficamente homogéneas con problemas de resistencia (Zhang *et al.,* 2016). En la presente investigación se evaluó el estado actual de la resistencia a ocho plaguicidas en diferentes poblaciones de *P. xylostella* en el estado de Guanajuato. La cipermetrina resultó mostrar los valores de la proporción de resistencia más altos en cada una de las poblaciones en estudio en comparación con la línea susceptible. En ello puede influir la migración de adultos resistentes a cipermetrina, considerando que *P. xylostella* es una plaga altamente migratoria (Furlong *et al.,* 2013). Jiang *et al.,* (2015) hallaron proporciones de resistencia mayores a 25,1 en líneas de campo para cipermetrina. Por su parte Zhang *et al.* (2016) obtuvieron una proporción de resis-

tencia superior a 69,76 veces en comparación a línea susceptible para este mismo insecticida, mientras que Bujanos-Muñiz *et al.* (2003) no encontraron problemas de resistencia (proporción de resistencia igual a 8) para una línea de campo de *P. xylostella* en el estado de Guanajuato. Estos resultados difieren a lo obtenido en este estudio, donde se encontró resistencia a cipermetrina en las líneas San Luis de la Paz (proporción de resistencia de 12,2) y Valle de Santiago (proporción de resistencia de 11,4), mientras que el resto de las líneas evaluadas presentan una tendencia a generar resistencia, demostrando que, en términos generales, se ha producido una pérdida de eficacia de la cipermetrina en el estado de Guanajuato.

Por otra parte, el resto de los plaguicidas evaluados (imidacloprid, lambda cyhalotrina, spinosad, indoxacarb, chlorphenapyr, abamectina y fipronil) presentaron una alta eficacia al obtenerse proporciones de resistencia por debajo de 5 para todas las poblaciones en estudio en comparación con línea susceptible. Ninsin (2004) obtuvo una proporción de resistencia de 77,3 para un insecticida neonicotinoide (acetamiprid), lo cual difiere a lo encontrado en esta investigación donde también se evaluó un insecticida del mismo grupo toxicológico (imidacloprid) y se obtuvo una proporción de resistencia máxima de 1,2 veces (San José Iturbide). Balasubramani *et al.* (2008) obtuvieron proporción de resistencia (107) para lambda cyhalotrina en líneas de campo de *P. xylostella*, por otro lado Bujanos-Muñiz *et al.* (2003) en un estudio sobre una línea de campo del estado de Guanajuato, no encontraron resistencia de este insecticida en *P. xylostella* (proporción de resistencia igual a 1), lo cual concuerda con los resultados de esta investigación donde no se muestran problemas de resistencia con un valor máximo de 1,6 (Celaya). En relación al spinosad, Jiang *et al.* (2015) y Zhang *et al.* (2016) describieron la aparición de fenómenos de resistencia en diferentes líneas de campo de *P. xylostella* con valores máximos de la proporción de resistencia de 34,4 y 21,4; respectivamente. Por su parte, Barrera-Urzúa *et al.* (2006) obtuvieron proporciones de resistencia de 12,5 y 10 para líneas de campo del estado de Guanajuato, superando lo encontrado en este estudio donde la proporción de resistencia más alta para spinosad fue de 1,9. Esto puede significar una disminución en la resistencia de *P. xylostella* en el estado de Guanajuato a spinosad, lo cual se puede atribuir a la puesta en práctica de sistemas de manejo de la resistencia a este insecticida. Sayyed *et al.* (2005) y Barrera-Urzúa *et al.* (2006) no hallaron resistencia de *P. xylostella* al producto fipronil con proporciones de resistencia de 1 y 0,7; coincidiendo con los resultados de esta investigación en la que se presenta un valor máximo de 4,9 (Celaya). Para el insecticida indoxacarb, Nehare *et al.* (2010) obtuvieron una proporción de resistencia de 31,3 en poblaciones de campo de *P. xylostella*. Por su parte, Barrera-Urzúa *et al.* (2006) en un estudio realizado sobre diferentes poblaciones de campo de *P. xylostella* en el estado de Guanajuato no describieron problemas de resistencia (proporción de resistencia de 1,7), lo cual coincide con lo encontrado en esta investigación, aunque se puede apreciar una pequeña disminución en la toxicidad de este insecticida. Para chlorphenapyr, Jiang *et al.* (2015) determinaron proporciones de resistencia en larvas de tercer estadio de *P. xylostella* que van de 2,9 a 260,1; mientras que Zhang *et al.* (2016) calcularon valores de 13,4. Estos resultados difieren a los presentados en este estudio donde se obtuvo un valor de la proporción de resistencia máximo de 2,2 (Juventino Rosas). En el caso de abamectina, Zhang *et al.* (2016) y Jiang *et al.* (2015) hallaron resistencia en líneas de campo de *P. xylostella* con valores de la proporción de resistencia de 95,15 y 31,4 veces, respectivamente, mientras que Santos *et al.* (2011) y Oliveira *et al.* (2011) no encontraron problemas de resistencia en *P.*

xylostella para este insecticida con proporciones de resistencia de 1,4 y 3,3; respectivamente. Por su parte, Barrera-Urzúa *et al.* (2006), en un estudio realizado con líneas de campo de *P. xylostella* en el estado de Guanajuato, calcularon una resistencia de 2 para benzoato de emamectina, dato que está en la línea de lo obtenido en esta investigación y que pone de manifiesto que en la zona en estudio no hay aumento en la resistencia de *P. xylostella* para las avermectinas investigadas.

Por todo lo anterior, considerando la importancia de *P. xylostella* en la zona productora del centro de México y su capacidad para desarrollar resistencia a los plaguicidas utilizados para su control, se considera necesario implementar prácticas de manejo de la resistencia a esos y a otros plaguicidas si se quiere mantener la susceptibilidad de la plaga a los mismos.

Conclusiones

En las poblaciones de San Luis de la Paz y Valle de Santiago se ha observado la existencia de resistencia por parte de larvas de tercer estadio de *P. xylostella* frente a cipermetrina, mientras que el resto de las poblaciones en estudio presentaron valores de la proporción de resistencia cercanos a 10 respecto a este producto. Para el resto de los plaguicidas evaluados no se encontró resistencia en larvas de tercer estadio de ninguna de las poblaciones en estudio, aunque en algunos casos se obtuvieron valores de la proporción de resistencia próximos a 10.

Referencias bibliográficas

Abbott WS (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18: 265-267. https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a.

APRD (2020). Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponible en: (Consultado: 5 de diciembre del 2020).

Balasubramani V, Sayyed AH, Crickmore N (2008). Genetic characterization of resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from India. Journal of Economic Entomology 101(6): 1911-1918. https://doi.org/10.1603/0022-0493-101.6.1911.

Barrera-Urzúa R, Bujanos-Muñiz R, Rodríguez-Maciel JC, Mora-Aguilera G, Martínez-Téllez MÁ (2006). Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) del estado de Guanajuato, México. Agrociencia 40(3): 355-362.

Biondi A, Desneux N, Siscaro G, Zappalà L (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. Chemosphere 87: 803-812. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.082.

Bujanos-Muñiz R, Rodríguez-Maciel JC, Byerly-Murphy KF, Hoy CW, Díaz-Gómez O (2003). Dilución de insecticidas y reducción de toxicidad sobre larvas de dorso de diamante (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Agricultura Técnica en México 29(2): 169-178.

Bujanos-Muñiz R, Marín-Jarillo A, Díaz-Espino LF, Gámez-Vázquez J, Ávila-Perches MA, Herrera-Vega R, Dorantes-González JRA, Gámez-Vázquez FP (2013). Manejo Integrado De La palomilla dorso de diamante *Plutella xylostella* (L.) en La Región Del Bajío, México. Instituto Nacional De Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro De Investigación Regional Centro Campo Experimental Bajío Celaya, Gto., México. Folleto Técnico Núm. 27.

Campos EV, Proença PL, Oliveira JL, Bakshi M, Abhilash PC, Fraceto LF (2019). Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. Ecological Indicators 105: 483-495. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038.

Da Silva Carvalho J (2008). *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): Efeito Da Sinigrina Aplicada Em Folhas De Couve E Brócolis. Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" Faculdade De Ciências Agrárias E Veterinárias Campus De Jaboticabal.

Fathi SAA, Bozorg-Amirkalaee M, Sarfaraz RM (2011). Preference and performance of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) on canola cultivars. Journal of Pest Science 84: 41-47. Meghana C, Jayappa J, Reddy NA, Devappa V, Sridhar V, Kattegoudar J (2018). Assessing susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) population of different geographic region to selected newer insecticides. Journal https://doi.org/10.1007/s10340-010-0324-3.

Fathipour Y, Kianpour R, Bagheri A, Karimzadeh J, Hosseininaveh V (2019). Bottom-up effects of *Brassica* genotypes on performance of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Protection 115: 135-141.

Ferreira EA, de Souza SA, Domingues A, Da Silva MMM, Monteiro Padial IMP, de Carvalho EM, Cardoso CAL, da Silva SV, Mussury RM (2020). Phytochemical Screening and Bioactivity of *Ludwigia* spp. in the Control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Insects 11(9): 596. https://doi.org/10.3390/insects11090596.

Finney DJ (1971). Probit Analysis 3rd Ed. Cambridge University Press, London, UK. 120 pp.

Furlong MJ, Wright DJ, Dosdall LM (2013). Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. Annual review of entomology 58: 517-541. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153605.

Georghiou GP (1962). Carbamate insecticides: Toxication synergized carbamates against twelve resistant strain of the house fly. Journal of Economic Entomology 55: 768-769. 768-772. https://doi.org/10.1093/jee/55.5.768.

Guo L, Liang P, Zhou X, Gao X (2014). Novel mutations and mutation combinations of ryanodine receptor in a chlorantraniliprole resistant population of *Plutella xylostella* (L.). Scientific Reports 4: 6924. https://doi.org/10.1038/srep06924.

Heckel DG (2006). Chemical and biological insecticides: resistance mechanisms and management in diamondback moth. En: The management of Diamondback Moth and other crucifer pests: proceedings of the 5th international workshop (Ed. A. M. Shelton, H. L. Collins, & Y. Zhang), pp. 30-43. China Agricultural Science and Technology Press.

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (2017). IRAC susceptibility test method 018 Disponible en: http://www.irac-online.org/methods/plutella-xylostella-larvae/ (Consultado: 29 de Junio del 2017).

Jiang T, Wu S, Yang T, Zhu C, Gao C (2015). Monitoring field populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for resistance to eight insecticides in China. Florida Entomologist 98(1): 65-73.

Li Z, Feng X, Liu SS, You M. Furlong MJ (2016). Biology, ecology, and management of the Diamondback moth in China. Annual Review of Entomology 61(1): 277-296. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023622.

Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Guo YY, Desneux N (2012). Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. Nature 487: 362-365. https://doi.org/10.1038/nature11153.

Meghana C, Jayappa J, Reddy NA, Devappa V, Sridhar V, Kattegoudar J (2018). Assessing susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) population of different geographic region to selected newer insecticides. Journal of Entomology and Zoology Studies 6(1): 320-327.

Mohan M, Gujar GT (2003). Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to insecticides and role of detoxification enzymes. Crop protection 22(3): 495-504. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00201-6.

Montesinos SG (2005). Modelo de manejo de las unidades calor en el cultivo de brócoli y sus principales plagas. Memorias del VI Seminario Técnico: Tecnología de producción de las crucíferas. COTECO. Guanajuato, México. 95 p.

Ndakidemi B, Mtei K, Ndakidemi, PA (2016). Impacts of synthetic and botanical pesticides on beneficial insects. Agricultural Sciences 7(6): 364-372. https://doi.org/10.4236/as.2016.76038.

Nehare S, Moharil MP, Ghodki BS, Lande GK, Bisane KD, Thakare AS, Barkhade UP (2010). Biochemical analysis and synergistic suppression of indoxacarb resistance in *Plutella xylostella* L. Journal of Asia-Pacific Entomology 13(2): 91-95. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2009.12.002.

Ninsin KD (2004). Acetamiprid resistance and cross resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Pest Management Science 60(9): 839-841. https://doi.org/10.1002/ps.933.

Oliveira ACD, Siqueira HÁAD, Oliveira JVD, Silva JED, Michereff Filho M (2011). Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. Scientia Agricola 68(2): 154-159. https://doi.org/10.1590/S0103-90162011000200004.

Santos VC, De Siqueira HAA, Da Silva JE, De Farias MJDC (2011). Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. Neotropical Entomology 40(2): 264-270. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000200017.

Sayyed AH, Attique MNR, Khaliq A, Wright DJ (2005). Inheritance of resistance and cross resistance to deltamethrin in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. Pest Management Science 61(7): 636-642. https://doi.org/10.1002/ps.1031.

Shao ZR, Feng X, Li S, Li ZY, Huang JD, Chen H, Hu ZD (2013). Guideline for insecticide resistance monitoring of *Plutella xylostella* (L.) on cruciferous vegetables. China Agriculture Press., Beijing, China.

Shoaib A, Elabasy A, Waqas M, Lin L, Cheng X, Zhang Q, Shi ZH (2018). Entomotoxic effect of silicon dioxide nanoparticles on *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory conditions. Toxicological & Environmental Chemistry 100(1): 80-91. https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1387786.

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2017a). Disponible en: http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/ (Consultado: 29 de Junio del 2017).

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) (2017b). Casi la totalidad de las verduras mexicanas congeladas van al extranjero. Disponible en: https://www.gob.mx/siap/articulos/casi-la-totalidad-de-las-verduras-mexicanas-congeladas-van-al-extranjero?idiom=es (Consultado: 01 de Marzo del 2017).

Sparks TC, Nauen R (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide Biochemistry and Physiology 121: 122-128. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014.

Sun JY, Liang P, Gao XW (2012). Cross-resistance patterns and fitness in fufenozide-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Pest Management Science 68: 285-289. https://doi.org/10.1002/ps.2258.

Tabashnik BE (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Annual Review of Entomology 39: 47-79. https://doi.org/10.1146/annurev.en.39.010194.000403.

Tabone E, Bardon C, Desneux N, Wajnberg E (2010). Parasitism of different Trichogramma species and strains on *Plutella xylostella* L. on greenhouse cauliflower. Journal of Pest Science volume 83: 251-256. https://doi.org/10.1007/s10340-010-0292-7.

Tabone E, Bardon C, Desneux N (2012). Study of dispersal as a selection criterion for Trichogrammatidae for biological control in cauliflower greenhouses. Acta Horticulturae 927: 227-235. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.927.25.

Talekar NS, Shelton AM (1993). Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Annual Review of Entomology 38: 275-301. https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.001423.

Wang L, Walter GH, Furlong MJ (2019). Temperature, deltamethrin resistance status and performance measures of *Plutella xylostella*: complex responses of insects to environmental variables. Ecological Entomology 45(2): 345-354 https://doi.org/10.1111/een.12805.

Zalucki MP, Shabbir A, Silva R, Adamson D, Shu-Sheng L, Furlong MJ (2012). Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? Journal of Economic Entomology 105: 1115-1129. https://doi.org/10.1603/EC12107.

Zhang S, Zhang X, Shen J, Mao K, You H, Li J (2016). Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China. Pesticide Biochemistry and Physiology 132: 38-46. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.01.007.

(Aceptado para publicación el 21 de abril de 2021)

Salinidad y silicio en el crecimiento vegetativo y la concentración de pigmentos en cuatro cultivares de higuera (*Ficus carica* L.)

Carlos Alberto Garza-Alonso[1], Fernando de Jesús Carballo-Méndez[1,*], Pablo Alán Rodríguez-Salinas[1], Emilio Olivares-Sáenz[1] y Juan Carlos Rodríguez-Ortiz[2]

[1] Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía. Av. Francisco Villa S/N, col. Ex Hacienda el Canadá, 66050 General Escobedo, Nuevo León, México

[2] Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Carretera San Luis – Matehuala Km. 14,5, Ejido Palma de la Cruz, 78321 Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., México

Resumen

La higuera (*Ficus carica* L.) es una planta mediterránea apreciada por sus frutos de alta calidad organoléptica y elevado valor comercial, los cuales son ricos en nutrientes y compuestos antioxidantes. La salinidad es uno de los principales factores que afectan a la producción de cultivos, sin embargo, la aplicación de silicio ha mostrado tener efectos positivos en plantas sometidas a salinidad. Por ello, en el presente trabajo se estudiaron los efectos de la salinidad y el silicio en el crecimiento vegetativo y la concentración de pigmentos en hojas de cuatro cultivares de higuera: 'Brown Turkey', 'Kadota', 'Black Mission' y 'Adriatic'. A dichas plantas se les aplicó diariamente una solución de 50 mg L^{-1} de silicio en fase de propagación. Posteriormente, en la fase de crecimiento, las plantas fueron sometidas a aplicaciones foliares de una solución de 50 mg L^{-1} de silicio y regadas con soluciones salinas de 1 dS m^{-1}, 5 dS m^{-1} y 10 dS m^{-1}. Los cultivares de higuera mostraron diferencias en brotación, enraizamiento y crecimiento general de las plantas. La salinidad afectó de forma negativa el crecimiento de las plantas, mientras que el silicio favoreció el crecimiento y el incremento en la concentración de pigmentos fotosintéticos. Una conductividad eléctrica igual o menor a 5 dS m^{-1} no representa problemas para el crecimiento inicial de este frutal, mientras que la aplicación de silicio mostró efectos benéficos independientemente del cultivar y la conductividad eléctrica, especialmente cuando se aplicó mediante el riego en la fase de propagación.

Palabras clave: Cloruro de sodio, dióxido de silicio, nutrición vegetal, propagación vegetativa.

Salinity and silicon in vegetative growth and pigment concentration in four fig cultivars (*Ficus carica* L.)

Abstract

The fig tree (*Ficus carica* L.) is a Mediterranean plant appreciated for its high organoleptic quality fruits and high commercial value, which are rich in nutrients and antioxidant compounds. Salinity is one of the main factors affecting crop production, however, the application of silicon has shown positive effects

* Autor para correspondencia: ing.fercarballo@gmail.com

Cita del artículo: Garza-Alonso CA, Carballo-Méndez FJ, Rodríguez-Salinas PA, Olivares-Sáenz E, Rodríguez-Ortiz JC (2022). Salinidad y silicio en el crecimiento vegetativo y la concentración de pigmentos en cuatro cultivares de higuera (*Ficus carica* L.). ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 19-35. https://doi.org/10.12706/itea.2021.018

on plants subjected to salinity. In this work the effects of salinity and silicon were evaluated on vegetative growth and leaf pigment concentration of four fig cultivars: 'Brown Turkey', 'Kadota', 'Black Mission' and 'Adriatic'. These plants were treated daily with a solution of 50 mg L^{-1} of silicon in the propagation phase. Subsequently, in the growth phase, the plants were subjected to foliar applications of a solution of 50 mg L^{-1} of silicon and irrigated with saline solutions of 1 dS m^{-1}, 5 dS m^{-1} and 10 dS m^{-1}. Fig varieties varied in budding, rooting and overall plant growth. Salinity negatively affected plant growth, while silicon favored growth and increased concentration of photosynthetic pigments. An electrical conductivity equal to or less than 5 dS m^{-1} did not pose problems for the initial growth of this fruit, while the application of silicon showed beneficial effects regardless of cultivar and electrical conductivity, especially when applied by irrigation in the propagation phase.

Keywords: Sodium chloride, silicon dioxide, plant nutrition, vegetative propagation.

Introducción

La higuera (*Ficus carica* L.) es una planta mediterránea mundialmente utilizada principalmente por sus frutos de alta calidad organoléptica y elevado valor comercial (USDA, 2020), los cuales son ricos en azúcares, vitaminas y minerales como el fósforo, potasio y calcio (Crisosto *et al*., 2010), así como altos niveles de compuestos antioxidantes (Harzallah *et al*., 2016). Otras partes vegetativas como las hojas y tallos también se utilizan debido a que recientes investigaciones han reportado la capacidad de disminución del azúcar en la sangre (Deepa *et al*., 2018) y propiedades anticancerígenas (Badgujar *et al*., 2014).

Debido a lo anterior, existe un creciente interés en distintos países por el cultivo de la higuera. A nivel mundial, los primeros lugares en producción de higo son ocupados por algunos países mediterráneos como Marruecos, Turquía, Egipto y Argelia (FAO, 2020). Sin embargo, en varios países latinoamericanos este cultivo ha cobrado importancia en los últimos años, específicamente en México donde se muestra una tendencia al alza, con una tasa de crecimiento anual promedio de 6 % para la superficie cosechada y de un 13 % en el volumen de producción (SIAP, 2020). La superficie cosechada en México en el año 2018 fue de 1.440 ha, con un rendimiento promedio de 6,5 t ha^{-1}, donde los estados con mayor superficie sembrada fueron Morelos, Baja California Sur y Veracruz, con 772 ha, 302 ha y 135 ha, respectivamente (SIAP, 2020).

Diversos problemas ambientales que afectan directamente a los cultivos se han incrementado, entre ellos la salinidad del suelo y del agua. La higuera soporta niveles de salinidad de hasta 5,5 dS m^{-1} (Agustí, 2010). Sin embargo, en algunas regiones del mundo se encuentran cantidades de sal superiores tanto en el suelo y en el agua, lo cual afecta el crecimiento y desarrollo del cultivo, principalmente en la etapa de propagación vegetativa y crecimiento inicial. Recientemente se han estudiado los efectos benéficos del silicio (Si) sobre el desarrollo de las plantas, principalmente en la reducción del estrés por distintos factores, como ataque de plagas y enfermedades, estrés hídrico, estrés salino y toxicidad por metales pesados (Servaz y Raymond, 2015). Los efectos benéficos del Si se atribuyen a distintos mecanismos fisiológicos como el incremento del sistema antioxidante, modificaciones en el intercambio gaseoso y reducción del estrés osmótico (Rizwan *et al*., 2015). El efecto positivo del Si en plantas sometidas a estrés salino ha sido atribuido a la reducción en la absorción de Na, regulación en el intercambio gaseoso, incremento de la actividad antioxidante, reducción de la permeabilidad de las membranas celulares, entre otros mecanismos (Liang *et al*., 2006). Los efectos de altos contenidos de sales en el suelo y agua de riego sobre el crecimiento de

las plantas han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, en el cultivo de la higuera se ha realizado poca investigación, particularmente en el tema de propagación y crecimiento inicial. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la salinidad y el Si sobre el crecimiento vegetativo y la concentración de pigmentos fotosintéticos en las hojas en cuatro cultivares de higuera.

Material y métodos

Ubicación del experimento y material vegetal

La investigación se realizó en un invernadero tipo español (altura de 3 m, techo plano, con cubierta de plástico), ubicado en el Centro de Agricultura Protegida de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, el cual se encuentra en las coordenadas 25° 45' latitud norte y 100° 17' longitud oeste, a una altitud de 427 m s.n.m., en General Escobedo, Nuevo León, México. Las condiciones ambientales promedio dentro del invernadero fueron 25 °C de temperatura y 70 % humedad relativa. Cuatro cultivares de higuera (*Ficus carica* L.): 'Brown Turkey', 'Kadota', 'Black Mission' y 'Adriatic' fueron evaluadas en dos fases.

Fase de propagación

En la fase de propagación se evaluó el enraizamiento y la brotación de estacas de los cuatro cultivares con dos niveles de Si en el agua de riego. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial 4 × 2: cuatro cultivares y dos soluciones de riego (agua baja en sales sin y con Si). Los ocho tratamientos fueron evaluados con seis repeticiones. En cada repetición, la unidad experimental consistió en 10 estacas de 20 cm de largo (cinco entrenudos), las cuales fueron obtenidas de plantas de un año de edad cultivadas en el mismo lugar donde se realizó el experimento. Dichas estacas fueron distribuidas al azar en charolas forestales de poliestireno de 50 cavidades con un volumen de 100 mL, cada una rellena con perlita. Cada charola contenía cuatro repeticiones de tratamientos distintos. Las estacas fueron regadas diariamente de acuerdo con el tratamiento correspondiente de Si (0 o 50 mg L^{-1}). La fuente de Si utilizada fue dióxido de silicio (SiO_2). Las características químicas del agua eran: Ca: 3,5 mEq L^{-1}; Mg: 1,8 mEq L^{-1}; Na: 0,9 mEq L^{-1}; HCO_3: 2,5 mEq L^{-1}: Cl: 1,35 mEq L^{-1}; SO_4: 2,35 mEq L^{-1}; HCO_3: 2,5 mEq L^{-1}; pH: 7,51 y conductividad eléctrica (CE): 0,62 dS m^{-1}.

Las variables de enraizamiento y brotación fueron evaluadas en las 10 plántulas de cada unidad experimental y el promedio de las 10 plantas se utilizó para realizar los análisis estadísticos; mientras que las variables de crecimiento fueron evaluadas en 2 plántulas de cada unidad experimental.

A los 30 días y 60 días después del establecimiento se contabilizaron las estacas que presentaron brotación (estacas con al menos una hoja completamente extendida), reportado como brotación 1 (30 días) y brotación 2 (60 días). A los 60 días también se contabilizaron las estacas que produjeron raíces (estacas con al menos una raíz de 1 cm de longitud). Los resultados de dichas variables fueron expresados en porcentaje (%).

Por otro lado, a los 60 días después del establecimiento se evaluó la longitud de brote en dos plantas de cada unidad experimental, considerando el brote más largo, midiendo desde la base hasta el punto de crecimiento; también se registró el número de hojas considerando las hojas completamente expandidas; además se obtuvo el área foliar (cm^2) considerando la anchura máxima de todas las hojas de la planta y se estimó el área utili-

zando el modelo de regresión propuesto por Giaccone *et al.* (2017) para el cultivo de higuera. El contenido relativo de clorofila, expresado en unidades SPAD, se midió utilizando el medidor portátil SPAD-502 de Minolta (Konica Minolta, Osaka, Japón). Las unidades SPAD se estimaron en el lóbulo medio de las hojas número 3, 4 y 5 del ápice a la base. El peso seco se obtuvo mediante un horno de secado (Yamato modelo DX602C, Yamato Scientific America, Santa Clara, CA, USA) donde las muestras fueron sometidas a una temperatura de 60 °C durante tres días. El material resultante se pesó con balanza analítica con precisión 0,001 g.

Fase de crecimiento

Para la fase de crecimiento se seleccionaron cinco plantas de cada cultivar, obtenidas en la fase de propagación, considerando el criterio de uniformidad y vigor. Cada tratamiento de dicha fase fue utilizado para evaluar Si foliar (dos niveles) y salinidad (tres niveles de CE). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial 4 × 4 × 3: 4 cultivares; 4 combinaciones de Si: dos niveles de Si (fase de propagación) y dos niveles de Si foliar (fase de crecimiento) siendo el dióxido de silicio (SiO_2) la fuente de Si utilizada, y tres niveles de CE (1 dS m^{-1}, 5 dS m^{-1} y 10 dS m^{-1}, ajustados con NaCl). Cada tratamiento fue evaluado en cinco repeticiones, con una planta como unidad experimental. La aplicación de Si foliar se realizó semanalmente en un período de ocho semanas, en el mismo periodo, las plantas fueron regadas con el agua antes descrita. A las plantas sin el tratamiento de Si foliar se les aplicó agua destilada. Después del periodo de aplicación foliar, a cada grupo se le regó con solución con CE de 1 dS m^{-1}, 5 dS m^{-1} o 10 dS m^{-1} durante 15 días (Figura 1).

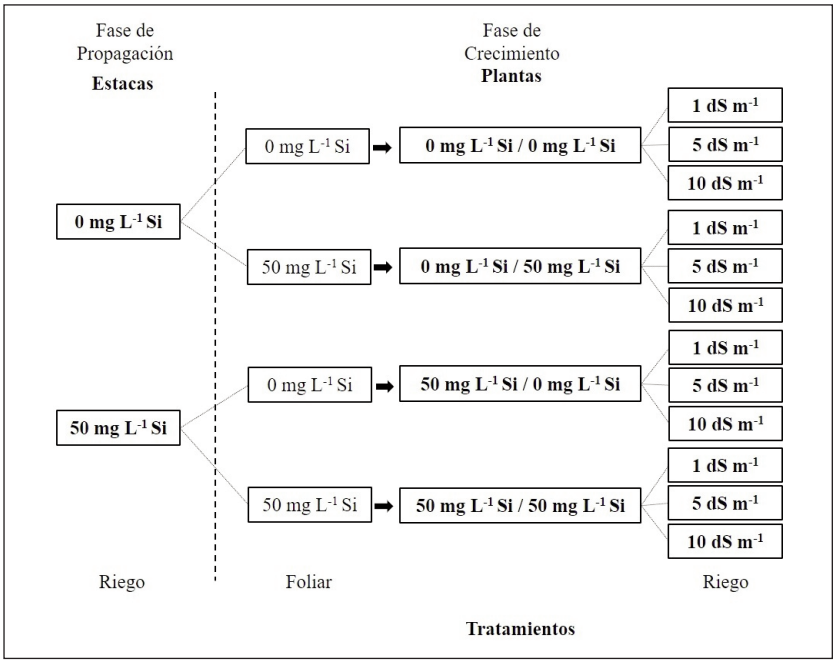


Figura 1. Esquema de los tratamientos en cada fase del experimento.
Figure 1. Schematization of treatments in each phase of the experiment.

A los 5, 10 y 15 días después del inicio del estrés salino, se midió el contenido relativo de clorofila en las hojas. Así mismo, después de la última medición se colectaron muestras de 3 plantas por tratamiento para la determinación de peso seco de tallos nuevos y hojas, además de las clorofilas (a y b) y carotenoides totales (xantofilas y carotenos). La extracción de los pigmentos fotosintéticos se realizó con base a la metodología reportada por Marr *et al.* (1995); para la extracción, se consideraron las hojas más recientemente maduras, hojas número 3, 4 y 5 del ápice a la base, que se mezclaron. Se pesaron 5 g de la hoja fresca en un mini vaso de cristal Oster, en el cual se agregaron 50 mL de acetona al 80 % y 200 mg de Na_2CO_3. La muestra se licuó durante 30 s en una licuadora Oster (M4655-813/465-42, Sunbeam, Ciudad de México, México). Después, el producto resultante se filtró con tela de organza para separar la materia insoluble y se colocó en tubos Corning de 50 mL para centrifugar a 5750 rpm (25 °C, 5 min). Finalmente, el sobrenadante se recolectó y almacenó a –20 °C protegidos de la luz hasta su posterior análisis.

Los análisis de los extractos fotosintéticos se realizaron en un espectrofotómetro SP-830 Plus (Barnstead, Turner, EUA) a longitudes de onda de 663 nm, 647 nm y 470 nm, para determinar clorofila a, b y carotenoides, respectivamente. La concentración de los pigmentos se expresó en miligramos por gramo de hoja fresca (mg g^{-1}) y calculó mediante la ecuación de Lichtenthaler (1987):

$$Chl_a = 12{,}25A_{663} - 2{,}79A_{647}$$

$$Chl_b = 21{,}50A_{647} - 5{,}10A_{663}$$

$$\text{Carotenoides} = (1000A_{470} - 1{,}82\ Chl_a - 85{,}02\ Chl_b)/198$$

Para cumplir con los requisitos de normalidad, los valores porcentuales fueron transformados mediante arcoseno. Los valores de cada fase fueron sometidos a un análisis de varianza. En la primera fase se consideró el peso de la vareta como covariable y se analizaron los factores cultivar, silicio y su interacción. Mientras que en la segunda fase se consideraron como covariables el peso de la vareta para las variables de crecimiento y el contenido relativo de clorofila para las variables de pigmentos; en esta etapa se analizaron los factores cultivar, silicio, conductividad eléctrica y la interacción entre ellos. En las variables donde se encontró diferencia significativa se realizaron comparaciones de medias mediante la prueba de DMS ($P < 0{,}05$). Para dichos análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 22,0, IBM.

Resultados y discusión

Fase de propagación

En la fase de propagación los análisis estadísticos mostraron diferencia significativa entre las cultivares y el Si para el porcentaje de brotación, enraizamiento y crecimiento vegetativo (Tabla 1).

En los muestreos de porcentaje de brotación, los porcentajes más altos fueron encontrados en el cultivar 'Brown Turkey', seguido de 'Kadota' y 'Black Mission' y por último el cultivar 'Adriatic'. En el porcentaje de enraizamiento se encontró una tendencia similar, donde el orden fue 'Brown Turkey' > 'Black Mission' = 'Kadota' > 'Adriatic'. En el caso del Si, se encontró diferencia significativa en la brotación 2, donde la adición de este elemento incrementó un 14 % el porcentaje de brotación, además del incremento del 28 % en el porcentaje de enraizamiento (Tabla 2).

La longitud de brote, número de hojas, área foliar y peso seco mostraron la misma tendencia observada en la brotación, donde los valores más altos se observaron en 'Brown Turkey', seguidos por 'Kadota', 'Black Mission' y 'Adriatic'. Sin embargo, el mayor contenido de unidades SPAD se encontró en 'Adriatic', mientras que los otros cultivares no tuvieron dife-

Tabla 1. Valores de F y niveles de significación (P) observados en los análisis de varianza para las variables de la fase de propagación.
Table 1. F values and significance levels (P) shown in the analysis of variance for the propagation phase variables.

Variables/Factores	Cultivar (C)	Silicio (Si)	C x Si
Brotación 1			
F	21,44	0,537	2,512
P	<0,001	0,470	0,099
Brotación 2			
F	20,419	8,519	0,258
P	<0,001	0,006	0,855
Enraizamiento			
F	28,915	16,153	1,252
P	<0,001	<0,001	0,304
Longitud de brote			
F	27,352	4,206	2,284
P	<0,001	0,043	0,083
Número de hojas			
F	37,902	5,225	0,474
P	<0,001	0,024	0,701
Área foliar			
F	43,975	9,287	1,371
P	<0,001	0,003	0,255
Contenido relativo de clorofila			
F	3,975	4,755	0,228
P	0,01	0,031	0,877
Peso seco de hojas			
F	16,184	11,076	2,56
P	<0,001	0,010	0,059

Tabla 2. Efecto de los cultivares y el silicio en el crecimiento de estacas de higuera.
Table 2. Effect of cultivars and silicon on growth of fig cuttings (propagation phase).

	Brotación 1 (%)	Brotación 2 (%)	Enraizamiento (%)	Longitud de brote (cm)	Número de hojas	Área foliar (cm^2)	Contenido relativo de clorofila	Peso seco de hojas (g)
Cultivares								
Brown Turkey	45,44 a	81,10 a	80,37 a	8,06 a	9,21 a	312,65 a	33,93 b	1,02 a
Kadota	26,78 b	66,79 b	56,05 b	4,65 b	6,04 b	234,40 a	33,01 b	0,69 ab
Black Mission	19,04 c	66,16 b	56,38 b	4,34 bc	6,30 b	216,62 b	33,36 b	0,70 b
Adriatic	19,04 c	56,88 c	40,58 c	3,12 c	5,00 c	96,46 c	37,05 a	0,55 c
Silicio								
0 mg L^{-1}	26,68 a	62,05 b	51,09 b	4,57 b	6,26 b	194,37 b	33,45 b	0,65 b
50 mg L^{-1}	31,61 a	70,91 a	65,59 a	5,51 a	7,02 a	235,69 a	35,23 a	0,83 a

Letras diferentes entre cada columna indican diferencia estadística significativa (DMS, $P < 0,05$).

rencias estadísticas entre ellos. Por otro lado, el Si incrementó los valores en todas las variables estudiadas, donde la longitud de brote, número de hojas, área foliar, SPAD y peso seco aumentaron en un 21 %, 12 %, 21 %, 5 % y 28 %, respectivamente, en comparación con las plantas que no tuvieron aplicación de Si (Tabla 2). Es llamativo como la variedad 'Brown Turkey' dio valores significativamente más elevados para todos los parámetros estudiados, excepto para el contenido relativo en clorofila, donde mostró el valor más bajo.

Los resultados encontrados en la presente investigación coinciden con lo reportado por Pipattanawong *et al.* (2008), quienes encontraron mayores porcentajes de brotación y enraizamiento en higueras del cultivar 'Brown Turkey' en comparación con los cultivares 'Dauphine' y 'Lisa', los cuales comparten características similares a los evaluados en el presente trabajo. Estas diferencias también han sido documentadas en otros cultivares de higuera, donde Aljane y Nahdi (2014) observaron que el cultivar 'Rogabi' y 'Jemaaoui' obtuvieron un mayor porcentaje de enraizamiento que 'Zidi', 'Bayoudhi' y 'Bouharrag', sin embargo, los dos últimos presentaron el mayor porcentaje de brotación, número de hojas, largo y diámetro del tallo. Por otro lado, Pakyürek y Dumano lu (2019) estudiaron porcentajes de germinación de semillas en ocho cultivares de higuera, donde las cultivares 'Sultan Selim' y 'Morgüz' presentaron los valores más altos (98 % y 97 %), mientras que 'Sarilop' resultó con el menor porcentaje (83 %). Este último cultivar tiene gran similitud genética con el cultivar 'Adriatic'.

En otra investigación, Salimpour *et al.* (2019) encontraron mayor crecimiento vegetativo en los cultivares 'Atabaki' y 'Mati', los cuales comparten similitud morfológica con 'Brown Turkey'. Dichos cultivares obtuvieron un mayor largo y diámetro del tallo, numero de hojas y área foliar entre siete cultivares estudiados. Por otra parte, Metwali *et al.* (2014)

realizaron una investigación similar, donde se encontró que 'Brown Turkey' y 'Black Mission' tuvieron un mayor crecimiento vegetativo general en contraste con 'Brunswick'. Ambos trabajos coinciden con lo encontrado en la presente investigación.

En otros trabajos se ha demostrado que la aplicación de Si ha incrementado el volumen y alargamiento de las raíces. Dicho efecto ha sido atribuido a la extensibilidad de la pared celular en la zona de crecimiento de las raíces, provocada por la presencia del Si, lo que acelera el proceso de enraizamiento (Kafi y Rahimi, 2011).

Fase de crecimiento

En la fase de crecimiento el análisis de varianza mostró diferencias estadísticas en los efectos principales, y en las interacciones cultivar × Si y cultivar × Si × CE, en algunas variables (Tabla 3).

Las cultivares de higuera mostraron diferencias estadísticas significativa en los niveles de CE para el peso seco del tallo y hojas. La CE de 10 dS m^{-1} redujo en 33 % y 13 % el peso seco de tallos y hojas, respectivamente (Figura 2A). En ambas variables la interacción cultivar × Si fue significativa. El peso seco de tallo de los cultivares 'Kadota' fue incrementado por los tratamientos con Si, en promedio, 57 % comparado con el tratamiento sin Si. En el cultivar 'Adriatic' el tratamiento 50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1} lo incrementó en 46 %, mientras que en los otros dos cultivares no se observaron incrementos significativos (Figura 2B). El peso seco de las hojas del cultivar 'Brown Turkey' fue beneficiado por el Si aplicado en la fase de propagación, incrementado esta variable en 37 %, mientras que para 'Kadota' los tratamientos con Si, incrementaron, en general, 56 % el peso seco de hojas; en los otros dos cultivares, sin embargo, no se observaron diferencias significativas (Figura 2C).

El efecto de la salinidad en las plantas ha sido ampliamente documentado. La acumulación de Na^+ y Cl^- en los cloroplastos está asociada con la reducción de las actividades de transporte de electrones en el proceso fotosintético ocasionando una reducción en el crecimiento (Nouman *et al*., 2018). En plantas de tomate, Li *et al.* (2015) reportaron una menor ganancia de materia seca al incrementar los niveles de sales, mientras que en otra investigación se observó el mismo efecto en plantas de *Ocimum basilicum* L. (Robatjazi *et al*., 2020).

En el cultivo de la higuera, Metwali *et al.* (2014) encontraron una disminución del peso seco al incrementar los niveles de salinidad, sin importar el cultivar estudiado. Dicho efecto también fue reportado por Zarei *et al.* (2016) al probar cuatro cultivares de higuera con diferentes niveles de salinidad, donde las altas concentraciones de sales afectaron de forma negativa la ganancia de materia seca en todos los cultivares. En otra investigación realizada por Soliman y Alhady (2017), fue observada la misma tendencia en cinco cultivares de higuera. Los trabajos mencionados previamente coinciden con lo encontrado en esta investigación, donde se reportó que los mayores efectos negativos sobre el crecimiento vegetativo ocurren al sobrepasar una salinidad de 5 dS m^{-1} (o su equivalente en otras unidades), tal y como lo reportó Agustí (2010), quien menciona que la higuera tolera una salinidad de hasta 5,5 dS m^{-1}, lo cual se considera una tolerancia media a la salinidad, tal y como fue clasificada por Niu *et al*. (2019), quienes ubicaron a esta planta en el grupo de plantas moderadamente tolerantes.

Actualmente, los estudios del efecto del Si sobre el crecimiento vegetativo de la higuera son muy escasos, sin embargo, los resultados encontrados en esta investigación coinciden con lo observado en otras plantas. Ranganathan *et al.* (2006) reportaron que la aplicación de Si duplicó el peso seco de hojas y tallos en plantas de arroz, lo cual también fue obser-

Tabla 3. Valores de F (F) y niveles de significancia (*P*) observados en los análisis de varianza para las variables de crecimiento.
Table 3. F values (F) and significant levels (P) shown in the analysis of variance for the variables of growth.

Variables/Factores	Cultivar (C)	Silicio (Si)	Conductividad Eléctrica (CE)	C×Si	C×CE	Si×CE	C×Si×CE
Peso Seco de tallos							
F	9,103	6,006	32,29	2,386	0,806	0,427	1,177
P	<0,001	0,001	<0,001	0,018	0,568	0,859	0,297
Peso Seco de hojas							
F	20,868	7,268	5,475	4,05	1,533	1,861	1,603
P	<0,001	<0,001	0,006	<0,001	0,176	0,096	0,075
Contenido Relativo de Clorofila 5 días							
F	0,45	4,417	0,75	0,698	0,628	0,737	0,657
P	0,987	<0,001	0,475	0,71	0,707	0,621	0,844
Contenido Relativo de Clorofila 10 días							
F	0,505	6,412	0,561	0,509	0,337	0,364	0,661
P	0,68	0,001	0,572	0,864	0,916	0,9	0,84
Contenido Relativo de Clorofila 15 días							
F	0,769	10,465	10,217	1,027	1	1,706	1,09
P	0,514	<0,001	<0,001	0,424	0,431	0,128	0,375
Clorofila a							
F	2,799	60,71	5,115	3,186	0,778	1,281	2,518
P	0,044	<0,001	0,008	0,002	0,589	0,274	0,002
Clorofila b							
F	5,375	60,271	4,509	3,108	0,497	1,154	1,921
P	0,002	<0,001	0,014	0,003	0,809	0,338	0,023
Carotenoides							
F	4,815	34,539	1,822	2,169	0,869	1,837	2,207
P	0,004	<0,001	0,167	0,031	0,521	0,1	0,008

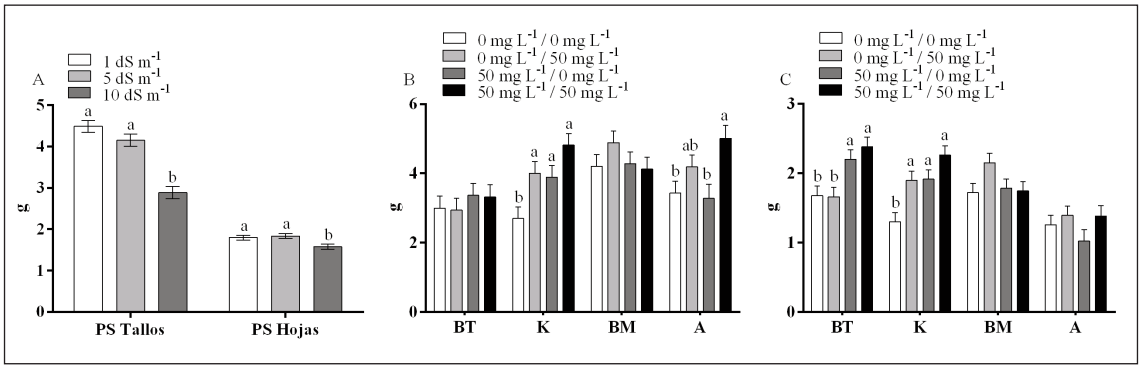


Figura 2. Efecto de la conductividad eléctrica (CE) (A) en el peso seco de tallos y hojas, y de la interacción cultivar × silicio (Si) en el peso seco de tallos (B) y hojas (C) en plantas de higuera. Las líneas sobre las barras representan el error estándar. Las letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (DMS, $P < 0,05$). BT: 'Brown Turkey', K: 'Kadota', BM: 'Black Mission' y A: 'Adriatic'.

Figure 2. Effect of electrical conductivity (EC) (A) on dry weight of stems and leaves, and of cultivar × silicon (Si) interaction on dry weight of stems (B) and leaves (C) in fig plants. Lines above the bars represent the standard error. Different letters in each bar mean that the treatments were statistically different (DMS, P < 0.05). BT: 'Brown Turkey', K: 'Kadota', BM: 'Black Mission' and A: 'Adriatic'.

vado en plantas de tomate (Haghighi y Pessarakli, 2013), soja (Hamayun *et al.*, 2010) y trigo (Tuna *et al.*, 2008). El incremento en el peso seco de los tejidos de las plantas se debe a que la aplicación de Si incrementa la tasa de fotosíntesis, como ha sido observado en distintas especies, lo cual favorece mayor acumulación de materia seca (Yan *et al.*, 2020).

El incremento en la fotosíntesis de las plantas que han recibido una aplicación de Si se puede explicar debido a que este elemento mejora la estructura de los cloroplastos (Gengmao *et al.*, 2015), además de que Garg y Bhandari (2015) reportaron incrementos en la actividad de la enzima RuBisCO, lo que incrementa la captación de CO_2 en condiciones de estrés por salinidad. Otro mecanismo que favorece el incremento en la tasa fotosintética es el depósito de Si en el tallo, incrementando la fuerza de este, mientras que los depósitos en las hojas mantienen la turgencia, favoreciendo la intercepción de la luz.

El contenido relativo de clorofila, expresado en unidades SPAD, no presentó diferencias significativas entre cultivares (Figura 3A). Para el caso del Si, a los 5 días de las aplicaciones, se encontró un aumento del 6 % en el tratamiento 50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1} con respecto al 0 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}, mientras que en los demás no se observaron diferencias significativas. A los 10 días, fue observado el mismo comportamiento, con un incremento del 7 % en el tratamiento 50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}. Por último, a los 15 días, los tratamientos 50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1} y 50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1} registraron incrementos del 9 % y 7 %, respectivamente, en comparación a las plantas del tratamiento con nula aportación de silicio (Figura 3B). Los altos niveles de conductividad eléctrica afectaron de forma negativa el contenido de unidades SPAD en las plantas de higuera, independientemente de los cultivares estudiados. A los 5 días de iniciadas las aplicaciones, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, sin

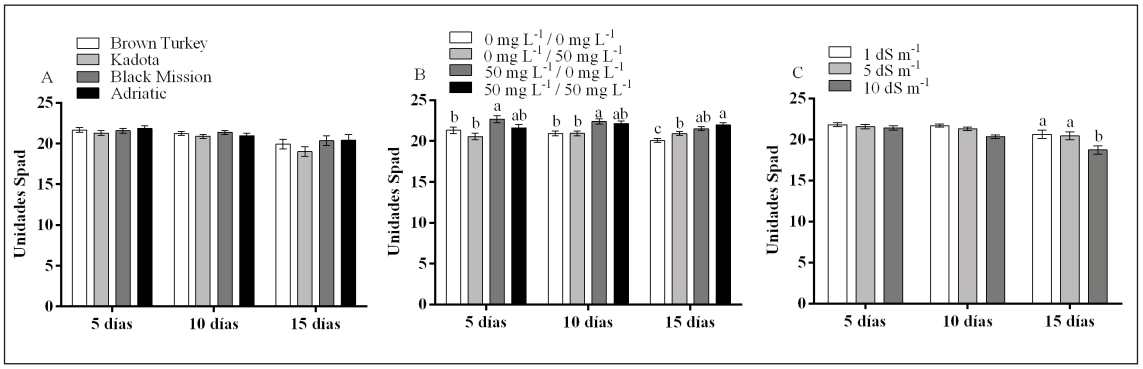


Figura 3. Efecto de los cultivares (A), Si (B) y conductividad eléctrica (CE) (C) en el contenido relativo de clorofila (SPAD) en hojas de higuera. Las líneas sobre las barras representan el error estándar. Las letras diferentes en cada barra significan que los tratamientos fueron estadísticamente diferentes (DMS, $P < 0,05$).
Figure 3. Effect of cultivars (A), Si (B), and electrical conductivity (EC) (C) on the relative content of chlorophyll (SPAD) (second stage). Lines above the bars represent the standard error. Different letters in each bar mean that the treatments were statistically different (DMS, P < 0.05).

embargo, para los 10 y 15 días, el análisis de varianza encontró diferencia significativa, donde el tratamiento de 10 dS m^{-1} registró los valores más bajos, con disminuciones del 6 % y 9 %, respectivamente, en comparación con el tratamiento de menor contenido de sales (1 dS m^{-1}) (Figura 3C).

Los resultados encontrados en cuanto a unidades SPAD coinciden con lo observado en plantas de arroz por Ranganathan *et al.* (2006), donde dichas unidades se incrementaron en plantas con aplicación de Si. La misma tendencia fue reportada en plantas de tomate por Haghighi y Pessarakli (2013), quienes encontraron un incremento de SPAD al incrementar la dosis de Si. Dichos resultados coinciden con lo encontrado en esta investigación. En plantas de soja, las unidades SPAD disminuyeron en plantas tratadas con NaCl, en contraste con las plantas en ausencia de sal (Lee *et al.*, 2010), tal y como sucedió en el presente trabajo.

Las concentraciones de pigmentos fotosintéticos mostraron interacción entre el cultivar, Si y CE. En términos generales, se observó una disminución en la concentración de los pigmentos provocada por el nivel alto de CE, dicha disminución fue contrarrestada por la presencia de Si. Los mayores valores en la concentración de clorofila a y clorofila b se mostraron en los tratamientos con Si. Los tratamientos con Si, aplicado en la fase de propagación, (50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1} y 50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}) mostraron las mayores concentraciones de clorofilas en los niveles bajo y medio de CE (1 dS m^{-1} y 5 dS m^{-1}), mientras que en el tratamiento sin Si y en CE alta (10 dS m^{-1}) fueron observadas las menores concentraciones de dichos pigmentos (Tabla 4-5).

La concentración de carotenoides mostró una tendencia similar al efecto de los tratamientos en la concentración de clorofilas (Tabla 6), particularmente el tratamiento 50 mgL^{-1}/ 50 mgL^{-1}, en las CE media y alta (5 dS m^{-1} y 10 dS m^{-1}) mostró mayores concentraciones de carotenoides para los cultivares 'Brown Turkey', 'Kadota' y 'Black Mission'; mientras que en el cultivar 'Adriatic' el máximo valor fue observado en el tratamiento 0 mg L^{-1}/ 50 mg L^{-1} en la CE baja (1 dS m^{-1}). Al igual

Tabla 4. Efecto de la interacción entre cultivares, silicio (Si) y conductividad eléctrica (CE) en la concentración de clorofila a (mg g^{-1}) hojas de higuera.
Table 4. Effect of cultivar, silicon (Si) and electrical conductivity (EC) interaction on in the content of chlorophyll a (mg g^{-1}) fig leaves.

Si	0 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			0 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}		
CE (dS m^{-1})	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10
Brown Turkey	1,36 e	1,41 e	1,41 e	2,07 de	1,85 e	2,06 de	3,52 abc	2,79 cd	3,31 bc	4,37 a	3,78 ab	3,55 abc
Kadota	2,51 cd	1,43 ef	0,88 f	1,87 de	2,31 cd	2,29 cde	3,97 a	3,60 ab	3,61 ab	4,37 a	4,43 a	2,92 bc
Black Mission	1,79 bc	2,43 a	1,28 c	2,38 a	1,62 bc	2,33 a	2,45 a	3,35 a	2,08 bc	4,18 a	2,23 b	3,52 a
Adriatic	1,69 de	1,99 cde	1,54 e	2,37 bcde	2,62 bc	2,39 bcde	3,55 a	2,53 bcd	2,12 cde	2,60 bc	3,05 ab	3,16 ab

Letras diferentes entre cada fila indican diferencia estadística significativa (DMS, $P < 0,05$).

Tabla 5. Efecto de la interacción entre cultivares, silicio (Si) y conductividad eléctrica (CE) en la concentración de clorofila b (mg g^{-1}) hojas de higuera.
Table 5. Effect of cultivar, silicon (Si) and electrical conductivity (EC) interaction on in the content of chlorophyll b (mg g^{-1}) fig leaves.

Si	0 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			0 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}		
CE (dS m^{-1})	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10
Brown Turkey	0,58 e	0,62 e	0,66 e	0,95 de	0,83 de	0,96 de	1,76 ab	1,26 cd	1,57 bc	2,17 a	1,86 ab	1,77 ab
Kadota	1,07 de	0,68 ef	0,43 e	0,80 ef	1,40 de	1,07 de	1,92 ab	1,69 bc	1,98 ab	2,33 a	2,14 ab	1,33 cd
Black Mission	0,78 de	1,05 cd	0,54 e	1,06 cd	0,77 de	1,06 cd	1,16 bcd	1,47 abc	0,91 de	1,93 a	1,24 bcd	1,54 ab
Adriatic	0,68 cde	0,79 cde	0,56 e	1,07 bcd	1,08 bcd	0,96 bcde	1,58 a	1,10 bcd	0,83 cde	1,22 abc	1,35 ab	1,60 a

Letras diferentes entre cada fila indican diferencia estadística significativa (DMS, $P < 0,05$).

que lo observado en las concentraciones de clorofilas, el tratamiento sin Si, particularmente en la CE alta (10 dS m^{-1}) presentaron las menores concentraciones de carotenoides (Tabla 6).

En el caso de los pigmentos fotosintéticos, Metwali *et al.* (2014) encontraron diferencias entre cultivares, donde 'Brunswick' registró los mayores valores en comparación con 'Black Mission' y 'Brown Turkey'. Dicho efecto fue similar al encontrado en la presente investigación, donde 'Kadota' presentó el mayor contenido de clorofilas, en contraste con las demás cultivares. Las diferencias entre cultivares de higuera también han sido reportadas por Soliman y Alhady (2017) y Zarei *et al.* (2017).

La disminución de las unidades SPAD y clorofilas (a y b) en las hojas de higuera sometidas a salinidad puede explicarse debido a la disminución en el porcentaje de nitrógeno (componente estructural de la molécula de clorofila) en los tejidos, lo cual fue encontrado por Salimpour *et al*. (2019) en siete cultivares de higuera sometidos a distintos niveles de NaCl. También ha sido reportada por Abdolinejad y Shekafandeh (2014) en plantas de higuera, al igual que en los trabajos de Soliman y Alhady (2017) y Vangelisti *et al*. (2019), todos ellos con la misma tendencia observada en la presente investigación. El mismo efecto de disminución de clorofilas también fue observado en plántulas de tomate (Li *et al*., 2015). Al igual que en el presente trabajo, Zarei *et al*. (2017) no encontraron diferencias significativas en el contenido de carotenoides en plantas de higuera sometidas a distintos niveles de salinidad.

En general, el Si favoreció el crecimiento vegetativo y contenido de pigmentos fotosintéticos en plantas de higuera. En otros trabajos se ha encontrado que la aportación de Si incrementa la conductividad hidráulica de la raíz (Kim *et al*., 2017), lo cual incrementa el consumo de agua en las plantas (Haghighi y

Tabla 6. Efecto de la interacción entre cultivares, silicio (Si) y conductividad eléctrica (CE) en la concentración de carotenoides (mg g^{-1}) hojas de higuera.
Table 6. Effect of cultivar, silicon (Si) and electrical conductivity (EC) interaction on in the content of carotenoids (mg g^{-1}) fig leaves.

Si	0 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			0 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/0 mg L^{-1}			50 mg L^{-1}/50 mg L^{-1}		
CE (dS m^{-1})	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10
Brown Turkey	0,40 e	0,42 de	0,39 e	0,56 bc	0,46 cde	0,54 bcd	0,63 ab	0,66 ab	0,64 ab	0,69 a	0,64 ab	0,73 a
Kadota	0,55 ab	0,34 cd	0,26 d	0,47 bc	0,53 ab	0,55 ab	0,61 a	0,59 ab	0,55 ab	0,55 ab	0,63 a	0,62 a
Black Mission	0,38 de	0,44 cde	0,33 e	0,48 cd	0,36 de	0,43 cde	0,52 bc	0,63 ab	0,44 cde	0,69 a	0,39 cde	0,69 a
Adriatic	0,37 e	0,45 cde	0,38 de	0,65 a	0,60 ab	0,51 bcd	0,54 abc	0,56 abc	0,52 abc	0,55 abc	0,59 abc	0,49 bcde

Letras diferentes entre cada fila indican diferencia estadística significativa (DMS, $P < 0,05$).

Pessarakli, 2013). Dichos efectos también favorecen el acceso de nutrientes a través de la vía apoplástica (Coskun *et al*., 2016). Este elemento incrementa el contenido de algunas fitohormonas como el ácido abscísico, el ácido salicílico y el etileno, así como el contenido de giberelinas (Kim *et al*., 2015). Otro de los mecanismos que favorecieron de manera positiva el crecimiento puede ser el incremento de enzimas antioxidantes como super óxido dismutasa, catalasa y peroxidasa (Abdolinejad y Shekafandeh, 2014; Alves *et al*., 2020).

Bajo condiciones de salinidad, donde existe un déficit de agua en la planta, se producen enzimas peroxidativas que están asociadas con la degradación de las clorofilas. Silva *et al*. (2012), reportaron que, en plantas de tomate expuestas a déficit de agua, la presencia de Si incrementó el potencial de agua en la hoja con lo que se incrementó la producción de clorofilas, además de mantener en buenas condiciones las ya existentes. La aplicación de Si en plantas de trigo incrementó las clorofilas a y b, así como en plantas de soja (Hamayun *et al*., 2010), lo cual coincide con esta investigación. El incremento de los pigmentos fotosintéticos en las plantas tratadas con Si puede ser explicado por las evidencias registradas en que este elemento favorece de forma positiva la estructura de los cloroplastos (Gengmao *et al*., 2015), además de incrementar la actividad de la enzima RuBisCO (Garg y Bhandari, 2015).

Conclusiones

Las cultivares de higuera mostraron diferencias en el efecto de las aportaciones de Si y la diferencia entre CE. Estos efectos fueron observados en la brotación y enraizamiento, así como en crecimiento vegetativo y contenido de pigmentos fotosintéticos. Lo anterior demuestra que los cultivares de higuera responden de distinta manera en la fase de propagación y crecimiento. Por ello, los cultivares locales deben ser evaluados para determinar los mejores materiales para el establecimiento de huertos comerciales. Particularmente el cultivar 'Brown Turkey' mostró las tasas más elevadas de enraizamiento y crecimiento. Una CE igual o menor a 5 dS m^{-1} no representó problemas para el crecimiento inicial de este frutal, mientras que la aplicación de Si mostró efectos benéficos siendo la aplicación de Si en la fase de propagación la que propició un mayor crecimiento y concentración de pigmentos. Para confirmar estos resultados, se sugiere llevar a cabo nuevos ensayos complementarios para estudiar algunos de los efectos encontrados de forma independiente.

Referencias bibliográficas

Abdolinejad R, Shekafandeh A (2014). Responses of two figs (*Ficus carica* L.) cultivars under salt stress via *in vitro* condition. Agriculture Science Developments 3(5): 194-199.

Agustí M (2010). Fruticultura, 2da Edición. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 507 pp.

Aljane F, Nahdi S (2014). Propagation of some local fig (*Ficus carica* L.) cultivars by hardwood cuttings under the field conditions in Tunisia. International Scholarly Research Notices 2014: 809450. https://doi.org/10.1155/2014/809450.

Alves RC, Malvas MC, Checchio MV, Sousa GS, Oliveira FA, Prado RM, Gratão PL (2020). Salt stress alleviation by seed priming with silicon in lettuce seedlings: an approach based on enhancing antioxidant responses. Bragantia 79(1): 19-29. https://doi.org/10.1590/1678-4499.20190360.

Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH, Mahajan RT (2014). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Ficus carica*: A review. Pharmaceutical Biology 52 (11): 1487-1503. https://doi.org/10.3109/13880209.2014.892515.

Coskun D, Britto DT, Huynh WQ, Kronzucker HJ (2016). The role of silicon in higher plants under salinity and drought stress. Frontiers in Plant Science 7: 1072. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01072.

Crisosto CH, Bremer V, Ferguson L, Crisosto GM (2010). Evaluating quality attributes of four fresh fig (*Ficus carica* L.) cultivars harvested at two maturity stages. HortScience 45(4): 707-710. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.4.707.

Deepa P, Sowndhararajan K, Kim S, Park SJ (2018). A role of *Ficus* species in the management of diabetes mellitus: A review. Journal of Ethnopharmacology 215: 210-232. https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.045.

Food and Agriculture Organization (FAO) (2020). Statistical Yearbook. Agricultural production. Disponible en: http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC (Consultado: 17 febrero 2020).

Garg N, Bhandari P (2015). Silicon nutrition and mycorrhizal inoculations improve growth, nutrient status, K^+/Na^+ ratio and yield of *Cicer arietinum* L. genotypes under salinity stress. Plant Growth Regulation 78(3): 371-387. https://doi.org/10.1007/s10725-015-0099-x.

Gengmao Z, Shihui L, Xing S, Yizhou W, Zipan C (2015). The role of silicon in physiology of the medicinal plant (*Lonicera japonica* L.) under salt stress. Scientific Reports 5: 12696. https://doi.org/10.1038/srep12696.

Giaccone M, Pannico A, Scognamiglio P, Rivera CM, Cirillo C, Rouphael Y, De Pascale S, Basile B (2017). Regression model for leaf area estimation in *Ficus carica* L. Acta Horticulturae 1173: 163-168. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1173.27.

Haghighi M, Pessarakli M (2013). Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. Scientia Horticulturae 161: 111-117. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.034.

Hamayun M, Sohn EY, Khan SA, Shinwari ZK, Khan AL, Lee IJ (2010). Silicon Alleviates the Adverse Effects of Salinity and Drought Stress on Growth and Endogenous Plant Growth Hormones of Soybean (*Glycine max* L.). Pakistan Journal of Botany 42(3): 1713-1722.

Harzallah A, Bhouri AM, Amri Z, Soltana H, Hammami M (2016). Phytochemical content and antioxidant activity of different fruit parts juices of three figs (*Ficus carica* L.) varieties grown in Tunisia. Industrial Crops and Products 83: 255-267. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.043.

Kafi M, Rahimi Z (2011). Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). Soil Science and Plant Nutrition 57(2): 341-347. https://doi.org/10.1080/00380768.2011.567398.

Kim YH, Khan AL, Lee IJ (2015). Silicon: A duo synergy for regulating crop growth and hormonal signaling under abiotic stress conditions. Critical Reviews in Biotechnology 36(6): 1099-1109. https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1084265.

Kim YH, Khan AL, Waqas M, Lee IJ (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: a review. Frontiers in Plant Science 8: 510. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00510

Lee SK, Sohn EY, Hamayun M, Yoon JI, Lee IJ (2010). Effect of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. Agroforestry Systems 80(3): 333-340. https://doi.org/10.1007/s10457-010-9299-6.

Li H, Zhu Y, Hu Y, Han W, Gong H (2015). Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture. Acta Physiologiae Plantarum 37: 71. https://doi.org/10.1007/s11738-015-1818-7.

Liang Y, Sun W, Zhu YG, Christie P (2006). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of abiotic stresses in higher plants: a review. Environmental Pollution 147(2): 422-428. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.06.008.

Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls end carotenoids: Pigments of photosynthetic bio membranes. Methods in Enzimilogy 148: 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1.

Marr IL, Suryana N, Lukulay P, Marr MI (1995). Determination of chlorophyll a and b by simultaneous multi-component spectrophotometry. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry volume 352(5): 456-460. https://doi.org/10.1007/BF00323366.

Metwali EMR, Soliman HIA, Al-Zahrani HS, Howladar SM, Fuller MP (2014). Influence of different concentrations of salt stress on *in vitro* multiplication of some fig (*Ficus carcia* L.) cultivars. Life Science Journal 11(10): 386-397.

Niu G, Davis TD, Masabni J (2019). A review of salinity tolerance research in horticultural crops. Journal of Arid Land Studies 29(2): 53-59. https://doi.org/10.14976/jals.29.2_53.

Nouman W, Qureshi MK, Shaheen M, Zubair M (2018). Variation in plant bioactive compounds and antioxidant activities under salt stress. En: Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants (Ed. Vats S), pp. 77-101. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_4.

Pakyürek M, Dumano lu H (2019). Effects of saline stress on *in vitro* seed germination and seedling growth of some Turkish fig cultivars (*Ficus carica* L.). Applied Ecology And Environmental Research 17(6): 13485-13492. https://doi.org/10.15666/aeer/1706_1348513492.

Pipattanawong N, Tiwong S, Thongyean B, Darak R., Thamin P, Techa W (2008). Improvement of propagation by hardwood cuttings with and without using plastic pavilions in fig (*Ficus carica* L.). Kasetsart Journal – Natural Science 42(2): 207-214.

Ranganathan S, Suvarchala V, Rajesh Y, Prasad MS, Padmakumari AP, Voleti SR (2006). Effects of silicon sources on its deposition, chlorophyll content, and disease and pest resistance in rice. Biologia plantarum 50(4): 713-716. https://doi.org/10.1007/s10535-006-0113-2.

Rizwan M, Ali S, Ibrahim M, Farid M, Adrees M, Bharwana SA, Rehman MZ, Qayyum M, Abbas F (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of drought and salt stress in plants: a review. Environmental Science and Pollution Research 22: 15416-15431. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5305-x.

Robatjazi R, Roshandel P, Hooshmand S (2020). Benefits of silicon nutrition on growth, physiological and phytochemical attributes of basil upon salinity stress. International Journal of Horticultural Science and Technology 7(1): 37-50. https://doi.org/10.22059/IJHST.2020.288551.318.

Salimpour A, Shamili M, Dadkhodaie A, Zare H, Hadadinejad M (2019). Evaluating the salt tolerance of seven fig cultivars (*Ficus carica* L.). Advances in Horticultural Science 33(4): 553-565. https://doi.org/10.13128/ahsc-8191.

Servaz B, Raymond J (2015). Silicon in soils and plants. En: Silicon and Plant Diseases (Eds. Rodrigues F, Datnoff L), pp. 7-52. Springer, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22930-0.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2020). Disponible en: https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119 (Consultado: 5 febrero 2020).

Silva ON, Lobato AKS, Ávila FW, Costa RCL, Oliveira Neto C, Santos Filho BG, Martins Filho AP, Lemos RP, Pinho JM, Medeiros MBCI, Cardoso MS, Andrade IP (2012). Silicon-induced increase in chlorophyll is modulated by the leaf water potential in two water-deficient tomato cultivars. Plant, Soil And Environment 58(11): 481-486. https://doi.org/10.17221/213/2012-PSE.

Soliman HIA, Alhady MRA (2017). Evaluation of salt tolerance ability in some fig (*Ficus carica* L.) cultivars using tissue culture technique. Journal of Applied Biology & Biotechnology 5(6): 29-39. https://doi.org/10.7324/JABB.2017.50605.

Tuna AL, Kaya C, Higgs D, Murillo-Amador B, Aydemir S, Girgin AR (2008). Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environmental and Experimental Botany 62(1): 10-16. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.06.006.

United States Department of Agriculture (USDA) (2020). Agricultural Research Service. Food Composition Databases. Disponible en: https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list (Consultado: 21 marzo 2020).

Vangelisti A, Zambrano LS, Caruso G, Macheda D, Bernardi R, Usai G, Mascagni F, Giordani T, Gucci R, Cavallini A, Natali L (2019). How an ancient, salt-tolerant fruit crop, *Ficus carica* L., copes with salinity: a transcriptome analysis. Scientific Reports 9: 2561. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39114-4.

Yan G, Fan X, Peng M, Yin C, Xiao Z, Liang Y (2020). Silicon improves rice salinity resistance by alle-

viating ionic toxicity and osmotic constraint in an organ-specific pattern. Frontiers in Plant Science 11: 260. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00260.

Zarei M, Azizi M, Rahemi M, Tehranifar A (2016). Evaluation of NaCl salinity tolerance of four fig genotypes based on vegetative growth and ion content in leaves, shoots, and roots. HortScience 51(11): 1427-1434. https://doi.org/10.21273/HORTSCI11009-16.

Zarei, M, Azizi M, Rahemi M, Tehranifar A, Davarpanah S (2017). Effect of salinity stress on some physiological and biochemical responses of four fig (*Ficus carica* L.) hybrids. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 18(2): 143-158.

(Aceptado para publicación el 17 de mayo de 2021)

Efecto del modo de cría de borregos de raza Merina nacidos en otoño sobre su actividad sexual, desarrollo testicular y secreción de testosterona en primavera

Francisco Antonio Arrebola-Molina[1], Esteban Castillejo-Lacalle[1], Francisco Borjas-Muñoz[1], Francisco Jesús Querino-Santiago[1], Francisca Cecilia Redondo-Cardador[1] y José Alfonso Abecia[2,*]

[1] IFAPA Centro Hinojosa del Duque. Carretera El Viso, Km. 15, 14270 Hinojosa del Duque, Córdoba, España

[2] Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA). Universidad de Zaragoza, Calle Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la exposición a días largos artificiales a una edad temprana, o la recría en presencia de moruecos adultos sexualmente activados, sobre la actividad sexual, desarrollo testicular y concentraciones de testosterona en primavera de borregos merinos nacidos en otoño. Cuarenta corderos nacidos en septiembre fueron asignados a los 6 meses de edad a uno de estos cuatro grupos: DL (n = 10), expuestos a 2 meses de días largos (16 h luz/día; 1 febrero-31 marzo); MAA (n = 10), alojados el 1 de abril con dos machos adultos, activados sexualmente mediante fotoperiodo artificial; MAC (n = 10), con dos machos adultos no activados, y A (n = 10), aislados de carneros adultos durante todo el experimento. No se observaron diferencias significativas entre grupos para el peso vivo, condición corporal ni perímetro escrotal. La concentración plasmática de testosterona fue similar hasta los 7,5 meses de edad, cuando todos los grupos mostraron un acusado descenso. A partir de ese momento, el grupo A incrementó sus concentraciones, a diferencia del resto de los grupos ($P < 0,05$), al final del experimento. El grupo A mostró una mayor actividad sexual en test de comportamiento individual ($P < 0,05$) que los grupos criados con machos adultos, que precisaron más tiempo para lograr el primer eyaculado ($P < 0,05$). En conclusión, borregos merinos nacidos en otoño, criados desde el destete en aislamiento de otros machos, presentan signos de actividad sexual en primavera más evidentes que corderos criados en presencia de machos adultos, activados o no sexualmente en primavera.

Palabras clave: Ovinos, moruecos, pubertad, factores sociales.

Effect of breeding mode on the triggering of puberty in autumn-born Merino ram-lambs

Abstract

The aim of this work was to evaluate the effects of exposure to artificial long days at an early age, or rearing in the presence of sexually activated adult rams, on sexual activity, testicular growth and plasma

* Autor para correspondencia: alf@unizar.es

Cita del artículo: Arrebola-Molina FA, Castillejo-Lacalle E, Borjas-Muñoz F, Querino-Santiago FJ, Redondo-Cardador FC, Abecia JA (2022). Efecto del modo de cría de borregos de raza Merina nacidos en otoño sobre su actividad sexual, desarrollo testicular y secreción de testosterona en primavera. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 36-47. https://doi.org/10.12706/itea.2021.012

testosterone levels of autumn-born Merino ram-lambs in spring. Forty lambs born in September were assigned at 6 months of age to one of these four groups: DL (n = 10), exposed to 2 months of long days (16 h light/day; 1 February-31 March); MAA (n = 10), housed since April 1st with two adult males, sexually activated by artificial photoperiod; MAC (n = 10), with two non-activated adult rams, and A (n = 10), isolated from adult rams during the whole experiment. No significant differences were observed between groups for live weight, body condition, and scrotal perimeter. Plasma testosterone concentration was similar until 7.5 months of age, when all groups showed a marked decrease. From that moment, group A increased its concentrations, unlike the rest of the groups ($P < 0.05$), at the end of the experiment. Group A showed a greater sexual activity in individual behavioral tests ($P < 0.05$) than the groups raised with adult males, which needed more time to achieve the first ejaculation ($P < 0.05$). In conclusion, Merino sheep born in autumn, reared from weaning in isolation from other adult males, showed a more intense sexual activity in spring than lambs reared in the presence of adult males, whether or not these were sexually activated in spring.

Keywords: Sheep, ram, puberty, social factors.

Introducción

Alcanzar una estrategia reproductiva óptima en las ganaderías ovinas, especialmente en aquellas en las que se imponen ritmos reproductivos acelerados, se inicia obligatoriamente por la selección de los animales de reposición, siendo el momento del inicio de la pubertad crucial para determinar la vida productiva de estos animales, ya que en las ovejas influirá en su edad al primer parto. El momento de la pubertad en la especie ovina no es una simple función de la edad cronológica, sino más bien un proceso complicado afectado por una serie de factores internos y externos (Valasi *et al.*, 2012). El conocimiento de la forma en que estos factores interactúan conduce a la aplicación de estrategias que aumentan el rendimiento reproductivo y productivo durante la vida de los pequeños rumiantes. El desencadenamiento de la pubertad en la especie ovina depende de tres factores fundamentales: la edad de los animales, su desarrollo corporal y la época del año en la que se alcanzan los dos factores anteriores (Valasi *et al.*, 2012).

Si bien en el morueco la definición de pubertad es controvertida, en la oveja se ha utilizado la primera ovulación o el primer celo para definir su inicio (Foster y Hileman, 2015). Para el macho se ha establecido el inicio de la pubertad como el momento en el que su eyaculado contiene por primera vez una cantidad mínima de espermatozoides (Wheaton y Godfrey, 2003), o el primer eyaculado que contiene espermatozoides móviles (Khalifa *et al.,* 2013). De modo paralelo a la hembra, en la que un adelanto de la pubertad da lugar a un aumento de su producción total de corderos durante su vida útil, un avance de la pubertad en los borregos podría permitir pruebas más tempranas de su progenie, acelerando los beneficios de la selección genética, introduciéndolos a una edad más temprana en los programas de inseminación artificial y reduciendo sus costes de producción (Wheaton y Godfrey, 2003).

Los carneros muestran una marcada variación estacional en muchos aspectos reproductivos, incluido el tamaño de los testículos, la producción de semen, la concentración plasmática de testosterona y el comportamiento sexual, características que generalmente aumentan de primavera a otoño; estos cambios están regulados principalmente por el fotoperíodo, siendo los días largos inhibidores y estimulantes los días cortos (Rosa *et al.*, 2012). Por ello, la época de nacimiento modifica el inicio de la pubertad en el morueco,

de modo que los corderos nacidos en otoño maduran más rápidamente que los nacidos en primavera, aunque la ausencia de estimulación fotoperiódica, asociada con los cambios en la duración del día a los 5-7 meses de edad, provoca una disminución más temprana del peso de los testículos en los corderos nacidos en otoño durante el anestro estacional (Courot *et al.*, 1975). Sin embargo, la modificación del fotoperiodo y las señales socio-sexuales son factores adicionales que pueden modificar el inicio de la pubertad en los ovinos. Así, la exposición a dos meses de días largos (16 h de luz/día) durante el invierno es un medio eficiente para avanzar la pubertad de carneros jóvenes, con el objetivo de reducir la edad en que estos animales pueden usarse en pruebas de progenie para inseminación artificial (Cheminau *et al.,* 1992).

Con respecto a la influencia de las señales sociales, y en concreto la presencia de animales del sexo opuesto sobre el inicio de la pubertad, se ha demostrado que corderas nacidas en otoño alojadas con moruecos sexualmente activos por exposición a dos meses de días largos artificiales, iniciaron su actividad ovulatoria a las 27 semanas de edad, mientras que esto ocurrió a las 39 semanas en las corderas alojadas con machos no activados (Abecia *et al.*, 2016). En cuanto a cabras de raza Alpina en Francia, cabritas prepúberes expuestas a machos sexualmente activos alcanzaron la pubertad 6 semanas antes que las expuestas a machos castrados y sexualmente inactivos, o hembras aisladas (Chasles *et al.*, 2019). Estos datos indican que los machos que se vuelven sexualmente activos por la luz extra previa son muy eficientes para estimular la actividad reproductiva de cabras y ovejas durante el período prepuberal.

La posible influencia de machos adultos sobre el inicio de la pubertad de sus jóvenes congéneres ha sido estudiada por nuestro grupo en la raza Rasa Aragonesa, donde corderos nacidos en otoño se recriaron aislados de otros machos o en compañía de carneros adultos activados sexualmente (Abecia *et al.*, 2021). Sorprendentemente, los borregos criados en aislamiento de otros machos exhibieron un alto nivel de actividad sexual a los 8 meses de edad, en comparación con los grupos recriados en compañía de otros machos, por lo que se concluyó que no es necesaria una estrategia de crianza especial para inducir la pubertad en borregos Rasa Aragonesa, siendo incluso negativa la presencia de machos adultos.

En los machos de raza Merina en España, se ha demostrado que los niveles más altos de testosterona y el diámetro testicular máximo se alcanzan durante el verano (de junio a agosto); aunque estos carneros muestran escasas fluctuaciones anuales en el tamaño de sus glándulas accesorias (vesicular y bulbouretral) (Santiago-Moreno *et al.*, 2005), de acuerdo con los volúmenes de eyaculación relativamente constantes que se ven todo el año (González-López, 1995). En esta raza, los niveles elevados de testosterona coinciden con la aparición de la actividad ovulatoria cíclica en las ovejas, lo que ayuda a asegurar el éxito de la actividad sexual.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la exposición a días largos artificiales a una edad temprana, o la recría en presencia de moruecos adultos sexualmente activados, sobre la actividad sexual, el desarrollo testicular y las concentraciones plasmáticas de testosterona en primavera de borregos de raza Merina nacidos en otoño.

Material y métodos

Los protocolos aplicados siguieron las directrices éticas para la experimentación animal que han sido aprobadas por el Comité de Ética en Investigación del IFAPA. Esta política

cumple la Política Española de Protección Animal RD1201/05, y la Directiva 2010/63 de la Unión Europea sobre la protección de los animales utilizados con fines experimentales y otros fines científicos.

Animales

Se han utilizado 40 corderos de raza Merina nacidos en septiembre en las instalaciones del IFAPA de Hinojosa del Duque (Córdoba) (38° N, 5° O); los animales se destetaron con 45 días de edad y se manejaron y alimentaron de acuerdo a su edad y necesidades hasta los 6 meses de vida. A principios de mes de abril, con un peso vivo (PV) medio (± DE) de 50,6 (± 5,2) kg, y una condición corporal (CC) media de 2,45 (± 0,07), fueron asignado a uno de los siguientes cuatro grupos (Figura 1): DL (n = 10), que estuvieron expuestos a 2 meses de días largos (16 h luz/día) del 1 de febrero al 31 de marzo (5-6 meses de edad), seguido del fotoperiodo natural hasta el final del experimento; MAA (n = 10), que se alojaron desde el 1 de abril hasta el final del experimento con dos machos adultos de la misma raza, los cuales fueron previamente activados sexualmente en primavera (mediante fotoperiodo artificial); MAC (n = 10), que se alojaron con dos machos adultos de la misma raza no activados (machos adultos control, expuestos al fotoperiodo natural en todo momento), hasta el final del experimento, y A (aislados) (n = 10), que se alojaron en todo momento aislados de carneros adultos durante todo el experimento.

Los dos carneros adultos activados en el lote MAA se volvieron sexualmente activos al exponerlos a días largos (16 h luz/día) del 1 de diciembre al 31 de enero (Chemineau *et al.*, 1992; Abecia *et al.*, 2016 y 2021). La iluminación estaba controlada por un temporizador electrónico, y la intensidad de la luz fue de al menos 300 lx al nivel de los ojos de los animales.

A partir del 19 de marzo y hasta el final del experimento, se recogieron muestras de sangre semanalmente para medir la concentración de testosterona plasmática. Además, el PV, la CC y los perímetros escrotales (PE) se registraron quincenalmente, hasta el final del experimento.

Test de comportamiento sexual

Para la realización del test de comportamiento sexual se han utilizado 10 ovejas de raza Merina, previamente sincronizadas en celo mediante esponjas vaginales +440 UI eCG (Syncro-Part, CEVA Salud Animal, España) durante 14 días. A las 48 h de la retirada de las esponjas (25 de junio) se llevó a cabo el test de comportamiento sexual, que consistió en exponer de manera individual a cada borrego a tres ovejas en celo durante 20 min (Kilgour y Whale, 1980; Damián *et al.,* 2015). Se registraron, para cada animal, los siguientes eventos: número de olfateos de la zona ano-vulvar de la oveja, flehmen, patadas laterales a las hembras, empujones, vocalizaciones, exteriorización del pene, intentos de monta (el macho intenta subir sobre la hembra, pero no lo logra), montas (el macho está sobre la hembra, pero no alcanza la penetración ni el eyaculado) y golpes de riñón (montas con eyaculado). Las definiciones de cada evento han seguido las indicaciones de Calderón-Leyva *et al.* (2018). También se han calculado los minutos en los que cada animal no prestó ninguna atención a las hembras (indiferencia), la cantidad de eventos totales y el tiempo en el que se dio el primer golpe de riñón. Las observaciones fueron realizadas por dos observadores previamente adiestrados.

Análisis de testosterona

La concentración plasmática de testosterona se realizó mediante la técnica de quimioluminiscencia en un equipo automatizado para

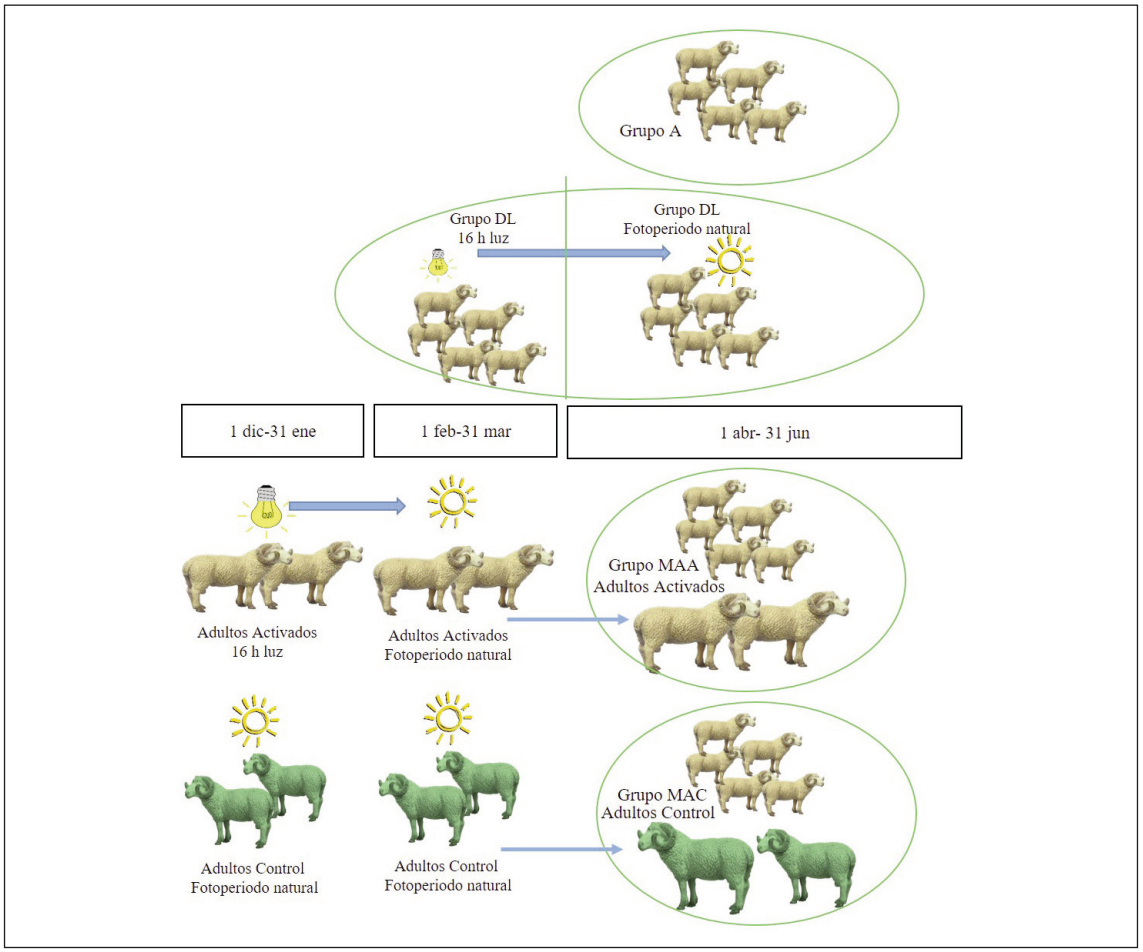


Figura 1. Diseño experimental: a partir del día 1 de abril y hasta el final del experimento, los animales fueron asignado a uno de los siguientes cuatro grupos: DL (n = 10), expuestos a 2 meses de días largos (16 h luz/día) del 1 de febrero al 31 de marzo, seguido del fotoperiodo natural hasta el final del experimento; MAA (n = 10), alojados con dos machos adultos de la misma raza, activados sexualmente en primavera (mediante fotoperiodo artificial); MAC (n = 10), alojados con dos machos adultos de la misma raza control, no activados (expuestos al fotoperiodo natural en todo momento), y A (aislados) (n = 10), alojados en todo momento aislados de carneros adultos durante todo el experimento. Los dos carneros adultos activados en el grupo MAA fueron expuestos a días largos (16 h luz/día) del 1 de diciembre al 31 de enero, pasando a continuación al fotoperiodo natural. Los dos carneros adultos control utilizados en el grupo MAC permanecieron en todo momento bajo el fotoperiodo natural.

Figure 1. Experimental design: from April 1 to the end of the experiment, the animals were assigned to one of the following four groups: DL (n = 10), exposed to 2 months of long days (16 h light/day) from February 1 to March 31, followed by the natural photoperiod until the end of the experiment; MAA (n = 10), housed with two adult males of the same breed, sexually activated in spring (by artificial photoperiod); MAC (n = 10), housed with two non-activated adult males of the same control breed (exposed to the natural photoperiod at all times), and A (isolated) (n = 10), housed at all times isolated from adult rams during the whole experiment. The two activated adult rams in the MAA were exposed to long days (16 h light/day) from December 1 to January 31. The two control adult rams used in the MAC group remained under the natural photoperiod at all times.

inmunoensayos Acces 2 System (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA), empleando reactivos de la misma procedencia. La técnica ha sido validada para la especie ovina por Ayad *et al.* (2018).

Análisis estadístico

Los efectos del tiempo y el método de cría sobre el PV, la CC, el PE y las concentraciones plasmáticas de testosterona fueron evaluados estadísticamente utilizando el procedimiento GLM para medidas repetidas (SPSS v.21, IBM Corp, Armonk, Nueva York). Las observaciones de los test de comportamiento sexual (número de olfateos de la zona ano-vulvar de la oveja, flehmen, patadas laterales a las hembras, empujones, vocalizaciones, exteriorización del pene, intentos de monta, montas y golpes de riñón) fueron comparadas entre grupos mediante análisis de varianza, con las pruebas de rango post hoc DSM (diferencia mínima significativa) para calcular diferencias particulares entre grupos. Los resultados son expresados como media ± error estándar de la media (EEM), y el nivel de significación estadística se establece en $P < 0,05$.

Resultados

Peso Vivo y Condición Corporal

Un animal del grupo MAC fue baja durante el experimento, por lo que a partir de ese momento dicho grupo tuvo un efectivo de 9 animales. No se observaron diferencias significativas entre grupos ni para el PV ni para la CC a lo largo de la experiencia (Figura 2). El 31 de mayo, con 8,5 meses de edad, los animales fueron esquilados, hecho que se refleja en la curva del PV, en todos los grupos estudiados.

Perímetro escrotal

El PE fue incrementándose con el tiempo en todos los grupos considerados, no alcanzándose diferencias significativas entre grupos a lo largo del experimento (Figura 2).

Niveles plasmáticos de testosterona

Los cuatro grupos de borregos presentaron niveles similares de testosterona desde el principio de la experiencia hasta los 7,5 meses de edad (mediados de mayo), cuando todos los grupos mostraron una bajada en las concentraciones plasmáticas de testosterona. A partir de ese momento, el grupo A experimentó un ascenso de sus concentraciones, dándose diferencias significativas con los grupos MAA y MAC ($P < 0,05$) al final del experimento (Figura 2). El grupo A mostró un aumento ($P = 0,10$) de los niveles de testosterona desde los 7,5 meses de edad hasta los 9 meses (junio).

Test de comportamiento sexual

El grupo de borregos criados en aislamiento (A) realizó un número más elevado ($P < 0,05$) de olfateos de vulva, patadas y empujones a las ovejas y golpes de riñón que los grupos criados con machos adultos (MAA y MAC) (Figura 3), realizando del mismo modo un mayor número total de eventos que los lotes MAA y MAC (Tabla 1). Los borregos de grupo MAA mostraron un mayor número de minutos con indiferencia hacia las ovejas en comparación con los lotes DL y A ($P < 0,05$), además de haber precisado un mayor número de minutos para lograr el primer eyaculado ($P < 0,05$) (Tabla 1).

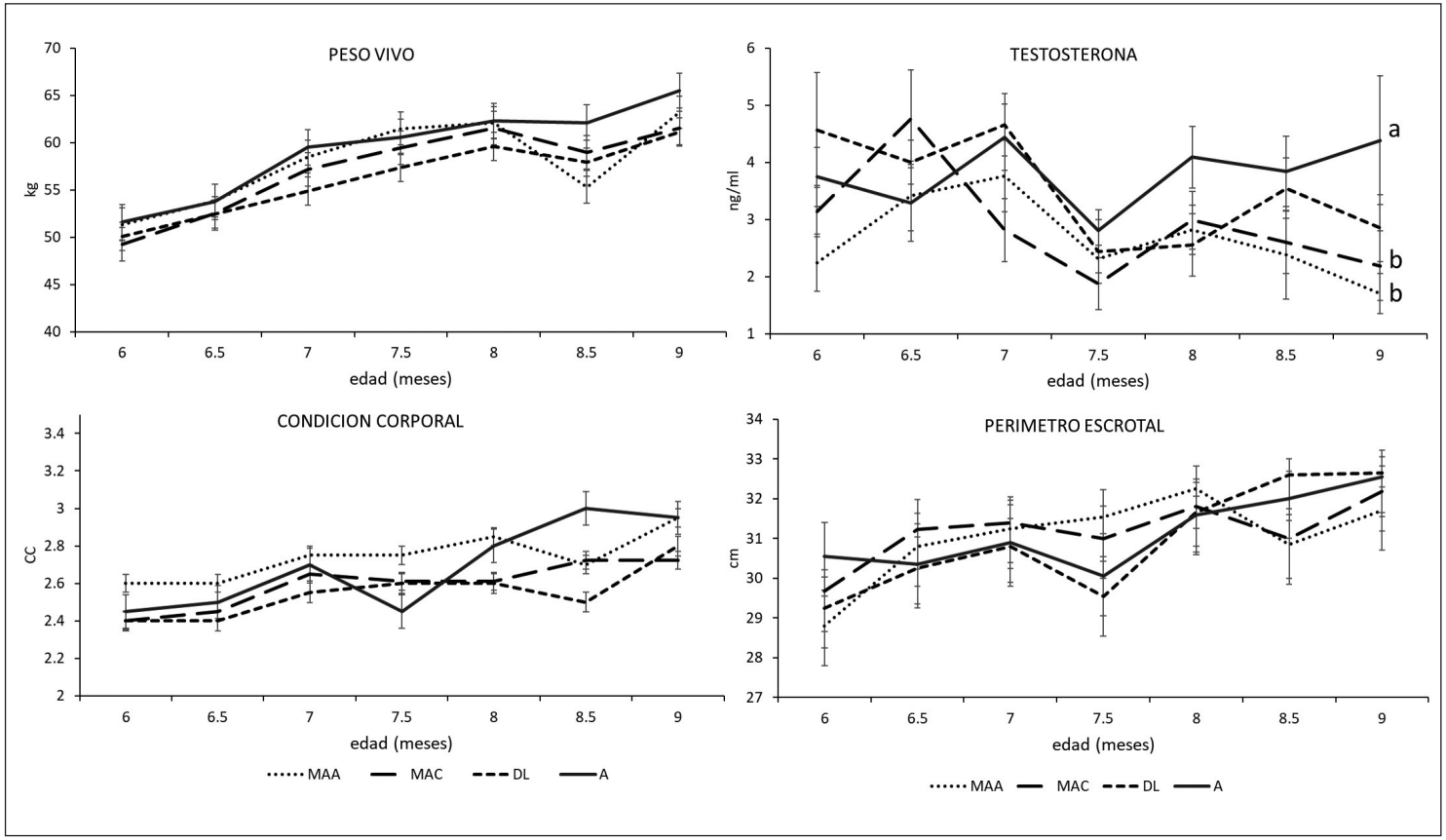


Figura 2. Peso vivo y condición corporal, concentración plasmática de testosterona y perímetro escrotal (media ± EEM), de corderos de raza Merina nacidos en septiembre, que bien habían estado alojados con dos carneros adultos sexualmente activados (MAA), o con dos carneros adultos no activados, control (MAC) desde el 1 de abril hasta el final del experimento, o expuestos a 2 meses de días largos (16 h de luz/día) entre el 1 de febrero y el 31 de marzo (DL), o fueron aislados de todo tipo de machos adultos durante todo el experimento (A). Los dos carneros adultos utilizados en el grupo MAA fueron expuestos días largos (16 h luz/día) del 1 de diciembre al 31 de enero (a,b; indican diferencias significativas $P < 0,05$).

Figure 2. Mean (± SEM) live weight, body condition, plasma testosterone concentration and scrotal perimeter of Merino ram-lambs born in September, that either had been housed with two adult sexually activated rams (MAA), or with two adult non activated rams (MAC) from 1 April to the end of the experiment, or exposed to 2 months of long days (16 h of light/day) between 1 February to 31 March (DL), or were isolated from adult rams throughout the experiment (A). The two activated adult rams used in the MAA group were rendered sexually active by exposing them to long days (16 h light/day) from 1 December to 31 January (a,b; indicate significant differences P < 0.05).

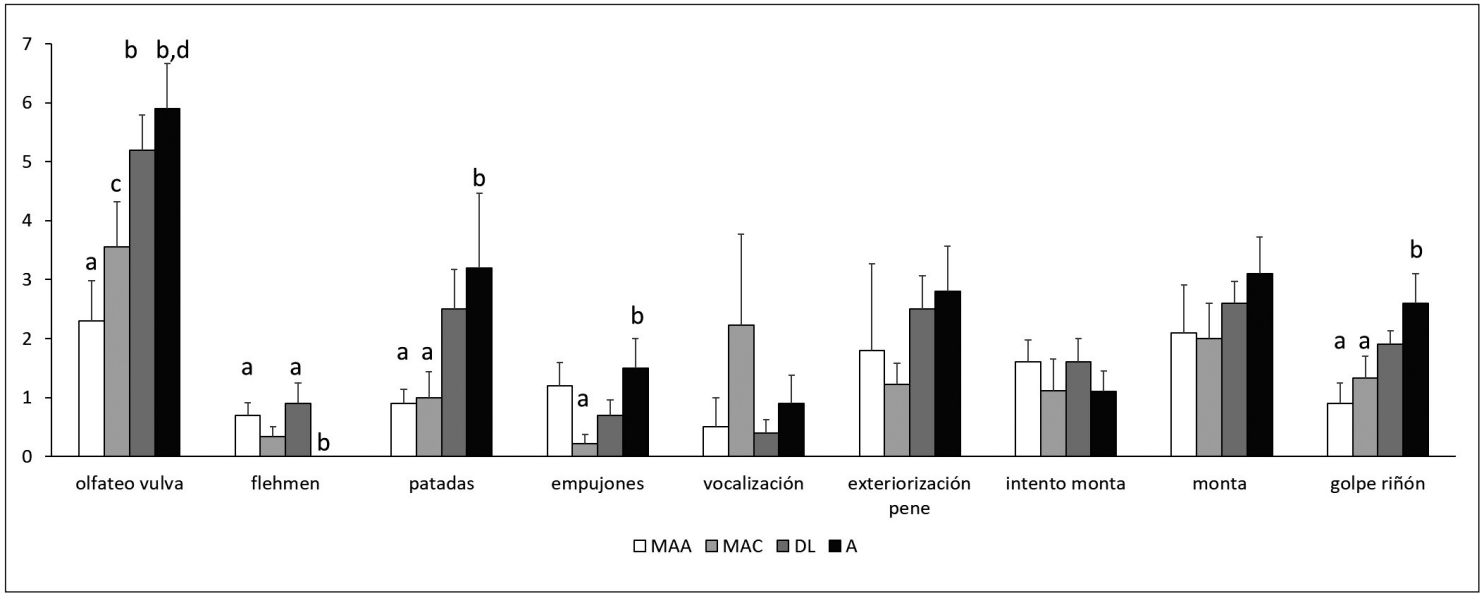


Figura 3. Número medio (± EEM) de eventos realizados en un test individual de comportamiento sexual durante 20 min (un macho con tres ovejas en celo) de corderos de raza Merina nacidos en septiembre, que bien habían estado alojados con dos carneros adultos sexualmente activados (MAA), o con dos carneros adultos no activados, control (MAC) desde el 1 de abril hasta el final del experimento, o expuestos a 2 meses de días largos (16 h de luz/día) entre el 1 de febrero y el 31 de marzo (DL), o fueron aislados de todo tipo de machos adultos durante todo el experimento (A). Los dos carneros adultos utilizados en el grupo MAA fueron expuestos días largos (16 h luz/día) del 1 de diciembre al 31 de enero (a,b; c,d, indican diferencias significativas $P < 0,05$).

Figure 3. Mean (± SEM) number of sexual events performed in a 20 min individual serving-capacity test (one ram with three estrous ewes) by Merino ram-lambs born in September, that either had been housed with two adult sexually activated rams (MAA), or with two adult non activated rams (MAC) from 1 April to the end of the experiment, or exposed to 2 months of long days (16 h of light/day) between 1 February to 31 March (DL), or were isolated from adult rams throughout the experiment (A). The two activated adult rams used in the MAA group were rendered sexually active by exposing them to long days (16 h light/day) from 1 December to 31 January (a,b; c,d, indicate significant differences $P < 0.05$).

Tabla 1. Número total de eventos registrados en un test individual de comportamiento sexual durante 20 min (un macho con tres ovejas en celo), número de minutos en los que los machos mostraron indiferencia por las ovejas, y tiempo necesario para la primera monta con eyaculado (media ± EEM), de corderos de raza Merina nacidos en septiembre, que bien habían estado alojados con dos carneros adultos sexualmente activados (MAA), o con dos carneros adultos no activados, control (MAC) desde el 1 de abril hasta el final del experimento, o expuestos a 2 meses de días largos (16 h de luz/día) entre el 1 de febrero y el 31 de marzo (DL), o fueron aislados de todo tipo de machos adultos durante todo el experimento (A). Los dos carneros adultos utilizados en el grupo MAA fueron expuestos días largos (16 h luz/día) del 1 de diciembre al 31 de enero (a,b indican diferencias significativas $P < 0,05$).
Table 1. Mean (± SEM) number of total events performed in a 20 min individual serving-capacity test (one ram with three estrous ewes), number of minutes when rams did not present any attention to the ewes, and minutes needed for the first service with ejaculation, by Merino ram-lambs born in September, that either had been housed with two adult sexually activated rams (MAA), or with two adult non activated rams (MAC) from 1 April to the end of the experiment, or exposed to 2 months of long days (16 h of light/day) between 1 February to 31 March (DL), or were isolated from adult rams throughout the experiment (A). The two activated adult rams used in the MAA group were rendered sexually active by exposing them to long days (16 h light/day) from 1 December to 31 January (a,b indicate significant differences P<0.05).

Grupo	Total	Indiferencia (min)	Primer eyaculado (min)
MAA	12,0 ± 2,6[a]	6,2 ± 2,j,6[a]	6,2 ± 3,1[a]
MAC	13,0 ± 2,0[a]	4,0 ± 2,5	5,8 ± 1,8
DL	18,3 ± 1,8	0,6 ± 0,6[b]	3,9 ± 1,1[b]
A	21,1 ± 3,9[b]	1,7 ± 0,9[b]	3,9 ± 1,5[b]

Discusión

En este experimento la cuantificación de las concentraciones plasmáticas de testosterona y el desempeño de los animales en los test de comportamiento sexual se diseñaron como herramienta para estudiar si el modo de cría de los corderos durante su etapa prepuberal afecta al inicio de la pubertad de corderos de raza Merina nacidos en otoño. Para la hembra ovina, diversos estudios han demostrado que ciertos factores sociales pueden influir en el inicio de su pubertad. Así, la presencia de moruecos sexualmente activos por tratamiento lumínico adelantó el momento de la primera ovulación y el primer celo de corderas Rasa Aragonesa nacidas en otoño (Abecia *et al.,* 2016). Si bien las concentraciones plasmáticas de progesterona o los signos de celo son indicadores de inicio de la pubertad en las corderas, los niveles plasmáticos de testosterona por sí solos no pueden ser un indicador inequívoco del inicio de la pubertad en los corderos machos. Según indican Wheaton y Godfrey (2003), los machos de la especie ovina inician su pubertad en la semana de edad en la que sus eyaculados contienen un número mínimo de espermatozoides, o simplemente contiene espermatozoides móviles (Khalifa *et al.,* 2013). Sin embargo, el test de comportamiento sexual, junto a las concentraciones plasmáticas de testosterona y las posibles variaciones de PV y PE pueden ser también indicadores de cambios fisiológicos prepuberales.

En el morueco, se ha demostrado que secreción puberal de LH se inicia a una edad más temprana que en las hembras, a las 10-15 semanas de vida, iniciándose entonces un aumento gradual de la secreción de testosterona, conduciendo a su vez al desarrollo de los testículos y la espermatogénesis (Foster *et al.*, 2006). Los cuatro grupos estudiados en el presente experimento mostraron unos niveles elevados y similares de testosterona desde el inicio del muestreo de sangre, a los 6 meses de edad, aunque al inicio del anestro estacional, con 7,5 meses de edad, todos los grupos mostraron un claro descenso de sus concentraciones plasmáticas de esta hormona. Sin embargo, solo el grupo criado en aislamiento y sometido al fotoperiodo natural fue capaz de mostrar un incremento en sus niveles de testosterona posteriormente, observándose diferencias significativas con el resto de los grupos al final del experimento, con 9 meses de edad.

Los corderos expuestos a días largos (grupo DL) no mostraron un mayor desarrollo testicular ni una mayor concentración de testosterona plasmática que los grupos criados en compañía de machos adultos. En otro estudio, utilizando corderos de razas Lacaune e Ile-de-France de 3 meses nacidos en otoño (Colas *et al.,* 1987), la exposición a 8 semanas u 11 semanas de días largos, seguidos de días cortos, dio lugar a un desarrollo sexual acelerado, medido por cambios en el crecimiento testicular. En nuestro experimento, los corderos tratados con fotoperiodo artificial experimentaron 2 meses de días largos entre los 5 meses y 6 meses de edad, seguidos por fotoperiodo natural; por tanto, probablemente, el regreso al fotoperiodo natural en ese momento impidió cambios en su desarrollo sexual. En el estudio de Colas *et al.* (1987), una vez finalizado el tratamiento de luz, cuando los corderos regresaron a la duración natural del día, su volumen testicular disminuyó rápidamente, pero el volumen testicular de los corderos del lote control comenzó a aumentar normalmente en primavera-verano.

Los corderos que estuvieron expuestos a machos adultos, sexualmente activados o no en primavera, exhibieron un menor nivel de actividad sexual que los machos que se criaron en aislamiento de otros machos adultos, y no alcanzaron niveles plasmáticos de testosterona similares a los machos en aislamiento. Los resultados de la presente experiencia son muy similares a los obtenidos por nuestro grupo utilizando corderos de raza Rasa Aragonesa, bajo un diseño experimental similar (Abecia *et al.*, 2021), si bien en esa experiencia, tras los test individuales de monta, los animales fueron sometidos a un test de fertilidad en rebaño, observando que los animales aislados y los acompañados de machos adultos activados tuvieron una fertilidad del 90 % y 100 %, respectivamente, siendo las fertilidades de los lotes tratados con fotoperiodo artificial o acompañados de machos adultos control de un 50 % y 40 %, respectivamente. De hecho, Ungerfeld y Lacuesta (2010) demostraron que el desempeño reproductivo del morueco Corriedale × Milchschaf puede estar influenciado por su rango social durante su etapa prepuberal, aun cuando no existan diferencias en las concentraciones plasmáticas de testosterona o la producción de semen en relación con el rango social. Aun cuando no lo hemos estudiado en este experimento, es probable que los machos adultos hayan colocado a los machos jóvenes en un rango social inferior, inhibiendo la expresión de un comportamiento sexual pleno en presencia de hembras. De hecho, la cría de machos en grupos del mismo género en ovinos facilita la formación de relaciones sociales entre machos que, al menos temporalmente, impiden el desarrollo en algunos machos de interés sexual sobre las hembras (Price *et al.,* 1988). Illius *et al.* (1976) criaron grupos de corderos bajo diversos entornos (aislamiento, grupos exclusivamente

masculinos o grupos mixtos) y midieron los cambios en las concentraciones plasmáticas de testosterona desde el nacimiento hasta los 21 meses de edad. Los niveles plasmáticos de testosterona no fueron influenciados significativamente por el entorno social y, como en nuestro experimento, la testosterona plasmática se mantuvo en niveles similares coincidiendo con el presunto inicio de la pubertad. Además, dado que el tamaño de los testículos y la función espermatogénica están altamente correlacionados (Yarney *et al.,* 1990), se supone que la ausencia de diferencias en PV y PE pueden reflejar una ausencia de diferencias en la calidad del esperma.

Conclusiónes

En conclusión, borregos de raza Merina nacidos en otoño, criados desde el destete en aislamiento de otros machos adultos, presentan signos de actividad sexual durante su primer anestro estacional más evidentes que con corderos criados en presencia de machos adultos, activados o no sexualmente en primavera. El grupo de corderos que también se crio en aislamiento, pero fue expuesto a días largos entre los 5 meses y 6 meses de edad, tuvo un comportamiento sexual algo mejor que los corderos criados en compañía de adultos, pero sin llegar al nivel de los que permanecieron en aislamiento y fotoperiodo natural, por lo que parece que los tratamientos lumínicos a edad tempranas en macho ovinos nacidos en otoño, para adelantar su pubertad, no son eficientes, al menos en razas mediterráneas.

Agradecimientos

Proyecto PP.AVA.2019.001. Financiado por fondos FEDER.

Referencias bibliográficas

Abecia JA, Chemineau P, Gómez A, Keller M, Forcada F, Delgadillo JA (2016). Presence of photoperiod-melatonin-induced, sexually activated rams in spring advances puberty in autumn-born ewe lambs. Animal Reproduction Science 170: 114-120. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.011.

Abecia JA, Gave M, García AI, Casao A, Carvajal-Serna M, Palacios C, Keller M, Chemineau P, Delgadillo JA (2021). Long days in winter or the presence of adult sexually active rams did not influence the timing of puberty of autumn-born Rasa Aragonesa ram-lambs. Biological Rhythm Research 52: 462-473. https://doi.org/10.1080/09291016.2019.1613321.

Ayad A, Benhanifia M, Benbarek H (2018). The ability of human electrochemiluminescence immunoassay to measure testosterone and progesterone in ovine plasma. Malaysian Journal of Veterinary Research 9: 22-30.

Calderón-Leyva G, Meza-Herrera CA, Rodriguez-Martinez R, Angel-García O, Rivas-Muñoz R, Delgado-Bermejo JV, Véliz-Deras FG (2018). Influence of sexual behavior of Dorper rams treated with glutamate and/or testosterone on reproductive performance of anovulatory ewes. Theriogenology 106: 79-86. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.016.

Chasles M, Chesneau D, Moussu C, Abecia JA, Delgadillo JA, Chemineau P, Keller M (2019). Highly precocious activation of reproductive function in autumn-born goats (*Capra hircus*) by exposure to sexually active bucks. Domestic Animal Endocrinology 68: 100-105. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2019.01.004.

Chemineau P, Malpaux B, Delgadillo JA, Guérin Y, Ravault JP, Thimonier J, Pelletier J (1992). Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Animal Reproduction Science 30: 157-184. https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90010-B.

Colas G, Guerin Y, Briois M, Ortavant R (1987). Photoperiodic control of testicular growth in the ram lamb. Animal Reproduction Science 13: 255-262. https://doi.org/10.1016/0378-4320(87)90062-5.

Courot M, de Reviers MM, Pelletier J (1975). Variation in pituitary and blood LH during puberty in the male lamb. Relation to time of birth. Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique 15: 509-516.

Damián JP, Beracochea F, Hötzel MJ, Banchero G, Ungerfeld R (2015). Reproductive and sexual behaviour development of dam or artificially reared male lambs. Physiology & Behavior 47: 47-53. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.04.004.

Foster DL, Jackson LM, Padmanabhan V (2006). Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity. Molecular and Cellular Endocrinology 254-255: 109-119. https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.04.004.

Foster DL, Hileman SM (2015). Puberty in the Sheep. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Ed. Plant TM, Zeleznik AJ), pp. 1441-1485, Elsevier, Amsterdam.

González-López J (1995). Caracterización del control reproductivo en la oveja merina. Ovis 41: 71.

Illius AW, Haynes NB, Purvis K, Lamming GE (1976). Plasma concentrations of testosterone in developing ram in different social environments. Journal of Reproduction and Fertility 48: 17-24. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0480017.

Khalifa EI, Ahmed ME, Hafez YJ, El-Zolaky OA, Bahera KM, Abido AA (2013). Age at puberty and fertility of Rahmani sheep fed on biological inoculated corn silage. Annals of Agricultural Sciences 58: 163-172. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2013.07.003.

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

Price EO, Katz LS, Wallach SJR, Zenchak JJ (1988). The relationship of male-male mounting to the sexual preferences of young rams. Applied Animal Behaviour Science 21: 347-355. https://doi.org/10.1016/0168-1591(88)90069-X.

Rosa HJD, Silva CC, Bryant MJ (2012). The effect of melatonin treatment in rams on seasonal variation of testicular size and semen production parameters. Small Ruminant Research 102: 197-201. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.06.012.

Santiago-Moreno J, Gómez-Brunet A, Gonzalez-Bulnes A, Toledano-Díaz A, Malpaux B, López-Sebastían A (2005). Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with interspecific annual variations in plasma prolactin concentrations. Domestic Animal Endocrinology 28: 416-429. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.002.

Ungerfeld R, Lacuesta L (2010). Social rank during pre-pubertal development and reproductive performance of adult rams. Animal Reproduction Science 121: 101-105. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.05.007.

Valasi I, Chadio S, Fthenakis GC, Amiridis GS (2012). Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. Animal Reproduction Science 130: 126-134. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.005.

Wheaton JE, Godfrey RW (2003). Plasma LH, FSH, testosterone, and age at puberty in ram lambs actively immunized against an inhibin α-subunit peptide. Theriogenology 60: 933-941. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00104-3.

Yarney TA, Sanford LM, Palmer WM (1990). Pubertal development of ram lambs: body weight and testicular size measurements as indices of postpubertal reproductive function. Canadian Journal of Animal Science 70: 139-147. https://doi.org/10.4141/cjas90-016.

(Aceptado para publicación el 10 de marzo de 2021)

Pradera de *Lolium perenne* y *Trifolium repens* en Asturias. I. Evolución de la composición química y de la digestibilidad *in vivo* sobre vacas frisonas a lo largo del año

Begoña de la Roza-Delgado*, Adela Martínez-Fernández, María Sagrario Modroño y Alejandro Argamentería

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Carretera AS-267, PK. 19, 33300 Villaviciosa. Asturias. España

Resumen

En una finca experimental de Asturias (Norte de España; Arco Atlántico; 43° 28' 50" N, 5° 26' 27" W, 10 m s.n.m.), con pradera de *Lolium perenne* y *Trifolium repens*, para pastoreo rotacional y ensilado, aprovechada por vacas frisonas con partos de invierno, se determinó durante ocho años sucesivos el contenido en principios nutritivos de las ofertas y rechazos de forrajes, así como las digestibilidades *in vivo* de los mismos y el efecto de diversas suplementaciones sobre la digestibilidad de la ración total. Cada año, el rebaño se dividió en tres grupos: un lote testigo sin concentrado y otros dos para contrastar diferentes dosis (según producción o aporte fijo) y modalidades de concentrado (dos ricos en almidón y uno rico en fibra digestible). Dos vacas de cada lote se alojaban en plazas metabólicas para control de ingestión voluntaria de forraje, dosis de concentrado, excreción de heces, orina y leche, y, peso vivo y condición corporal. Diariamente se tomaron muestras para análisis de composición química y cálculo de digestibilidad *in vivo*. Los resultados mostraron que la hierba evaluada presentaba una limitación nutricional por la pérdida de digestibilidad de la materia orgánica en verano (59,4 % en agosto, más baja aún que la de los ensilados, frente a 74,4-77,5 % en primavera y 73,2-78,3 % en otoño, $p < 0{,}001$). No obstante, destacó la elevada digestibilidad de la fibra neutro detergente de los forrajes (intervalo anual 51,8-76,0 %). Los valores de digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los concentrados oscilaron entre 85,5 % y 74,4 % para los dos concentrados ricos en almidón y del 71,5 % para el concentrado rico en fibra de alta digestibilidad.

Palabras clave: Vacuno lechero, pastoreo rotacional, efecto selectivo, valor nutritivo.

Sown meadows of *Lolium perenne* and *Trifolium repens* in Asturias. I. Evolution of the chemical composition and *in vivo* digestibility on Friesian cows throughout the year

Abstract

In an experimental farm located in Asturias (North of Spain; Atlantic Area; 43° 28' 50" N, 5° 26' 27" W, 10 m above sea level), with sown meadows of *Lolium perenne* and *Trifolium repens*, in a system of rotational grazing and silage for Friesian cows with winter calving, was determined along eight consecutive

* Autor para correspondencia: broza@serida.org

Cita del artículo: de la Roza-Delgado B, Martínez-Fernández A, Modroño MS, Argamentería A (2022). Pradera de *Lolium perenne* y *Trifolium repens* en Asturias. I. Evolución de la composición química y de la digestibilidad *in vivo* sobre vacas frisonas a lo largo del año. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 48-68. https://doi.org/10.12706/itea.2021.013

years the chemical composition of offers and refusals, the *in vivo* digestibility of the forages, as well as the effect of different supplementations on the total diet digestibility. Each year, the herd was distributed in three groups: a control group without supplementation and another two treatments to contrast different doses (according milk yield or flat rate) and modalities of concentrate (two concentrate rich in starch and another one in digestible fiber). Two cows of each groups were allocated into metabolic stalls to control of voluntary intake of forage, concentrate dose, excretion of feces, urine and milk, plus live weight and body condition score control. Samples were taken daily for nutritive analysis and estimation of *in vivo* digestibility. It was detected that the evaluated grass from North of Spain has a nutritional limitation due to organic matter digestibility loss in summer (59.4 % in August, respect 74.4-77.5 % in spring and 73.2-78.3 % in autumn, $p < 0.001$). Nevertheless, it was surprising the high neutral detergent fiber digestibility results (annual range 51.8-76.0 %). The *in vivo* organic matter digestibility of concentrates values ranged from 85.5 % and 74.4 % for starch-rich concentrates and 71.5 % for the concentrate rich in high digestibility fiber.

Keywords: Dairy milk, rotational grazing, selective effect, nutritive value.

Introducción

En la zona costera del Norte de España, los sistemas de producción de leche no pueden ser tan extensivos como en otros países de zonas templado-húmedas, por limitaciones de disponibilidad de superficie, topografía, entre otros. Por ello, muchas de las explotaciones de la Cornisa Cantábrica han mantenido una elevada dependencia de alimentos adquiridos, lo que supone una mayor suplementación, debido a su limitada base territorial, por lo que resulta necesaria la mejora de su autonomía alimentaria mediante un incremento de la producción y la calidad de los forrajes propios.

El manejo en pastoreo presenta cada vez más oportunidades, debido, por una parte, a su bajo coste y, por otra, a que la industria láctea trata de adaptarse a las demandas de los consumidores respecto de una producción respetuosa con el medio ambiente, impulsando sistemas de manejo más sostenibles, que deriva en una estrategia comercial y la obtención de precios más elevados que los convencionales (Blanco-Penedo *et al.,* 2019). A ello, se une que la producción de leche en el Norte de España está bien vista por la sociedad, que aprecia una alimentación más natural, mayor bienestar y salud animal. Por tanto, existe una tendencia en alza hacia la producción de leche de vacuno en sistemas sostenibles y de reducido impacto medioambiental basados en la utilización de pastos y forrajes frescos y ensilados.

Por otro lado, el norte de Europa se posiciona en la vanguardia del bienestar animal, con gran concienciación sobre las necesidades de los animales y cuenta con una legislación que reconoce que el acceso al pasto en el ganado vacuno forma parte del comportamiento natural de las vacas.

En la Cornisa Cantábrica la producción de leche de vacuno en sistemas sostenibles y de reducido impacto medioambiental, se basa en la utilización de pastos y forrajes frescos y ensilados. Martínez-Fernández *et al.* (2008) determinaron a lo largo de 12 años la producción de materia seca de prados, praderas y cultivos forrajeros anuales en una finca experimental del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) en Villaviciosa (Asturias). Además, tuvo lugar el análisis químico de todas las muestras de ofertas y rechazos de hierba, así como del forraje segado para ensilar y de los ensilados obtenidos, tratando de obtener toda la información nutricional posible mediante

métodos de laboratorio, para recoger la variabilidad interanual e interestacional y, que, en definitiva, resultase una herramienta de ayuda a este tipo de explotaciones.

La valoración nutricional de alimentos para el ganado, incluye evaluaciones de digestibilidad *in vivo* además de las rutinas analíticas. De la Roza-Delgado *et al.* (2007) llevaron a cabo ensayos *in vivo* sobre ganado ovino para determinar la digestibilidad *in vivo* de forrajes verdes, prehenificados y ensilados producidos en las mismas fincas del SERIDA en que se realizaron los ensayos de larga duración antes referenciados.

Se pretendió incrementar el grado de autonomía de la explotación lechera en la alimentación del ganado mediante la optimización en el uso de los recursos forrajeros propios, a través del conocimiento del valor nutricional de los recursos forrajeros, basado en una experiencia de 8 años paralela y complementaria a todo lo anterior. Tratando de reducir el impacto ambiental y avanzar hacia un modelo de explotación mucho menos dependiente de insumos externos para la alimentación y, por tanto, más sostenible y en línea con las demandas de los consumidores. Este trabajo se planteó como la primera etapa de una serie de experiencias que combinan ensayos sobre producción y calidad de la leche con otros de tipo metabólico, incluyendo la determinación de parámetros nutricionales de forrajes y de la suplementación aplicada, a fin de caracterizar la relación existente entre ambos.

Material y métodos

Finca experimental, rebaño e instalaciones

Se utilizó una finca experimental del SERIDA (43° 28' 50" N, 5° 26' 27" W, 10 m s.n.m.). Su suelo es arcilloso y húmedo. La precipitación total anual es de 1102 mm y la temperatura media anual de 13,2 °C. Su superficie de 24 ha está dividida en 18 parcelas de 0,8-1,9 ha para pastoreo rotacional. Dispone de sala de ordeño en paralelo, estabulación libre con dispositivo para suministro individual y programado de concentrado y parque de maquinaria completo.

El rebaño se componía de 60 vacas de raza Holstein Friesian, con un 30 % de novillas de primer parto.

La nave metabólica para vacuno lechero dispone de nueve plazas de adaptación y seis para recolección de heces, orina y leche. Se construyó conforme al modelo del *Institute of Grassland and Environmental Research* (Reino Unido).

Manejo de la finca y del rebaño

Las parcelas, excepto dos que eran de prado, estaban destinadas a praderas de raigrás inglés (*Lolium perenne* L.), raigrás híbrido (*Lolium* x *hibridum* L.) y trébol blanco (*Trifolium repens* L.). Respecto al raigrás inglés, se utilizaron diez variedades de precocidad diferente, desde muy precoz a muy tardía, diploides y tetraploides. De trébol blanco, se sembró siempre la variedad *cv.* 'Huía', de acuerdo a lo descrito por Martínez-Fernández *et al.* (2008).

El raigrás híbrido (*cv*. 'Manawa' y *cv*. 'Sabrina'), debido a su escasa persistencia, tiene mínima contribución a la producción pratense a partir del segundo año. Por tanto, la pradera se puede considerar como de raigrás inglés y trébol blanco con adventicias, principalmente representadas por *Rumex obtusifolius* L., *Ranunculus despectus* M. Laínz, *Agrostis capillaris* L., *Taraxacum officinale* Weber s.l., *Rumex acetosa* L., *Dactylis glomerata* L. y otras.

La fertilización consistió inicialmente en 120 kg/ha/año de P_2O_5 y 80 kg/ha/año de K_2O. En años sucesivos, se ajustó en función de los resultados de análisis de suelo. De nitrógeno, se aportaron 30 kg/ha en invierno y después de cada aprovechamiento en pastoreo con condiciones climáticas favorables

(90-300 kg N/ha/año según temperatura y precipitaciones a lo largo del año). Para el primer corte a ensilar (en abril o mayo), se reservó el 40-50 % de la superficie total. Se aportaron 100 kg N/ha y se segó tras 6-7 semanas de crecimiento de la hierba. Para el segundo corte (en junio o julio), se reservó sólo el 30-40 % de la superficie total, se aportaron 80 kg N/ha y se segó a las 5-6 semanas. Con el primer corte, se efectuó ensilado directo en silo trinchera, con adición de ácido fórmico (3,5 l/t de forraje verde) en caso de alta humedad medioambiental. Para el segundo corte se prehenificó la hierba segada y se elaboró ensilado en rotopacas.

La altura media anual del pasto, tomada con swardstick, fue de 18,9 ± 2,94 cm a la entrada del rebaño y de 7,4 ± 0,31 cm a la salida.

La fecha media de parto de las vacas tuvo lugar en enero. El rebaño se dividió cada año en tres lotes homogéneos: uno para pastoreo rotacional sin suplementación (solo bloques de corrector vitamínico-mineral a libre disposición) y, los otros dos, se suplementaron con tres tipos de concentrados (B1, B2 y B), cuya composición en ingredientes y dosis se presentan en la Tabla 1. Los ordeños tenían lugar a las 7:00 y a las 15:00. A este manejo rutinario se agregó la actividad experimental.

Diseño experimental

En los ensayos solo se utilizaron vacas multíparas.

Se consideraron diez categorías de factor Forraje: hierba verde del mes de marzo, de abril, de mayo, de primera mitad de junio (Junio1), de segunda mitad de junio (Junio2), de agosto, de octubre, de noviembre, ensilado horizontal de primer corte y ensilado de rotopacas de segundo corte. Y, tres categorías de factor tipo de concentrado (TipoConc). Dos eran de alto contenido en almidón (B1 y B2) y otro rico en fibra de alta digestibilidad (B). Se utilizaron a su vez cuatro diferentes escalas de suplementación (E1, E2, E3, E4). Al concentrado B1 se le aplicaron las escalas E1 y E2. Al B2, todas las escalas mencionadas. Por otro lado, al B, sólo la E4. Resultan así siete diferentes suplementaciones B1E1, B1E2, B2E1, B2E2, B2E3, B2E4, BE4. Véanse en la Tabla 1 las características de los tres concentrados y los kg concentrado/vaca/día, correspondientes a cada escala.

Cada año, el rebaño se dividió en un lote testigo sin concentrado y otros dos para contrastar sucesivamente las siete combinaciones TipoConc × Escala de suplementación, según lo antes expuesto. Cada 2-4 meses, seis vacas representativas (dos de cada lote) se alojaron en la nave metabólica en respectivas plazas individuales para control de ingestión voluntaria de forraje, dosis de concentrado y recogida de excretas con sistema de separación de heces y orina. Se determinó al principio y final de cada experiencia el peso vivo en ayunas tras el primer ordeño, a fin de calcular el nivel de alimentación a que tuvo lugar el ensayo, estableciéndose 15 días de adaptación y 7 días de control. Los animales recibían la misma dieta que su lote de procedencia, donde una pequeña superficie de cada parcela de pastoreo asignada era cercada para segar diariamente la cantidad necesaria de hierba, mediante motosegadora de barra de corte frontal de 1,50 m de ancho, con una altura de corte de 5-6 cm. Se tomaron dos muestras diarias: una para determinación del contenido en materia seca (MS; estufa de aire forzado a 102 °C durante 24 h) y otra se conservó a –30 °C hasta su liofilización. Para ensilado horizontal se disponía de desensiladora y para ensilado de rotopacas, de punzones frontal y posterior. La cantidad necesaria para la nave metabólica se separaba manualmente y se muestreaba de igual manera que el forraje verde, agregando una muestra de 1 kg a acumular a –30 °C, con destino a extracción de jugo para análisis fermentativo.

Tabla 1. Composición porcentual de ingredientes en concentrados y escalas de suplementación aplicadas.
Table 1. Ingredients percentage of the compound feeds and supplementation targets.

Concentrado	Composición (†)	
B1	Cebada	75 %
	Harina de pescado	25 %
	Corrector vitamínico-mineral	50 g/vaca·día
B2	Cebada	85 %
	Harina de pescado	12,5 %
	Corrector vitamínico-mineral	2,5 %
B	Trigo	24,25 %
	Pulpa de remolacha	24,25 %
	Gluten de maíz	39 %
	Melaza	5,5 %
	Pulpa de cítricos	2,5 %
	Tercerilla	2 %
	Corrector vitamínico-mineral	2,5 %

Escala	kg concentrado /vaca·día
E1	9,5-0 (según producción de leche)
E2	5-0 (según producción de leche)
E3	2 en primavera; 5 resto del año
E4	5 constante en toda la lactación

Escalas aplicadas según concentrado

Concentrado	Escalas			
	E1	E2	E3	E4
B1	Aplicada	Aplicada	na	na
B2	Aplicada	Aplicada	Aplicada	Aplicada
B	na	na	na	Aplicada

(†): Al inicio de estas experiencias, de muy larga duración, aún no estaba en vigor la prohibición del uso de harinas de origen animal en la Unión Europea. De cualquier manera, el uso de las mismas carece de importancia para la interpretación de los resultados obtenidos.

na: no aplica.

Resulta imposible que en la nave metabólica se pueda reproducir exactamente el comportamiento del animal en el pasto; solo se puede pretender una aproximación. Conforme al sistema de alimentación más novedoso (Systali project), desarrollado por el INRA, según disponibilidad de hierba y tiempo de pastoreo, se puede diferenciar una situación de control no nutricional de la ingestión de otra situación de control nutricional (Faverdin *et al.*, 2018a,b). Las condiciones en que se realizó el presente trabajo, enmarcado dentro del ya referenciado de Martínez-Fernández *et al.* (2008), lo sitúan dentro del control nutricional, siendo esperable una aproximación al comportamiento en pastoreo.

El concentrado se suministró en dos aportes iguales después de cada ordeño diario y se tomaron dos muestras en cada balance, una para determinación de MS y otra para su análisis en el Laboratorio de Nutrición del SERIDA (Acreditación ENAC 430/LE930). Las dosis por vaca se ingirieron en un plazo de 30 min, sin rechazos. A continuación, se aportó la mitad de la dieta basal de hierba segada o de ensilado de hierba, que fue calculada como ingestión de MS del día anterior más un 10 % durante el periodo pre-experimental. En función de estos resultados previos, durante el periodo de control se asignó una cantidad constante de forraje en oferta, esperando un 10 % de rechazos en MS.

Las determinaciones realizadas fueron:

– Composición química: materia seca (MS), cenizas, proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND), fibra neutro detergente libre de cenizas (FNDLC) y energía bruta (EB) de ofertas y rechazos del forraje. En ofertas de forraje se determinó también la digestibilidad enzimática neutro detergente-celulasa de la materia orgánica (DEMO).
– En las muestras acumuladas de oferta de ensilados se obtuvo jugo por presión con destino a análisis de pH, nitrógeno soluble, nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles y alcoholes.
– Coeficientes de digestibilidad *in vivo* de los principios nutritivos, calculados individualmente por vaca.

Se consideró necesario efectuar las siguientes determinaciones adicionales:

– Rechazos totales en MS sobre la respectiva oferta (pRechazos). El objetivo era mantener un 10 %, pero el contenido en materia seca de forrajes verdes y ensilados varía diariamente e imposibilita cumplir con exactitud el objetivo inicial.
– Composición química de los concentrados: MS, cenizas, PB, extracto etéreo con hidrólisis previa, fibra bruta, materiales extractivos libres de nitrógeno, FND con amilasa, ídem libre de cenizas (FNDLC) y EB.

Los coeficientes de digestibilidad de los principios nutritivos de los forrajes se refirieron a nivel de alimentación igual a 1 para poder efectuar su predicción por métodos de laboratorio en igualdad de condiciones, siguiendo la metodología que se describe a continuación.

Siendo conocidos los valores de EB, su digestibilidad y la ingestión voluntaria, el cálculo de la energía digestible ingerida (EDI) es inmediato. Considerando las necesidades de energía digestible de mantenimiento (EDm = (0,5 × [peso vivo] ^0,75 y 0,81), según ARC (1980), se calcula el nivel de alimentación (L= EDI/EDm). Los coeficientes de digestibilidad de la materia orgánica de los forrajes (DMOf), pueden ahora ser referidos a nivel de mantenimiento (DMO1x) según la siguiente expresión (Blaxter, 1969):

$$DM01x = [DMOf + 10,7 \times (L - 1)]/[1 + 0,113 \times (L - 1)]$$

Análisis químicos

Las muestras liofilizadas de ofertas de forrajes, rechazos y heces fueron molidas a 0,75 mm para análisis de MS final y cenizas (analizador termogravimétrico modelo TGA-601 de Leco Instr; 103 °C y 550 °C respectivamente; PB como nitrógeno Kjeldahl × 6,25 (Tecator); FND y FNDLC (Van Soest *et al.,* 1991); DEMO (Riveros y Argamentería, 1987); EB se determinó con un calorímetro adiabático PARR. Las muestras de concentrado fueron molidas directamente a 1 mm para posterior análisis de los componentes especificados en el apartado anterior con el mismo instrumental. Una submuestra de cada ensilado de hierba fue prensada para determinación en el jugo de pH, nitrógeno soluble (Kjeldahl), nitrógeno amoniacal (Fiastar, Tecator), ácidos láctico, acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico (cromatografía de gases, columna Carbopack de Supelco) y metanol, etanol, propanol y butanol (cromatografía de gases, columna TC de Supelco). La materia seca verdadera de los ensilados se determinó según pérdida de peso tras liofilización.

Análisis estadístico

Se efectuó mediante la aplicación informática R de libre acceso (R Core Team, 2013). Como paso previo, se comprobó el ajuste a la distribución normal de todos los parámetros considerados mediante el test de Shapiro-Wilks. También, si se cumplía el supuesto de homogeneidad de varianzas (a nivel de valores obtenidos y de residuos según modelo lineal), mediante el test de Bartlett. Salvo pocas ocasiones, no se hallaron problemas de falta de normalidad. Pero sí se detectó heterocedasticidad en la mayoría de los casos, a veces altamente significativa e imposible de solucionar mediante transformaciones. Debido a ello, se optó por acudir a los métodos robustos (WRS2; Mair y Wilcox, 2018) en lugar de los paramétricos. La composición química de las ofertas y rechazos de forraje se contrastó mediante análisis de varianza robusto t1way sobre las medias recortadas al 20 %, seguido de los posteriores contrastes lineales entre las mismas, en caso de F significativa ($p \leq 0,05$). Para los coeficientes de digestibilidad, se utilizó el mismo modelo anterior. Ante la imposibilidad de considerar Forraje y TipoConc como dos factores cruzados, ya que la estadística robusta exige que el cruzamiento sea a todos los niveles, fue necesario sintetizar las diez categorías de Forraje y las tres de TipoConc en 10 × 3 = 30 categorías diferentes ForTipoConc. Para TipoConc = No, se obtiene la digestibilidad *in vivo* de las diez categorías de sólo forraje. Para TipoConc = B1, B2, B se obtienen las digestibilidades *in vivo* de las respectivas raciones de forraje + concentrado, así como las proporciones de MS, materia orgánica, PB, FND (libre de cenizas o no) que proceden del concentrado (pMSc, pMOc, pPBc, pFNDc, pFNDLCc, pEBc).

La previsión inicial era haber considerado el año como factor de efecto aleatorio dentro de modelos mixtos. La estadística robusta no contempla esta posibilidad, por lo que el efecto año quedó incluido dentro del error. En total se realizaron 41 balances nutricionales: 34 con 6 vacas, 6 con 2 vacas, 1 con 4 vacas, lo que supone 220 determinaciones a lo largo de ocho años, incluidos dentro de las 12 anualidades en que se llevó a cabo la evaluación de la pradera de *Lolium perenne-Trifolium repens* en Asturias.

La predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los forrajes en función de la digestibilidad enzimática se efectuó también mediante estadística robusta. Con el paquete estadístico mvoutlier, se diferenciaron las muestras atípicas en la población original y a continuación, mediante el paquete estadístico MASS, se efectuaron los análisis de regresión con el procedimiento rlm.

Resultados

Composición química de los concentrados

La composición químico-bromatológica de los concentrados, y su contenido en EB, se presenta junto a su error estándar en la Tabla 2. Como se puede apreciar, a excepción del contenido en MS, todos los principios nutritivos analizados y contenidos en energía presentaron diferencias significativas para los distintos concentrados.

Composición química de las ofertas de forraje

En la Tabla 3, se presentan los valores medios, para las composiciones químico-bromatológicas, DEMO y contenido en EB de los forrajes en oferta. La MS de la hierba verde presenta un patrón esperable, aumenta desde el comienzo de la primavera hasta alcanzar un máximo en agosto para volver en otoño a su valor inicial. Las cenizas no presentan diferencias significativas por meses. La PB muestra una evolución descendente a medida que avanza la primavera (abril, 20,4 ± 0,66 %) con posterior caída brusca en agosto (17,0 ± 1,05 %), volviendo a crecer a lo largo del otoño hasta un máximo absoluto en noviembre (24,2 ± 1,44 %). La DEMO decrece durante primavera (marzo, 78,9 ± 1,45 %) y verano hasta llegar a un mínimo absoluto en agosto (56,4 ± 2,27 %) y recuperarse a lo largo del otoño (72,8 ± 3,98 %). La FND exhibe evolución inversa a la anterior. La EB no muestra diferencias significativas, a excepción de un mínimo absoluto en octubre.

En cuanto a los ensilados, presentan valores superiores de MS y FND e inferiores de PB y DEMO con respecto a la hierba verde. No se observan diferencias significativas entre primero y segundo cortes.

Tabla 2. Principios nutritivos de los concentrados (medias recortadas 20 % ± errores estándar; % sobre materia seca, salvo especificaciones).
Table 2. Chemical composition of the concentrates (20 % trimmed means ± standard errors; values in % dry matter basis, except specifications).

Principio nutritivo	Concentrado			*p*
	B1	B2	B	
Materia seca (%)	89,1 ± 0,38	89,0 ± 0,23	88,9 ± 0,09	NS
Cenizas	7,8 ± 0,56 b	6,1 ± 0,22 a	8,0 ± 0,12 b	*
Proteína bruta	23,1 ± 0,97 c	19,4 ± 0,26 b	14,9 ± 0,25 a	***
Extracto etéreo	4,1 ± 0,38 c	3,3 ± 0,07 b	2,7 ± 0,12 a	*
Fibra bruta	5,7 ± 0,39 b	4,5 ± 0,14 a	8,8 ± 0,23 c	**
Materiales extractivos libres de nitrógeno	59,4 ± 1,69 c	66,7 ± 0,29 b	65,6 ± 0,41 a	*
Fibra neutro detergente	26,6 ± 1,82 b	21,8 ± 0,71 a	27,9 ± 0,73 b	**
Fibra neutro detergente libre de cenizas	26,5 ± 1,81 b	21,3 ± 0,69 a	27,8 ± 0,71 b	**
Energía bruta (MJ /kg·materia seca)	18,1 ± 0,37 b	18,3 ± 0,11 b	17,4 ± 0,14 a	***

a,b,c: Valores acompañados de distinta letra en la misma columna difieren a $p \leq 0,05$.
***, $p \leq 0,001$; **, $p \leq 0,01$; *, $p \leq 0,05$; NS.: $p > 0,05$.

Tabla 3. Principios nutritivos de las ofertas de forrajes (análisis de varianza robusto y medias recortadas 20 % ± error estándar).
Table 3. Chemical composition of the forages in offer (robust analysis of the variance and 20 % trimmed means ± standard error).

	MS (%)	CEN (%MS)	PB (%MS)	FND (%MS)	FNDLC (%MS)	DEMO (%MS)	EB (MJ /kg·MS)
Análisis de varianza							
F =	28,0***	2,93NS	8,43**	40,2***	8,16**	6,96**	1,42NS
GL1	9	9	9	9	9	9	9
GL2	6,73	6,96	7,07	7,62	7,40	7,44	6,91
Forraje							
Hierba verde							
Marzo	17,8 ± 2,22 a	11,0 ± 0,37	19,4 ± 1,2 b	40,9 ± 1,44 a	39,1 ± 1,84 a	78,9 ± 1,45 b	18,1 ± 0,07
Abril	16,2 ± 2,08 a	10,8 ± 0,38	20,4 ± 0,66 b	44,6 ± 2,21 a	43,9 ± 2,03 a	74,6 ± 2,01 b	18,1 ± 0,18
Mayo	18,1 ± 1,79 a	11,1 ± 0,80	17,0 ± 1,24 a	47,7 ± 1,90 a	46,0 ± 2,25 a	69,1 ± 1,86 ab	18,1 ± 0,27
Junio1	19,6 ± 0,91 ab	9,9 ± 0,44	18,9 ± 1,30 a	46,5 ± 1,07 ab	44,9 ± 1,62 a	70,4 ± 2,05 ab	18,5 ± 0,26
Junio2	17,6 ± 0,71 ab	11,2 ± 0,88	19,4 ± 1,35 ab	51,4 ± 2,42 b	50,5 ± 2,47 b	65,5 ± 3,20 a	18,1 ± 0,13
Agosto	23,2 ± 1,27 b	9,7 ± 0,88	17,0 ± 1,05 a	51,3 ± 0,19 b	50,5 ± 0,14 b	56,4 ± 2,27 a	18,7 ± 0,53
Octubre	13,5 ± 0,10 a	14,6 ± 1,96	21,0 ± 0,39 ab	48,6 ± 4,01 ab	46,6 ± 4,64 ab	64,0 ± 3,06 a	17,9 ± 0,28
Noviembre	13,3 ± 0,49 a	12,4 ± 1,06	24,2 ± 1,44 ab	41,5 ± 2,41 a	39,9 ± 2,35 a	72,8 ± 3,98 ab	18,2 ± 0,30
Ensilado de hierba							
HOR(1C)	22,7 ± 1,09 b	13,1 ± 0,31	15,9 ± 0,69 a	54,7 ± 1,60 b	53,9 ± 1,62 b	61,0 ± 2,25 a	18,0 ± 0,14
ROT(2C)	26,4 ± 1,11 b	10,2 ± 1,38	14,6 ± 1,04 a	52,8 ± 2,22 ab	52,1 ± 2,27 b	62,6 ± 1,55 a	18,3 ± 0,41

MS: materia seca; CEN: cenizas; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FNDLC: fibra neutro detergente libre de cenizas; DEMO: digestibilidad neutro detergente-celulasa de la materia orgánica; EB: energía bruta.

GL: grados de libertad; Junio1: inicio de la experiencia antes del 15 de junio; Junio2: inicio de la experiencia después del 16 de junio; HOR(1C): horizontal primer corte; ROT(2C): rotopacas segundo corte.

a, b: Valores acompañados de distinta letra en la misma columna difieren a $p \leq 0,05$.

***, $p \leq 0,001$; **, $p \leq 0,01$; *, $p \leq 0,05$; NS.: $p > 0,05$.

En cuanto al análisis fermentativo de los ensilados (valores medios ± error estándar), el pH fue de 4,23 ± 0,116. Los metabolitos de fermentación expresados en %MS: ácido láctico = 14,8 ± 1,32; acético = 3,1 ± 0,15; propiónico = 0,26 ± 0,029; isobutírico = 0,24 ± 0,045; butírico = 2,3 ± 0,25; 2-metil butírico = 0,05 ± 0,007; isovalérico = 0,07 ± 0,010; valérico = 0,12 ± 0,024; metanol = 0,04 ± 0,017; etanol = 0,46 ± 0,154; propanol = 0,05 ± 0,015; butanol = 0,008 ± 0,0017. En %N total: N amoniacal = 19,6 ± 1,43; N soluble = 51,0 ± 1,42. La diferencia entre MS liofilizada y por secado en estufa fue de 2,0 unidades porcentuales.

El porcentaje de rechazos con respecto a las ofertas, se presenta en la Tabla 4. Para todos los meses, excepto en abril, el porcentaje de rechazos superó al esperado del 10 % en MS. Respecto a su composición, expresada en valor relativo respecto a la oferta de que proceden, los resultados se presentan en la Tabla 5. Los rechazos contienen más cenizas, más FND y menos EB que las ofertas. También menos PB, salvo para hierba de primavera. En cuanto a su contenido en MS, no se observó un comportamiento uniforme con respecto a las respectivas ofertas. El porcentaje de rechazos sobre oferta y las diferencias entre composición química de ofertas y rechazos arrojan información sobre el efecto selectivo de las vacas, el cual a su vez influye sobre la digestibilidad.

Coeficientes de digestibilidad de los forrajes

En la Tabla 6 se puede visualizar la evolución de la digestibilidad *in vivo* (%) de diversos principios nutritivos de los forrajes a lo largo del año. La digestibilidad aparente de la materia orgánica (MO) se mantuvo muy constante durante la primavera (78,3 %; 77,1 %; 76,6 % para marzo, abril y mayo, respectivamente) para descender después de junio hasta un mínimo en agosto (58,2 ± 1,5 %). Se recuperó durante el otoño, volviendo a alcanzar en noviembre el mismo valor que en primavera. La digestibilidad aparente de la PB se ajustó al mismo patrón, pero llegando en noviembre a un valor incluso superior al de primavera (78,0 % *vs* 74,7 %). Con respecto a las digestibilidades *in vivo* de la FND y de la FNDLC, también siguiendo el mismo patrón, hay que hacer notar que, debido al pisoteo y al suelo húmedo y arcilloso, la hierba verde presenta una mayor contaminación de cenizas insolubles, totalmente indigestibles y retenidas en la FND. De ahí que las digestibilidades *in vivo* de la FND resulten siempre inferiores a las de la FNDLC.

En cuanto a los ensilados de hierba, no difirieron significativamente entre sí. Presentaron valores similares a los de la hierba de junio1-junio2, excepto para digestibilidad aparente de la PB, que resultó similar a la de la hierba de agosto. En cuanto a los valores de digestibilidad *in vivo* de la FND, las diferencias entre la de FND y FNDLC son superiores a las obtenidas en el forraje verde, que llega a ser de más de 10 puntos para el ensilado horizontal, obteniéndose no obstante valores muy elevados, igualando y a veces superando a la de la MO.

Efectos de la adición de concentrado sobre la digestibilidad de la ración

En la Tabla 7 se pueden visualizar los efectos de los tres concentrados sobre la digestibilidad de los principios nutritivos de la ración total según naturaleza del forraje, calculadas en base a las proporciones de los principios nutritivos de concentrado en la ración, de acuerdo con el incremento de digestibilidad debido a la adición de concentrado, así como la digestibilidad de este. En síntesis, el concentrado que más incrementa la digestibilidad de la ración total para todos los principios nutritivos es el B1 y el que menos es el B. El B2 tiene un efecto más parecido a B que a B1.

Tabla 4. Porcentaje de rechazos según forraje en oferta sin o con suplementación (en materia seca).
Table 4. Refusals levels of each forage supplemented or not (dry matter basis).

	Rechazos (%)
Análisis de varianza	
Forraje	***
Ingestión de concentrado	***
Interacción	NS
Forraje	
Hierba verde del mes indicado	
Marzo	12,6 ± 1,74 ab
Abril	9,8 ± 1,31 a
Mayo	13,2 ± 1,23 b
Junio1	14,2 ± 1,15 b
Junio2	17,0 ± 1,62 b
Agosto	16,0 ± 1,75 b
Octubre	13,2 ± 1,42 b
Noviembre	11,4 ± 1,27 a
Ensilado de hierba	
HOR(1C)	26,1 ± 1,48 c
ROT(2C)	22,5 ± 1,94 c
	a, b, c: señala *
Ingestión de concentrado	
No	14,9 ± 0,90
Si	16,4 ± 0,80
	***

Junio1: inicio de la experiencia antes del 15 de junio; Junio2: inicio de la experiencia después del 16 de junio; HOR(1C): horizontal primer corte; ROT(2C): rotopacas segundo corte.

a,b,c: Valores acompañados de distinta letra en la misma columna difieren a $p \leq 0,05$. ***, $p \leq 0,001$; **, *, $p \leq 0,05$; NS: $p > 0,05$.

Tabla 5. Principios nutritivos de los rechazos en valor relativo a la oferta de que proceden [100 × (contenido en rechazos /contenido en oferta)], según forrajes e ingestión de concentrado.
Table 5. Chemical composition of refusals in relative value to your respective offer [100 × (refusals content /offer content)], according to forage nature and with or without supplementation.

		MS	CEN	PB	FND	FNDLC	EB
Forraje	F=	311,9***	47,7***	28,9*	80,4***	63,5***	29,8*
Hierba verde							
Marzo		94 ± 4,8 b	130 ± 10,0 b	100 ± 2,2 bc	105 ± 1,3 a	102 ± 1,7 ab	93 ± 1,2 bc
Abril		119 ± 18,0 bc	135 ± 7,1 b	96 ± 2,0 b	111 ± 1,7 b	104 ± 1,8 b	95 ± 0,8 bc
Mayo		79 ± 9,0 ab	148 ± 12,9 b	94 ± 1,5 ab	111 ± 0,9 b	103 ± 1,7 b	93 ± 1,5 bc
Junio1		55 ± 1,6 a	114 ± 2,6 a	98 ± 1,5 b	112 ± 1,4 b	114 ± 2,4 c	98 ± 0,5 c
Junio2		65 ± 7,9 a	114 ± 3,5 a	97 ± 1,9 b	105 ± 0,9 a	102 ± 1,1 ab	97 ± 0,6 c
Agosto		72 ± 5,6 a	121 ± 13,6 a	89 ± 2,3 a	108 ± 1,6 ab	105 ± 2,5 bc	95 ± 1,2 b
Octubre		108 ± 10,3 bc	161 ± 8,9 c	93 ± 2,0 ab	114 ± 1,3 b	96 ± 4,1 ab	87 ± 2,3 b
Noviembre		102 ± 4,6 b	133 ± 7,8 b	97 ± 1,2 b	113 ± 2,1 b	104 ± 1,6 b	95 ± 1,0 b
Ensilado de hierba							
HOR(1C)		120 ± 5,6 c	127 ± 3,8 b	94 ± 1,3 ab	107 ± 0,7 a	96 ± 1,0 a	96 ± 0,8 b
ROT(2C)		131 ± 10,7 c	162 ± 18,8 c	106 ± 2,5 c	103 ± 1,2 a	93 ± 3,6 a	92 ± 2,5 a
		a, b, c: *	a, b, c: *	a, b, c: *	a, b: *	a, b, c: *	a, b, c: *
Ingestión de concentrado	F=	2,3 NS	13,9***	6,1*	0,004NS	9,1**	10,1**
No		97 ± 4,0	146 ± 5,0	95 ± 0,9	95 ± 0,9	99 ± 1,2	99 ± 1,2
Si		100 ± 5,1	122 ± 2,6	97 ± 0,8	97 ± 0,8	105 ± 0,8	105 ± 0,8
Forraje × ingestión de concentrado	F=	14,0 NS	9,6 NS	4,9 NS	17,2 NS	19,9 NS	7,1 NS

MS: materia seca; CEN: cenizas; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FNDLC: fibra neutro detergente libre de cenizas; EB: energía bruta; Junio1: inicio de la experiencia antes del 15 de junio; Junio2: inicio de la experiencia después del 16 de junio; HOR(1C): horizontal primer corte; ROT(2C): rotopacas segundo corte.

a,b,c: Valores acompañados de distinta letra en la misma columna difieren a $p \leq 0,05$. ***, $p \leq 0,001$; **, *, $p \leq 0,05$

Tabla 6. Evolución de la digestibilidad *in vivo* (%) de diversos principios nutritivos de los forrajes a lo largo del año (análisis de varianza robusto y medias recortadas 20 % ± error estándar).
Table 6. Evolution of nutrients in vivo digestibility of the forages along year, % (robust analysis of variance and 20 % trimmed means ± standard error).

	% Digestibilidad *in vivo* de los parámetros					
	MS	MO	PB	FND	FNDLC	EB
Análisis de varianza						
F =	31,8***	24,4***	173,5***	150,9***	1085,0***	40,7***
GL1	30	30	30	30	30	30
GL2	27,92	27,57	28,85	29,03	28,22	28,09
Forraje						
Hierba verde						
Marzo	75,6 ± 2,15 d	78,3 ± 1,88 c	73 ± 2,25 bc	76 ± 2,31 c	78,4 ± 2,09 c	73,8 ± 2,14 d
Abril	75,2 ± 1,05 d	77,1 ± 1,23 c	74,7 ± 1,58 bc	75,7 ± 1,91 c	78 ± 1,76 c	74 ± 1,15 d
Mayo	73,5 ± 2,43 d	76,6 ± 2,04 bc	71,9 ± 2,95 b	74,1 ± 2,76 c	77,3 ± 2,49 bc	71,9 ± 2,52 cd
Junio1	70 ± 0,72 cd	73 ± 0,68 bc	73,9 ± 0,91 bc	69,5 ± 1,07 c	71,7 ± 0,55 b	69 ± 0,87 cd
Junio2	67,1 ± 2,66 cd	70,3 ± 2,34 bc	74,8 ± 1,72 c	66,2 ± 2,93 b	70,3 ± 2,32 b	66,8 ± 2,42 bc
Agosto	54,1 ± 1,19 a	58,2 ± 1,5 a	63,3 ± 1,54 b	51,8 ± 0,51 a	54,9 ± 0,96 a	54,4 ± 0,85 a
Octubre	66,9 ± 1,18 c	73,7 ± 1,53 bc	75,7 ± 1,18 c	66 ± 2,15 b	76,3 ± 3,17 bc	71,4 ± 1,21 cd
Noviembre	73,1 ± 1,54 d	76,8 ± 1,44 c	78 ± 1,59 d	73,3 ± 0,89 c	78,7 ± 1,43 c	73,1 ± 1,58 d
Ensilado de hierba						
HOR(1C)	62,9 ± 1,39 b	68,1 ± 1,37 b	60,7 ± 1,23 b	62,8 ± 2,22 b	72,5 ± 1,77 b	65 ± 1,33 b
ROT(2C)	64,4 ± 0,87 b	69,7 ± 0,51 b	56,9 ± 1,82 a	64,6 ± 1,23 b	71,6 ± 0,75 b	65,1 ± 0,81 b

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FNDLC: fibra neutro detergente libre de cenizas; EB: energía bruta.

GL: grados de libertad; Junio1: inicio de la experiencia antes del 15 de junio; Junio2: inicio de la experiencia después del 16 de junio; HOR(1C): horizontal primer corte; ROT(2C): rotopacas segundo corte.

a. b, c, d: * en la misma columna difieren a $p \leq 0,05$. ***, $p \leq 0,001$.

Tabla 7. Efectos de los concentrados sobre la digestibilidad de los principios nutritivos de la ración total, según naturaleza del forraje.
Table 7. Concentrate effects on nutrient digestibility of total rations according to forage nature.

	Efectos sobre la digestibilidad in vivo de los parámetros en %					
	MS	MO	PB	FND	FNDLC	EB
Concentrado B *vs.* B1						
Forraje						
Hierba verde						
Abril	–6,2 *	–12,4 NS	–10,2 NS	–9,9 **	–8,4 **	–5,5 *
Mayo	–10,0 **	–10,8 **	–17,8 ***	–13,2 NS	–10,9 NS	–12,1 *
Ensilado de hierba						
HOR(1C)	10,7 NS	7,2 NS	5,9 NS	18,9 NS	11,4 NS	7,0 NS
Concentrado B *vs.* B2						
Forraje						
Hierba verde						
Abril	–1,2 NS	–7,6 NS	–3,2 NS	–0,4 NS	–1,2 NS	0,1 NS
Mayo	–0,2 NS	–0,6 NS	–5,8 NS	–4,6 NS	–3,2 NS	–0,8 NS
Junio1	–1,0 NS	–1,0 NS	0,6 NS	0,0 NS	–1,2 NS	–1,1 NS
Octubre	–1,5 NS	–0,9 NS	–4,1 *	0,0 NS	1,1 NS	2,5 NS
Noviembre	–3,6 *	–3,7 **	–4,5 NS	–0,1 NS	–4,1 NS	–4,1 *
Ensilado de hierba						
HOR(1C)	–0,8 NS	–2,2 NS	–1,4 NS	–5,2 NS	0,2 NS	–2,9 NS
Concentrado B1 *vs.* B2						
Forraje						
Hierba verde						
Marzo	10,6 NS	9,7 NS	10,1 NS	8,6 **	8,3 **	10,2 NS
Abril	5,0 **	4,8 **	7,0 ***	9,5 ***	7,2 ***	5,6 **
Mayo	9,8 **	10,2 **	12,0 **	8,6 *	7,6 *	11,3 **
Junio2	7,4 *	7,1 *	3,9 NS	7,7 NS	6,5 NS	6,8 *
Ensilado de hierba						
HOR(1C)	–11,6 NS	–9,5 NS	–7,3 NS	–15,7 NS	–11,2 NS	–9,9 NS

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FNDLC: fibra neutro detergente libre de cenizas; EB: energía bruta.

Junio1: inicio de la experiencia antes del 15 de junio; Junio2: inicio de la experiencia después del 16 de junio; HOR(1C): horizontal primer corte.

***, $p \leq 0{,}001$; **, $p \leq 0{,}01$; *, $p \leq 0{,}05$; NS: $p > 0{,}05$.

Coeficientes de digestibilidad de los concentrados

Conocidos los valores individuales de digestibilidad de la ración y las proporciones de forraje y concentrado en la misma para cada principio nutritivo, se puede calcular la digestibilidad de cada principio nutritivo del concentrado como:

(Digestibilidad de principio nutritivo en la ración – digestibilidad del forraje × proporción de principio nutritivo procedente del forraje) /Proporción de principio nutritivo procedente del concentrado.

En la Tabla 8 se presentan los coeficientes de digestibilidad por diferencia de diversos principios nutritivos de los tres concentrados B1, B2 y B. No es posible un contraste entre los tres, pero los efectos de la adición de concentrado ponen de manifiesto que, para todos los principios nutritivos considerados, digestibilidad B1 > digestibilidad B2 > digestibilidad B. Esta última no es superior a la de los forrajes de primavera temprana.

Predicción de la digestibilidad in vivo *de la materia orgánica en función de digestibilidad enzimática neutro detergente-celulasa y el porcentaje de rechazos sobre materia seca*

Las ecuaciones de regresión entre digestibilidad *in vivo* a nivel de mantenimiento de la materia orgánica de los forrajes (y = DMO1x) y su digestibilidad enzimática neutro detergente-celulasa (x = DEMO) se presentan en la Tabla 9, así como los coeficientes robustos de correlación entre DMO1x, DEMO y pRechazos. Todos resultan altamente significativos. Debido a ello, incluir en una regresión múltiple DEMO y pRechazos conlleva riesgo de sobreajuste. Por tanto, se prescindió de esta última variable, que en un principio se incluyó en la regresión dado que la digestibilidad *in vivo* está afectada por el efecto selectivo del animal y a mayor porcentaje de rechazos, es de esperar un mayor efecto selectivo. De esta manera, se consideró DMO1x como variable dependiente a predecir en función de la DEMO como única variable regresora.

Tabla 8. Coeficientes de digestibilidad por diferencia de diversos principios nutritivos de los concentrados B1, B2 y B (%; media ± error estándar).
Table 8. Nutrient digestibility by difference of the concentrates B1, B2 and B (%; mean ± standard error).

Concentrado	Coeficientes de digestibilidad de					
	MS	MO	PB	FND	FNDLC	EB
B1	78,6 ± 0,53	82,5 ± 0,54	79,6 ± 0,47	76,1 ± 0,34	82,5 ± 0,34	80,4 ± 0,55
B2	71,4 ± 0,07	74,4 ± 0,05	72,3 ± 0,03	73,1 ± 0,03	77,1 ± 0,10	71,2 ± 0,05
B	69,3 ± 0,19	71,5 ± 0,00	70,2 ± 0,03	68,0 ± 0,12	71,9 ± 0,25	70,6 ± 0,00

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente; FNDLC: fibra neutro detergente libre de cenizas; EB: energía bruta.

Tabla 9. Ecuaciones de regresión entre digestibilidad *in vivo* a nivel de mantenimiento de la materia orgánica de los forrajes (y) y su digestibilidad enzimática neutro detergente-celulasa (x).
Table 9. Regression equations between in vivo organic matter digestibility at maintenance level (y) and neutral detergent-cellulase organic matter digestibility (x).

Población	Ecuación de regresión	Grados de libertad totales	Iteraciones	Estimador de escala
Muestras normales:	y = 0,615x + 33,1	25	5	3,64
Muestras atípicas:	y = 0,674x + 27,2	12	1	1,85
Muestras en las que:	x – FND (%MS) < 15			
	y = 0,558x + 49,6	4	1	3,87

FND: fibra neutro detergente.

Las 41 muestras de las que consta la población original quedaron divididas en 28 muestras normales + 13 atípicas. Efectuados los análisis de regresión por separado, se observó que tres muestras normales y una atípica se desviaban de los respectivos modelos ajustados. Las cuatro tenían en común el que la diferencia DEMO – FND era muy pequeña.

Discusión

Composición química de los alimentos evaluados

Las praderas utilizadas en el presente trabajo para los ensayos *in vivo* fueron las mismas que las que dieron origen a los resultados obtenidos por los mismos autores en Martínez-Fernández *et al.* (2008) con vacuno lechero en pastoreo, durante doce años consecutivos. La evolución de la composición química de forraje en oferta por meses del año resultó concordante entre ambos trabajos, así como las diferencias entre ofertas y rechazos. En ambos casos se reveló un efecto selectivo a favor de evitar contaminación por tierra y preferir partes menos fibrosas. Por tanto, si bien es imposible que en pastoreo y en pesebre tengan lugar el mismo efecto selectivo y la misma ingestión, sí se da un cierto grado de similitud, que permite aprovechar los resultados obtenidos para situaciones de pastoreo real.

En principio las pérdidas de agua por oreo y desprendimiento de materias volátiles en ensilados debería inducir un mayor contenido en MS para los rechazos. No fue siempre así, lo cual resulta explicable por la influencia de la saliva y del agua de bebida derramada.

En lo concerniente a los ensilados, podemos tomar como referencia *The ideal silage* (Chamberlain y Wilkinson, 1996). Entre otras características, deben contener una MS > 30 %; un contenido en PB comprendido entre 15,0 % y 17,5 % MS; un rango de pH = 4,0-4,5; un rango de FND = 50-55 % MS; N amoniacal < 5 % N total; ácido láctico > 8-12 % MS y ácidos grasos volátiles < 2-3 % MS. Teniendo en cuenta estas referencias, los resultados de este trabajo revelan suficiente contenido en PB para el primer corte y ligero déficit para el segundo, sin exceso de FND, un adecuado pH (pero asociado a bajo valor de MS), suficiente ácido láctico, y exceso de ácidos grasos volátiles y N amoniacal. La diferencia entre valores de materia seca por liofilización y por secado en estufa, imputable a los componentes volátiles, concuerda

plenamente con la bibliografía existente (Dulphy y Demarquilly, 1981; Agriculture Development Advisory Service, ADAS, 1985; Haigh, 1995a,b).

El valor de pH, en relación al contenido en MS, revela insuficiente calidad de conservación (Haigh, 1987). Se trata del problema generalizado de deficiente calidad fermentativa de los ensilados de hierba en toda la Cornisa Cantábrica, ya señalado hace tiempo por Menéndez de Luarca y Rodríguez-Loperena (1978) y que aún persiste (Martínez-Fernández *et al.*, 2014). Más recientemente, Pereira-Crespo *et al.* (2016) observaron una tendencia a mejorar en el caso de ensilados de las explotaciones lecheras de Galicia.

En cuanto a los concentrados, su composición química coincide razonablemente con la esperada según los bancos de datos españoles: Servicio de Información sobre Alimentos de la Universidad de Córdoba (www/uco.es) y Tablas FEDNA 2019 de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (de Blas *et al.*, 2019).

Digestibilidad in vivo *de los alimentos evaluados*

La valoración nutricional del forraje de pradera de raigrás inglés y trébol blanco en el arco atlántico español, fue también abordada por investigadores en Galicia (Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, CIAM), en Cantabria (Instituto de Educación Secundaria de Heras, IES Heras) y en el País Vasco (actual NEIKER).

En el CIAM, Cebrián del Moral (1982) obtuvo para forraje verde de pradera en estudios con ovino, valores de digestibilidad de la materia seca (DMS) de 76,6 %, 72,1 % y 69,4 % durante primavera y 75,7 % y 77,8 % durante otoño; resultados muy concordantes con los de este trabajo, a pesar de tratarse de valores obtenidos con pequeños rumiantes. De hecho, el propio INRA ha realizado ensayos con ovino y vacuno indistintamente siguiendo la misma metodología, dada la imposibilidad de disponer siempre de viabilidad para ganado vacuno. En cuanto a la pérdida de digestibilidad en agosto, a pesar de tratarse de una pradera de raigrás inglés y trébol blanco con un 17 % de PB, es necesario mencionar que si bien en verano el raigrás inglés crece poco y se embastece rápidamente, perdiendo digestibilidad por mayor proporción de tallos, no obstante, al hacer menos sombra al trébol blanco posibilita una mayor proporción de este último. De ahí el elevado contenido en proteína, a pesar de la pérdida de digestibilidad.

Para ensilados de hierba en general, los trabajos de Flores-Calvete (2004) y Flores-Calvete *et al.* (2000 y 2003) obtuvieron un promedio general para DMO de 67,8 ± 6,78 %, resultados de nuevo totalmente concordantes con los obtenidos en este trabajo en el SERIDA, con valores de 68,1 ± 1,37 % para ensilados en horizontal y 69,7 ± 0,51 % para ensilados en rotopacas.

En el IES Heras se efectuaron ensayos de digestibilidad *in vivo* sobre vacuno lechero con metodología similar a la descrita en el presente trabajo, para forraje verde de raigrás inglés y *Trifolium pratense* L. (trébol violeta) (Salcedo, 2011), en los cuales la DMO descendió progresivamente desde 77,4 % en abril hasta 62,4 % en julio y se recuperó durante el otoño (81,1 % en noviembre), en concordancia con los resultados de este trabajo. El hecho de que en nuestro caso se mantuviera más constante la DMO durante primavera se explica por el embastecimiento más rápido característico del trébol violeta con respecto al trébol blanco. Salcedo (2006) también efectuó idéntica experiencia con ensilados, obteniendo valores de DMO de 80,7 %, 70,5 % y 62,5 % para los cortes en encañado, principio de espigado y espigado, respectivamente. Los valores de DEMO fueron muy similares a los

de DMO, concordantes con los resultados obtenidos. Así mismo, los actuales resultados están en sintonía con los obtenidos sobre ovino por de la Roza-Delgado *et al.* (2007) para ensilados horizontales y en rotopacas sobre estas mismas praderas.

Todo ello pone de relieve que la digestibilidad de la hierba de primavera es muy elevada y está próxima a la de los concentrados. La pérdida que experimenta al llegar el verano se revela como el factor más limitante para la alimentación del vacuno de leche en base a la pradera de *Lolium perenne-Trifolium repens* de la zona costera de Asturias.

A nivel de Europa, similares resultados a los obtenidos en este trabajo fueron reportados por Givens *et al.* (1989) en el Reino Unido. De acuerdo con los resultados obtenidos en Irlanda (MacCarthy, 1984; Brereton *et al.,* 1994), la pérdida de digestibilidad en verano podría evitarse mediante reducción de la altura de rechazos por debajo de 6 cm en los últimos aprovechamientos de primavera. Chamberlain y Wilkinson (1996) también recomiendan una altura de rechazos inferior a 5 cm. Faverdin *et al.* (2018b), en su capítulo dedicado a vacuno lechero en pastoreo, incluyen alturas de rechazos entre 4 cm y 10 cm. El promedio anual de nuestras praderas tras 12 años de ensayos (Martínez-Fernández *et al.*, 2008) está dentro de dicho rango. De cualquier forma, la fuerte pendiente en casi la mitad de las parcelas y el pisoteo sobre un terreno blando e irregular dificultan el mantener constante la altura del pasto e incluso, con frecuencia, lo imposibilitan, hechos que impiden reducir la caída de digestibilidad en agosto.

Es de resaltar la elevada digestibilidad de la FND de los forrajes verdes, similar a la de la MO y totalmente concordante con los resultados obtenidos por de la Roza-Delgado *et al.* (2007) sobre estas mismas praderas con ovino, en los que la DFND resultó del 80 %, coincidente con la obtenida en este estudio sobre vacuno. Al respecto, es preciso tener en cuenta que la digestibilidad de la pared celular es real y no aparente. Esta última, afectada por las secreciones endógenas, es menor (Van Soest, 1964). Las cenizas insolubles de la FND aumentan por contaminación por tierra en otoño y, por ser totalmente indigestibles, inducen sensibles diferencias entre DFND y DFNDLC.

Relación entre las determinaciones de laboratorio y los parámetros nutricionales in vivo

La sistemática de valoración de alimentos empleada en el Laboratorio de Nutrición del SERIDA permite identificar muestras atípicas con suficiente seguridad. Se trata de un laboratorio acreditado bajo la Norma ISO/IEC 17025 LE/930.

Como se ha indicado, las ecuaciones de predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica en función de digestibilidad enzimática neutro detergente-celulasa pusieron de manifiesto la existencia de tres muestras que se no ajustaban al modelo. Una explicación plausible para la existencia de esas muestras, bien identificables por presentar muy poca diferencia entre los valores de DEMO y de FND, probablemente sea debido que al tratarse de forrajes verdes cuya FND contiene mucha hemicelulosa y dado que hay evidencias en ensayos sobre ovino con hierba verde y ensilados similares de que la digestibilidad *in vivo* de la hemicelulosa resulta superior a la de la FND (de la Roza-Delgado *et al.,* 2007), puede ser probable que la solución enzimática de *Trichoderma viridae* empleada para determinar la DEMO a nivel laboratorial no tenga suficiente actividad hemicelulásica para mantener la ratio de digestibilidad *in vivo* /digestibilidad enzimática en esas muestras. Debido a ello, las muestras con mayor contenido en hemicelulosa se comportan diferentes al resto. El hecho de que no ha quedado incluido ningún ensilado en el con-

junto de muestras con un comportamiento atípico resulta concordante con que las hemicelulosas son parcialmente fermentables por la microflora epifita. La determinación de fibra ácido detergente (FAD) y el cálculo de la hemicelulosa, de acuerdo con Van Soest = FND – FAD (ambas libres de cenizas), serviría para confirmar nuestra hipótesis.

La precisión obtenida, según el estimador de escala resultante, es aceptable y concuerda con las observaciones de Givens *et al.* (1990), de la Roza-Delgado (1991), Flores-Calvete (2004) y otros muchos trabajos.

Conclusiones

Las diferencias en la composición química de ofertas y rechazos revelan un efecto selectivo a favor de partes menos fibrosas y menos contaminadas con tierra.

Se observa una elevada estacionalidad de la composición química de la hierba en oferta, para todos los principios nutritivos, como es habitual en el Arco Atlántico, lo que se traduce en la variación estacional de las digestibilidades de los principios nutritivos, que son máximas en primavera, mínimas en verano y se recuperan durante el otoño hasta alcanzar el valor de primavera. Esta pérdida que experimenta al llegar el verano se revela como el factor más limitante para la alimentación del vacuno de leche en base a la pradera de *Lolium perenne-Trifolium repens* de la Cornisa Cantábrica. En consecuencia, las explotaciones con pastoreo deben caracterizar en detalle el manejo alimentario y la dieta consumida para las distintas épocas del año por las vacas. Esas digestibilidades fueron muy similares a las de los concentrados ricos en almidón durante primavera y otoño tardío, pero inferiores durante verano y otoño temprano.

No hubo diferencias de digestibilidad entre los ensilados de pradera de primero y segundo cortes, lo que permite estandarizar mejor la alimentación de la explotación al tratarse de un alimento conservado.

Se puede predecir la digestibilidad de la hierba y sus ensilados del Arco Atlántico con precisión aceptable, mediante solubilidad enzimática con celulasa a nivel laboratorial, tomando la precaución de identificar muestras atípicas, lo que evita la necesidad de realizar ensayos *in vivo* para determinar la digestibilidad de los principios nutritivos de los forrajes.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) la financiación de los proyectos, que permitieron la realización de gran parte de los trabajos experimentales recogidos en la presente publicación.

Además, agradecen a la Universidad de Córdoba el interés demostrado en los datos obtenidos, que fueron incluidos en su Servicio de Información sobre Alimentos (SIA, 2020).

A Alfonso Carballal Samalea, la labor informática que llevó a cabo. Y a todo el personal de campo de la Unidad de Producción de Leche y Nave Metabólica, así como al Laboratorio de Nutrición Animal, la ejecución de las labores agroganaderas y de análisis de muestras.

Referencias bibliográficas

ADAS (1985). Technical Bulletin 85/107. Changes in silages evaluation. Agriculture Development Advisory Service. Her Majesty's Stationery Office. London. Great Britain. 4 pp.

ARC (1980). The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock: Technical Review. Ed. Agricultural Research Council. Great Britain. 351 pp.

Blanco-Panedo I, Sjöström K, Jones P, Krieger M, Duval J, van Soest F, Sundrum A, Emanuelson U (2019). Structural characteristics of organic dairy farms in four European countries and their association with the implementation of animal health plans. Agricultural Systems 173: 244-253. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.03.008.

Blaxter KL (1969). The Efficiency of Energy Transformations in Ruminants. En: Energy Metabolism of Farm Animals. Proccedings of the 4th Symposium (1967) (Ed. Blaxter KL, Kielanowsky J and Thorbek GA.), pp. 21-28. Oriel Press Ltd., New Castle upon Tyne, England, United Kingdom.

Brereton A, McGilloway D, Stakelum G (1994). Grazing management dairying. En: Dairying Improving the Competitive Edge (Ed. Murphy J, Crosse S, O'Farrell), pp. 22-24. Teagasc, Moorepark, Ireland, United Kingdom.

Chamberlain AT, Wilkinson JM (1996). Chapter 2: Grass En: Feeding the Dairy Cow (Ed. Chamberlain AT, Wilkinson JM), pp 11-30. Chalcombe Publications, Painshall, Church Lane, Welton, Lincoln, LN2, 3LT, United Kingdom.

Cebrián del Moral MM (1982). Estudio del valor nutritivo en una pradera mixta: variaciones en digestibilidad e ingestión. Pastos 12: 119-133.

De Blas C, García-Rebollar P, Gorrachategui M, Mateos GG (2019). Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de alimentos compuestos (4ª edición). Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid (España). 604 pp.

Dulphy JR, Demarquilly C (1981). Problémes particuliers aux silages. En: Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants (Ed. Demarquilly D, Andrieu j, Wegat-Litre E), pp. 81-104. INRA Publications, Versailles, France.

Faverdin P, Baumont R, Boval M, Agabriel J, Delagarde R (2018a). Chapitre 2: Les apports alimentaires et en nutrients. En: INRA, 2018. Alimentation des ruminants (Ed. Noziére P, Sauvant D, Delaby L), pp. 34-46. Éditions Quae, Versailles Cedex. France.

Faverdin P, Delagarde R, Lemosquet S, Boudon A, Delaby L (2018b). Chapitre 17 : Vaches laitières. En: INRA, 2018. Alimentation des ruminants (Ed. Noziére P, Sauvant D, Delaby L), pp. 274-314. Éditions Quae, Versailles, France.

Flores-Calvete G, Amor-Fernández J, Resch-Zafra C, González-Arráez E (2000). Valor nutritivo del ensilaje de hierba en las explotaciones ganaderas de Galicia. Pastos 30: 149-191.

Flores-Calvete G, González-Arráez E, Castro-González J, Castro-García P, Cardelle-Campos M, Fernández-Lorenzo B y Valladares J (2003). Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz. Pastos 33: 5-99.

Flores-Calvete G (2004). Factores que afectan a la calidad del ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero en Galicia. Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de los forrajes ensilados. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 315 pp.

Givens DI, Everington JM, Adamson AH (1989). The nutritive value of spring-grown herbage produced on farms throughout England and Wales over four years. I. The effect of stage of maturity and other factors on chemical composition, apparent digestibility an energy values measured *in vivo*. Animal Feed Science and Technology 27: 157-172. http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401(89)90140-5.

Givens DI, Everington JM, Adamson AH (1990). The nutritive value of spring-grown herbage produced on farms throughout England and Wales over 4 years. II. The prediction of apparent digestibility *in vivo* from various laboratory measurements. Animal Feed Science and Technology 27: 173-184. http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401(90)90080-R.

Haigh PM (1987). The effect of dry matter content and silages adittives on the fermentation of grass silages on commercial farms. Grass and Forage Science 42: 1-8. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2494.1987.tb02084.x.

Haigh PM (1995a). A note on the relationship between oven and toluene determined dry matter

concentrations in bunker-made grass silages. Irish Journal of Agricultural and Food Research 34: 63-67.

Haigh PM (1995b). A note on the relationship between oven and toluene determined dry matter concentrations in big bale grass silages. Irish Journal of Agricultural and Food Research 34: 189-191.

Mair R, Wilcox P (2018). Robust statistical methods using WRS2. Disponible en: https://cran.r-project.org/web/packages/WRS2/vignettes/WRS2.pdf (Consultado: octubre 2020).

Martínez-Fernández A, de la Roza-Delgado B, Modroño-Lozano MS, Argamentería A (2008). Producción y contenido en principios nutritivos de prados, praderas y de la rotación raigrás italiano-maíz en la rasa marítima centro-oriental de Asturias. Pastos 28: 187-224.

MacCarthy D (1984). Milk production from grassland. En: Moorepark 25th Anniversary Publication. Part I: Milk Production (Ed. J. O Shea), pp. 3-67. Dairy Husbandry Department, Moorepark Research Centre, Fermoy, Co. Cork, Ireland.

Martínez-Fernández A, Argamentería A, de la Roza Delgado B (2014). Manejo de forrajes para ensilar. Ed. SERIDA, Villaviciosa, España. 280 pp.

Menéndez de Luarca S, Rodríguez-Loperena MA (1978). Calidad de ensilados de pradera en el Norte de España. Pastos: 141-149.

Pereira-Crespo S, Lorenzana R, Barreal M, Rodríguez M y Flores-Calvete G (2016). Calidad de los ensilados de hierba y maíz en las explotaciones lecheras gallegas. 55ª Reunión científica de la SEEP. Innovación Sostenible en Pastos: hacia una Agricultura de Respuesta al Cambio Climático, 26-29 de abril, Lugo, A Coruña, España, pp. 67.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: http://www.R-project.org/ (Consultado: abril 2020)

Riveros E, Argamentería A (1987). Métodos enzimáticos de predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de forrajes. I. Forrajes verdes. Avances en Producción Animal 12: 49-58.

De la Roza-Delgado B (1991). Diseño y comparación de técnicas de laboratorio para predicción de digestibilidad *in vivo* de forrajes. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. 217 pp.

De la Roza-Delgado B, Argamentería A, Martínez-Fernández A (2007). Ingestión voluntaria y digestibilidad de forraje verde de raigrás inglés, raigrás híbrido y trébol blanco ensilado bajo forma de rotopacas o en silos horizontales. Pastos 37: 203-227.

Salcedo G (2006). Relationship between *in vivo* digestibility and *in situ* degradability of grass silage. Proceedings of 21th General Meeting of the European Grassland Federation. Sustainable Grassland Productivity, 3-6 de abril, Badajoz, España, pp. 511-513.

Salcedo G (2011). Relationship between *in vivo* digestibility and *in situ* degradability of the grass in grazing. Proceedings of the 16th Symposium of the European Grassland Federation. Grassland Farming and Land Management Systems in Mountainous Regions, 29-31 August 2017, Raumburg-Gumpestein, Austria, pp. 88-90.

Servicio de Información sobre Alimentos de la Universidad de Córdoba (SIA) (2020). Disponible en: http://www.uco.es/sia/en/index.php (Consultado: 1 de abril 2020).

Van Soest PJ (1964). Symposium on nutrition and forages and pastures: new chemical procedures for quality forages. Journal of Animal Science 23: 838-845. http://dx.doi.org/10.2527/jas1964.233838x.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991). Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597. http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

(Aceptado para publicación el 16 de abril de 2021)

Potencial nutricional y fitohelmíntico de los extractos acuosos de *Tithonia diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) en pequeños rumiantes en el trópico mexicano

José de la Cruz-López[1], Manuel M. Hernández-Villegas[1,*], Manuel E. Aranda-Ibáñez[2], Gloria I. Bolio-López[1], Miguel A. Velázquez-Carmona[1] y Samuel Córdova-Sánchez[1]

[1] División de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias. Universidad Popular de la Chontalpa. Carretera Cárdenas-Huimanguillo Km 2 S/N, Ranchería Paso y Playa, 86597 Heroica Cárdenas, Tabasco, México

[2] Área de Ciencia Animal, Colegio de Posgraduados, Campus Tabasco. Periférico Carlos A. Molina s/n, 86500 Heroica Cárdenas, Tabasco, México

Resumen

El objetivo de este estudio fue analizar las propiedades nutricionales y evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* de *T. diversifolia* contra huevos de *Haemonchus contortus*. Se realizó un perfil fitoquímico, un análisis proximal y un FTIR para conocer los tipos de compuestos, composición química y grupos funcionales presentes en las muestras. Además, se realizaron pruebas de digestibilidad *in situ*. El mayor contenido de proteína fue encontrado en hojas (34,6 %), del mismo modo, ésta, presentó la más alta tasa de digestibilidad (97,6 %). El mayor contenido de fibra detergente ácida correspondió a los tallos con un 37,5 %. Los grupos funcionales detectados fueron hidroxilo (-OH), carbonilos (C=O), típicos de los compuestos observados en el perfil fitoquímico. La actividad antihelmíntica de los extractos obtenidos de *T. diversifolia* fueron sometidos a la prueba de eclosión de huevos sobre *H. contortus*; los extractos fueron probados a las concentraciones de 75 µg/mL, 150 µg/mL, 300 µg/mL y 600 µg/mL. Los resultados de la prueba de inhibición, de la eclosión muestran que el extracto de flores obtuvo el mayor porcentaje de inhibición (100 %), comparado con el 90 % del extracto de hojas a la concentración de 600 µg/mL. Los correspondientes valores de CL_{90} (Concentración Letal) fueron de 107,3 µg/mL y 464,1 µg/mL, respectivamente. Las propiedades nutricionales de *T. diversifolia* en función de las proteínas y la actividad antihelmíntica observada en los extractos acuosos, muestran el alto potencial que representa para alimentación y salud de rumiantes en el trópico mexicano.

Palabras clave: Fitohelmíntico, nematodos gastrointestinales, nutracéutico, *Tithonia diversifolia*, *Haemonchus contortus*.

Nutritional and phytohelminthic potential of the aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) in sheep in the Mexican tropics

Abstract

The objective of this study was to analyze the nutritional properties and evaluate the *in vitro* anthelmintic activity of *T. diversifolia* on *Haemonchus contortus* eggs. A phytochemical profile, a proximal

* Autor para correspondencia: manuel.hdez@upch.mx

Cita del artículo: de la Cruz-López J, Hernández-Villegas MM, Aranda-Ibáñez ME, Bolio-López GI, Velázquez-Carmona MA, Córdova-Sánchez S (2022). Potencial nutricional y fitohelmíntico de los extractos acuosos de *Tithonia diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) en pequeños rumiantes en el trópico mexicano. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 69-81. https://doi.org/10.12706/itea.2021.016

analysis and an FTIR T were performed to know the types of compounds, chemical composition and functional groups present in the samples. In addition, digestibility tests were performed out *in situ*. The highest protein content was found in leaves (34.6 %), in the same way, it presented the highest digestibility rate with (97.6 %). The highest content of acid detergent fiber corresponded to the stems with 37.5 %. The functional group detected were hydroxyl (-OH), carbonyls (C=O), typical of the compounds observed in the phytochemical profile. The anthelmintic activity of the extracts obtained from *T. diversifolia* were subjected to the egg hatching test on *H. contortus*. The extracts were tested at concentration of 75 µg/mL, 150 µg/mL, 300 µg/mL and 600 µg/mL. The results of the hatching inhibition test show that the flower extract obtained highest percentage of inhibition 100 % compared to 90 % of the leaf extract at the concentration of 600 µg/mL. The corresponding LC_{90} values were 107.3 µg/mL and 464.1 µg/mL respectively. Nutritional properties of *T. diversifolia* as a function of proteins and the anthelmintic activity observed in aqueous extracts show the high potential that it represents for feeding ruminants health in the Mexican tropics.

Keywords: Phytohelmintic, gastrointestinal nematode, nutraceutical, *Tithonia diversifolia*, *Haemonchus contortus*.

Introducción

En las áreas tropicales, los árboles y arbustos son una fuente importante de forrajes, no solamente porque mantienen su follaje por un período más prolongado en comparación con los forrajes convencionales (gramíneas), sino también porque en estas áreas se encuentra el 60 % del total de la población de ganado mundial (Canul-Solis *et al*., 2018). En áreas tropicales el pastoreo de gramíneas es el sistema de alimentación que prevalece en la producción de pequeños rumiantes (Castañeda-Serrano *et al*., 2018). Sin embargo, estas especies forrajeras presentan limitaciones nutricionales; por ejemplo, bajos niveles de proteína (6 % a 14 %), alto contenido de fibra detergente neutra (FDN) y baja digestibilidad (Rojas-Schroeder *et al*., 2017). Estos factores traen como consecuencia bajo consumo de materia seca (MS), provocando bajos índices productivos y reproductivos de los animales.

Otra de las limitantes de importancia económica en la producción de pequeños rumiantes bajo las condiciones tropicales es la infección por nematodos gastrointestinales (NGI), que se refleja en la baja conversión alimenticia, muerte de animales, reducción de los parámetros productivos y reproductivos, además de altos costos para su control (Sepúlveda-Vázquez *et al*., 2018). En las últimas décadas, las infecciones por NGI han sido controladas con antihelmínticos (AHs) de diferentes grupos químicos, bencimidazoles, imidazotiazoles, lactonas macrocíclicas, derivado de amino-acetonitrilo y espiroindoles (Kenyon *et al*., 2016). Sin embargo, el uso regular y excesivo de los AHs ha contribuido al desarrollo generalizado y rápido de resistencia antihelmíntica en muchas de las especies de NGI y actualmente se ha extendido en todo el mundo (Whittaker *et al*., 2017), limitando la eficacia de los AHs para el control de las infecciones por NGI. Otro tema importante relacionado con el uso de los AHs, es que sus residuos pueden encontrarse en productos de origen animal, como carne y leche y además contaminar el suelo y el agua (Kang *et al*., 2017).

El uso de especies arbóreas nativas que proporcionan forraje para la alimentación animal y que además presentan algunos metabolitos con acción antihelmíntica representa una opción para superar esta problemática, ya que el forraje que aportan es de buena calidad nutricional y a diferencia de los pastos, siguen produciendo en la época seca. Además, contienen compuestos secundarios (CS)

con potencial para mejorar la salud y nutrición animal. Por ejemplo, los CS que protegen a las plantas de depredadores y plagas, también favorecen los procesos celulares y metabólicos de los hospederos herbívoros (Sepúlveda Velázquez *et al*., 2018).

Tithonia diversifolia Hemsl (Asteraceae), también conocida como girasol mexicano, es un arbusto perenne o anual y se encuentra distribuida ampliamente en climas tropicales y subtropicales. Tradicionalmente, todas las partes de la planta especialmente las hojas, han sido ampliamente usadas por diferentes culturas para tratar un amplio espectro de padecimientos y enfermedades que van desde la aplicación tópica, desórdenes musculo-esqueléticos, abscesos, condiciones dermatológicas, dolor de estómago, diabetes, malaria, fiebre, hepatitis y enfermedades infecciosas (Ajao y Moteetee, 2017). En Kenia, esta especie es también usada en la medicina tradicional contra ectoparásitos en el ganado y para incrementar el consumo de alimento (Chagas-Paula *et al*., 2012). *T. diversifolia*, también es usada en la alimentación animal porque es una especie con alta capacidad de producción de biomasa (30-70 t/h dependiendo de la densidad de siembra) y rápida recuperación después del corte (Mejía-Díaz *et al*., 2017). Las hojas y flores muestran un alto índice de calidad nutritiva (Osuga *et al*., 2012), sugiriendo que puede ser usada como forraje para diferentes especies animales (Castañeda-Serrano *et al*., 2018). En efecto, la suplementación del ganado con *T. diversifolia* proporciona efectos benéficos incluyendo incremento de la ganancia de peso y producción de leche (Katongole *et al*., 2016). Diversos autores han reconocido el potencial de *T. diversifolia* para ser utilizada en la alimentación de diferentes especies animales por su valor nutricional, superior al de las gramíneas tropicales, mejorando la degradabilidad de la MS de la dieta en comparación a sistemas convencionales favoreciendo la productividad animal y la rentabilidad del sistema (Mejía-Díaz *et al*., 2017).

El género *Thitonia* es una importante fuente de ingredientes naturales, particularmente lactonas sesquiterpénicas, diterpenos y flavonoides (Chagas-Paula *et al*., 2012). Las lactonas sesquiterpénicas son reconocidas por su amplio espectro de actividad biológica, incluyendo actividad significativa contra parásitos protozoarios tropicales (Toledo *et al*., 2014). Esta especie es ampliamente usada en la medicina tradicional a nivel mundial. Además, *T. diversifolia* se vuelve potencialmente importante para la producción de fitofármacos y para la utilización en la alimentación de rumiantes, por su producción a gran escala y por la facilidad de reproducción. En México, existen muy pocos trabajos respecto a la investigación de las propiedades nutricionales y medicinales que posee *T. diversifolia*, por tanto, el objetivo de este estudio fue analizar las propiedades nutricionales y evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* de *T. diversifolia* contra huevos de *Haemonchus contortus*.

Material y métodos

Localización

El trabajo se realizó en el laboratorio de etnoveterinaria de la Universidad Popular de la Chontalpa (UPCH), ubicada en el km 2,0 de la carretera Cárdenas-Huimanguillo. Geográficamente se localiza entre las coordenadas 18° 0′ de latitud norte; y 93° 23′ de longitud oeste, a una altitud de 10 m s.n.m. Tiene un clima cálido húmedo con abundantes lluvias en verano y un rango de temperatura 26-28 °C. El tipo de suelo predominante es el vertisol (INEGI, 2011).

Colecta del material vegetal

Las hojas, flores y tallos de *T. diversifolia* fueron colectadas en el municipio de Cárdenas, Tabasco (México), durante el mes de agosto del año 2017, en una plantación silvestre ubicada entre las coordenadas 18° 0′ de latitud norte y 92° 25′ de longitud oeste. El tipo de clima de esta área es cálido húmedo con abundantes lluvias en verano y un rango de temperatura de 30-32 °C. El material vegetal fue cortado entero (toda la planta) y posteriormente se hizo la separación de cada órgano para el secado, obteniéndose: 500 g de hojas, 100 g de flores y 950 g de tallos, de esta manera se colectó una muestra única sin réplica.

Obtención del extracto

El material vegetal fue secado en una estufa ECOSHEL® (modelo HV-50) durante 48 h a una temperatura de 40 °C, el material fue removido dos veces al día para lograr un secado uniforme. Una vez seco el material, se procedió a molerlo por medio de un molino eléctrico GRINDER® (modelo DF-15), hasta obtener un tamaño de partícula de 250 μm. Posteriormente se midieron en una probeta 100 mL de agua destilada y se colocaron en un vaso de precipitado de 250 mL y se llevó a ebullición; alcanzada esta temperatura se le adicionaron 5 g de polvo de hojas (infusión de hojas), flores (infusión de flores) y tallo (infusión de tallos) de *T. diversifolia* y se dejó enfriar para luego filtrar la solución. La solución final fue envasada en viales para su ultracongelación a –20 °C. Posteriormente fue sometido al proceso de liofilización en un equipo LABCONCO® (modelo 117) para la obtención del extracto y almacenado a 4 °C hasta su uso.

Caracterización química

El contenido de MS se obtuvo mediante secado en una estufa ECOSHEL® (modelo 9023) a 60 °C durante 72 h, la proteína cruda (PC) se determinó mediante la técnica de micro Kjeldahl usando el factor N × 6,25 (AOAC, 1999), el contenido de ceniza se determinó por incineración a 550 °C durante 4 h, la FDN y la fibra detergente acida (FDA) se determinaron de acuerdo con la técnica de Van Soest *et al*. (1999), usando un analizador de fibra Ankom 2000®.

Digestibilidad in situ *(DIS)*

La evaluación *in situ* se realizó en el rancho del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, ubicado en el km 25 de la carretera Cárdenas-Coatzacoalcos. Se utilizaron tres bovinos machos cruzados y fistulados en el rumen alimentados con pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) que fueron asignados a tres tratamientos con tres réplicas en un diseño completamente al azar. T1: Hojas de *T. diversifolia*; T2: Flores de *T. diversifolia* y T3: tallos de *T. diversifolia*. Para evaluar la DIS se utilizó la técnica de bolsa de nylon (Mehrez y Ørskov, 1977), empleando bolsas de (5 cm × 10 cm con un tamaño de poro promedio de 50 μm). Estas bolsas se secaron previamente a 60 °C por 24 h, hasta llevarlas a un peso constante. En cada bolsa se colocaron 5 g de MS de cada muestra; las bolsas fueron colocadas en la porción ventral del rumen y sujetadas a una cadena. Las bolsas fueron retiradas del rumen a las 48 h después de incubadas y posteriormente se lavaron a chorro circulante a baja presión, hasta que el agua salió igual de cristalina, las bolsas con los residuos se secaron en una estufa de desecación a 60 °C durante 48 h. La DIS de cada periodo de incubación se estimó mediante la siguiente ecuación:

$$DIS = \frac{\text{Cantidad inicial de la muestra} - \text{Residuo después de la incubación}}{\text{Cantidad inicial de muestra}} \times 100$$

Perfil fitoquímico

Las pruebas fitoquímicas para detectar la presencia de alcaloides, flavonoides, esteroides y terpenoides, quinonas, saponinas y taninos fueron realizadas con los extractos acuosos de hojas, flores y tallos de *T. diversifolia*, de acuerdo a los métodos previamente descritos por Domínguez (1979). Estas pruebas están basadas en la observación visual de cambio de color o de la formación de precipitados después de adicionar un reactivo específico. Para detectar la presencia de diferentes metabolitos se utilizaron las pruebas de: Alcaloides (Dragendorff y Mayer), Cianidina (Flavonoides), Salkowsky (Esteroides y terpenoides), Taninos (Gelatina sal y Cloruro Férrico), Terpenoides Quinonas *(*Bornträger) y Saponinas (Liebarmann-Burchard).

Determinación de polifenoles totales

Para la extracción de los polifenoles extraíbles totales (PET) se pesaron 100 mg de cada muestra, desengrasada previamente con hexano; así mismo se extrajeron por agitación 1 min en Vórtex con 1 mL de metanol (CH_3OH) al 80 %; seguidamente las muestras fueron colocadas a baño maría durante 15 min a 50 °C. La mezcla fue centrifugada a 10.000 rpm durante 15 min. Posteriormente para la cuantificación se utilizaron 200 µL del extracto obtenido y se le adicionaron 1500 µL de agua destilada. La reacción se llevó a cabo agregando 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteau y 200 µL de carbonato de sodio al 5 % a cada una de las muestras; el ácido gálico fue utilizado como solución estándar. Las muestras y la solución estándar se mezclaron en un equipo de Vórtex y se dejaron reposar durante 30 min en la oscuridad. La absorbancia fue medida a 765 nm en un espectrómetro (Thermoelectron, Genesys® 10 UV). Todas las muestras fueron realizadas por triplicado. Adicionalmente, se preparó una solución stock de 0,1 mg/mL de ácido gálico para establecer la curva de calibración y determinar como equivalente de ácido gálico (GAE) (mg/GAE g^{-1} BS) (Makkar *et al*., 1993).

Análisis FTIR

Para determinar los grupos funcionales presentes en las muestras de *T. diversifolia* se utilizó un espectrómetro FTIR Perkin Elmer®, (modelo Spectrum GX) usando aditamento de reflectancia total atenuada (ATR) con cristal de diamante, en un intervalo de 4000 cm^{-1} a 700 cm^{-1} y 16 barridos. Para asegurar que los resultados obtenidos fueran representativos de las muestras (hojas, flores y tallos), de cada una de las fracciones se realizaron interferogramas de tres puntos diferentes.

Obtención de huevos de H. contortus

Para la obtención de huevos de *H. contortus* se utilizó un cordero donador macho entre 3 meses y 4 meses de edad, cruzado de razas tropicales. El cordero fue alojado en un corral con piso de concreto para evitar reinfecciones con otras especies de NGI. El proceso de adaptación fue de 7 días; durante este periodo el animal fue monitoreado para determinar la carga parasitaria. Posteriormente, el cordero fue desparasitado con dos antihelmínticos comerciales: Levamisol al 12 % (Pfizer-Fort Dodge®) 7,5 mg por kg de peso vivo (P.V.) vía subcutánea y Albendazol (Zoetis®) 5,0 mg por kg de P.V. vía oral. A los 7 días se corroboró que el animal se encontraba libre de parásitos. Se procedió a infectar al cordero con 60.000 larvas de *H. contortus* vía oral. 14 días después de la inoculación de las larvas, el animal fue monitoreado diariamente para conocer la evolución de la infección e iniciar con la recolección de huevos.

Prueba de eclosión de huevos

Esta prueba fue realizada de acuerdo a la guía de la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP) (Coles *et al*., 1992). Se utilizaron cuatro concentraciones de los extractos de los diferentes órganos de *T. diversifolia* 75 μg/mL, 150 μg/mL, 300 μg/mL y 600 μg/mL y un control positivo que fue el Tiabendazol (Sigma-Aldrich®) 5 μg/mL y el control negativo PBS (Phosphate Buffered Saline), los cuales fueron distribuidos en placas de 24 pocillos con cuatro réplicas por concentración y grupo control. En cada pocillo se colocaron 150 μL de una solución que contenía 100 huevos y 850 μL de solución de cada uno de los extractos de *T. diversifolia*, para obtener un volumen final de 1 mL. Posteriormente las placas fueron incubadas por 48 h a una temperatura de 28 °C. Al final de este tiempo se añadió una gota de yodo para detener la eclosión y posteriormente se procedió a contar el número de huevos y larvas L1, a través de un microscopio (VELAB®).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis tratamientos y cuatro réplicas. T1 (control negativo); T2 (control positivo); T3 (75 μg/mL); T4 (150 μg/mL); T5 (300 μg/mL) y T6 (600 μg/mL). Se evaluaron tres extractos de *T. diversifolia*: hojas, flores y tallos. La variable de respuesta fue el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos. Para conocer las diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza utilizando un nivel de significancia del 5 % ($P < 0,05$). Los análisis se realizaron con el software SPPS, versión 15.0 para Windows. La comparación de medias se realizó mediante la prueba post hoc de Tukey ($P < 0,05$). La determinación de la DL_{50} y DL_{90} (Dosis Letal) se realizó a través del análisis probit por medio del paquete estadístico Polo-Plus (LeOra software, 2003).

Resultados

En la Tabla 1 se muestran los porcentajes de los componentes encontrados de los órganos evaluados de *T. diversifolia*. Como puede observarse se encontraron diferencias significativas $P < 0,05$ en el contenido de proteína, donde el valor máximo registrado para hojas fue (34,7 %) y el valor mínimo para tallos (7,8 %). En el porcentaje de MS no se encontraron diferencias significativas $P > 0,05$.

El tamizaje cualitativo fitoquímico de los extractos acuosos de hojas, flores y tallos de *T. diversifolia* muestra la presencia abundante de esteroides, terpenoides, fenoles y taninos, y con presencia moderada de alcaloides y quinonas. También se puede observar en la Tabla 2, la presencia débil de flavonoides, taninos y ausencia de saponinas.

Tabla 1. Medias de la composición química de órganos de *T. diversifolia* y desviación estándar.
Table 1. Mean chemical composition of T. diversifolia *organs and standard deviation.*

Muestra	Proteína (%)	MS (%)	FDN (%)	FDA (%)	Digestibilidad *In situ* (%)	Cenizas (%)
Hojas	34,7 ± 0,12^{a}	19,5 ± 0,21^{a}	30,6 ± 0,71^{a}	5,1 ± 0,13^{a}	97,6 ± 2,75^{a}	14,8 ± 0,37^{a}
Flores	14,1 ± 0,05^{b}	17,3 ± 0,14^{a}	28,2 ± 3,33^{a}	11,0 ± 2,19^{b}	88,1 ± 0,32^{a}	7,8 ± 0,06^{b}
Tallos	7,8 ± 0,04^{c}	15,9 ± 0,21^{a}	56,9 ± 1,02^{b}	37,5 ± 0,45^{c}	51,9 ± 1,83^{b}	8,3 ± 0,21^{b}

Letras diferentes en la misma columna difieren significativamente $P < 0,05$.

Tabla 2. Compuestos químicos encontrados en los extractos de *T. diversifolia.*
Table 2. Chemical compounds found the extracts of T. diversifolia*.*

Extracto	Alcaloides	Esteroides/ terpenoides	Fenoles	Flavonoides	Quinonas	Saponinas	Taninos
Hojas	++	+++	+	–	++	–	+++
Flores	+	++	+++	+	+	–	–
Tallos	–	+	–	–	+	–	+

+ = Presencia débil; ++ = Moderada; +++ = Abundante; – = Ausencia.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el contenido de polifenoles en los diversos órganos de *T. diversifolia*, sin embargo, el extracto de flores mostró una ligera tendencia superior a los otros órganos (Tabla 3). Esto coincide con lo observado en el análisis fitoquímico que muestra mayor abundancia de estos compuestos.

Análisis FTIR

En la figura 1 se observan los interferogramas de hojas, tallos y flores de *T. diversifolia*, donde se muestran las bandas de absorción a 3400 cm^{-1}, 2926 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1755 cm^{-1}, 1607 cm^{-1}, 1391 cm^{-1} y 1078 cm^{-1}; estas bandas son específicas de grupos funcionales hidroxi-

Tabla 3. Medias ± error estándar de polifenoles extraíbles totales en *T. diversifolia.*
Table 3. Mean ± standard error of total extractable polyphenols in T. diversifolia*.*

Órgano	Polifenoles extraíbles (mg GAE g^{-1})
Hoja	17,64 ± 1,5[a]
Flor	19,27 ± 0,3[a]
Tallo	16,73 ± 0,02[a]

GAE: equivalente de ácido gálico por 100 g; ± SE: Error estándar.
Letras semejantes en la misma columna no difieren estadísticamente $P > 0,05$.

los (OH), metilos (CH_3), metilenos (CH_2), carbonilos (C=O), dobles enlaces C=C, fenoles (O-H) y enlaces C-O respectivamente, encontrados principalmente en compuestos terpénicos.

En la Tabla 4 se muestran las medias de los extractos de hojas, flores y tallos de *T. diversifolia* a las diferentes concentraciones. Las mayores concentraciones probadas del extracto acuoso de flores de *T. diversifolia* (150 μg/mL, 300 μg/mL y 600 μg/mL) mostraron la tasa más alta de inhibición de la eclosión 98,5 %, 99,7 % y 100 %, respectivamente. El comportamiento de los tres extractos fue de manera dosis-dependiente. Los porcentajes menores de eficacia fueron observados en el extracto de tallos de *T. diversifolia*, en todas las concentraciones probadas. El resultado de la determinación de la DL_{50} y DL_{90} demuestra que el extracto acuoso de hojas mostró la menor DL_{50} y el extracto de flores mostró la

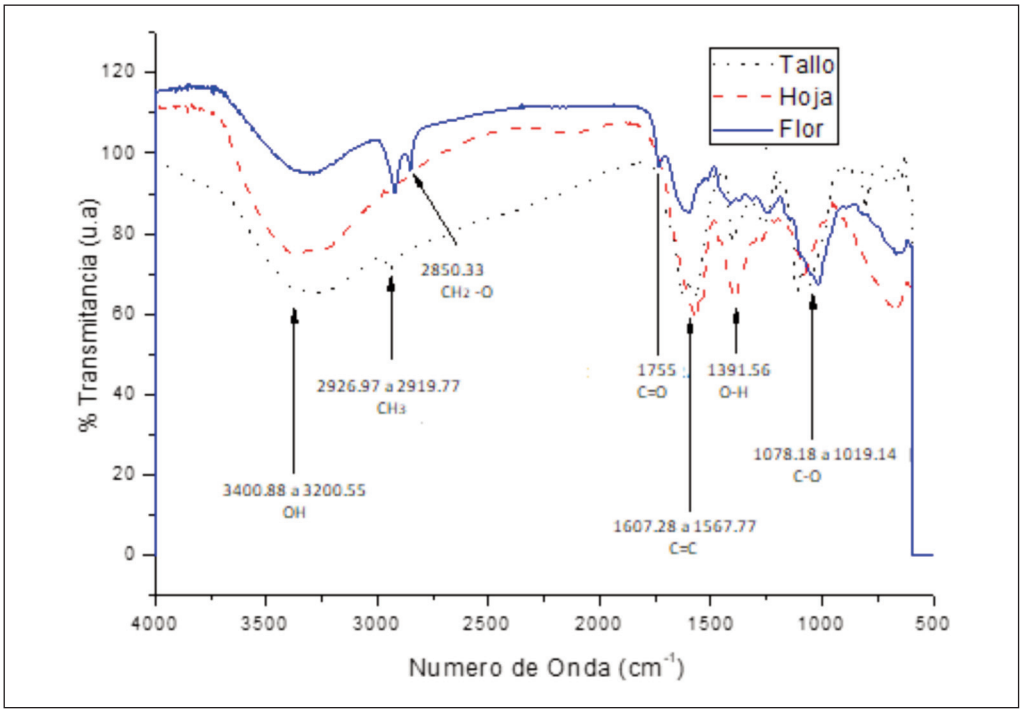


Figura 1. Interferograma de los extractos acuosos de hojas, flores y tallos de *T. diversifolia.*
Figure 1. Interferogram of leaves, flowers and stems of extracts from T. diversifolia.

Tabla 4. Medias del porcentaje de eficacia ± error estándar de inhibición de la eclosión de los extractos acuosos de *T. diversifolia* contra huevos de *H. contortus.*
Table 4. Mean efficacy percentage ± standard error of the of inhibition of T. diversifolia *extracts against* H. contortus *eggs*

Concentración (µg/mL)	Tipo de extracto		
	Flores	Hojas	Tallos
600	100 ± 2,1[a]	90,0 ± 2,8[a]	81,4 ± 13,7[a]
300	99,7 ± 0,2[a]	89,2 ± 4,5[a]	64,3 ± 18,6[a]
150	98,5 ± 1,5[a]	80,0 ± 1,5[a]	58,0 ± 13,2[a]
75	80,0 ± 5,0[b]	73,2 ± 8,5[b]	27,7 ± 6,3[b]
Tiabendazol 0,05 control (+)	92,5 ± 2,1[a]	93,7 ± 0,6[a]	93,1 ± 2,1[a]
Control negativo (PBS)	6,2 ± 1,8[c]	5,2 ± 0,6[c]	5,7 ± 1,2[c]

Letras diferentes en la misma columna representan diferencia significativa ($P < 0,05$).
PBS = Phosphate Buffered Saline.

Tabla 5. Concentración letal requerida para inhibir el 50 % (CL_{50}) y 90 % (CL_{90}) de la eclosión de huevos, y limites inferior y superior al 90 % de los extractos de hojas, flores y tallos de *T. diversifolia*.
Table 5. Lethal concentration required to inhibit to 50 % (CL_{50}) and 90 % (CL_{90}) of the hatching of eggs, and lowers and higher confidence limits than 90 % of the extracts of leaves, flowers and stems of T. diversifolia*.*

Extracto	CL_{50} (µg/mL)	LC 90 % inferior-superior (µg/mL)	CL_{90} (µg/mL)	LC 90 % inferior-superior (µg/mL)
EAH	11,73	4,91-20,29	464,06	363,77-661,32
EAF	27,86	12,43-41,68	107,28	86,24-131,92
EAT	160,97	134,64-188,36	1184,68	843,83-1960,98

EAH: Extracto acuoso de hojas; EAF: Extracto acuoso de flores; EAT: Extracto acuso de tallos.

menor $DL_{90,}$ lo que indica la eficacia de ambos extractos para inhibir la eclosión de huevos de *H. contortus* (Tabla 5).

Discusión

En este estudio los extractos acuosos de flores, hojas y tallos de *T. diversifolia* fueron caracterizados química y fitoquímicamente para conocer su potencial nutricional y medicinal (antihelmíntico); para lo cual se realizó la evaluación *in vitro* mediante la prueba de eclosión de huevos contra el nematodo *H. contortus*. Las hojas de *T. diversifolia* mostraron un alto contenido de proteína (34,7 %), muy similar a lo reportado por Roothaert y Paterson (1997), quienes encontraron porcentajes de proteína en hojas entre 29 % a 38 %, y muy superior a los valores de 27,5 %, 25 % y 20 % reportados por Mejía-Díaz *et al*. (2017), Tendonkeng *et al*. (2014) y Ramírez-Rivera *et al*. (2010), respectivamente. Según Juárez-Hernández *et al*. (2004), la edad al corte ejerce un efecto considerable en el rendimiento y la calidad del forraje (en términos de proteína y relación hoja/tallo). Lo interesante en *T. diversifolia* es que la proporción de la proteína de paso es mayor que la proteína degradable en el rumen. Murgueito (2005) afirma que esta arbustiva puede reemplazar 35 % del concentrado (15,7 % de PC y 29,8 % de FDN) en vacas lecheras sin afectar la producción y la calidad de la leche. Según Van Sao *et al*. (2010), se pueden obtener hasta 6 t/ha de proteína cruda.

En cuanto a la degradabilidad *in situ* encontrada, esta fue de 97 % en hojas, muy similar a lo encontrado por Orestes *et al*. (2008), quienes reportaron valores entre 85 % y 90 % de degradabilidad de la MS. Comparado con los valores obtenidos por Mahecha y Rosales (2005), en las leguminosas forrajeras *Leucaena leucocephala* (79 %), *Gliricidia sepium* (82,1 %) y *Enterolobium cyclocarpum* (87,6 %) el porcentaje de digestibilidad de *T. diversifolia* en este estudio fue superior.

Dada las propiedades nutricionales de *T. diversifolia*, como fuente proteica, ésta también ha sido utilizada como forraje en la alimentación de cabras (Odedire y Oloidi, 2014), estos autores sugieren que las hojas de *T. diversifolia* pueden servir como suplemento forrajero para cabras con un nivel de inclusión hasta del 30 % sin presentar efectos secundarios.

Los resultados obtenidos en este estudio revelan que los extractos acuosos de hojas y flores de *T. diversifolia* evaluados muestran una

buena actividad antihelmíntica contra huevos del nematodo *H. contortus*. El género *Tithonia* presenta una gran diversidad química, comprende principalmente terpenoides y flavonoides. *T. diversifolia* es la especie más investigada y varios estudios han revelado el potencial de esta planta y sus constituyentes. Los terpenoides como sesquiterpenos, diterpenos, monoterpenos y compuestos alicíclicos han sido aislados de las hojas, tallos y flores de *T. diversifolia* (Kuo y Chen, 1998; Zhao *et al*., 2012). Los terpenoides son los metabolitos más comunes en esta especie y son los principales componentes de muchos aceites esenciales. Los sesquiterpenos son un gran grupo de metabolitos secundarios con un esqueleto de quince carbonos (C_{15}), formado por tres unidades de isopreno y existen una amplia variedad de formas (Ajao y Moteetee, 2017). Otros grupos de compuestos en *T. diversifolia* son las lactonas sesquiterpénicas, las cuales son distintas químicamente de los sesquiterpenos por la presencia de un sistema γ-lactona. Ejemplos de estos compuestos son los metabolitos tagitinina A-C y F, que han sido aislados de esta planta (Baruah *et al*., 1979). Las hojas de *T. diversifolia* han sido usadas extensivamente en la medicina tradicional de Nigeria para tratar la fiebre, la malaria y otros padecimientos. El compuesto antiplasmodial tagitinina C ha demostrado ser el principio activo responsable del uso de hojas de *T. diversifolia* en el tratamiento de la malaria (Goffin *et al*., 2002). Las pruebas cualitativas y los análisis de FTIR de los extractos de *T. diversifolia*, muestran que los principales grupos funcionales -OH (3400 cm^{-1}); grupos carbonilo C=O (1755 cm^{-1}), como ésteres, ácidos carboxílicos y cetonas, dobles enlaces C=C (1607 cm^{-1}) son característicos de las sesquiterpenlactonas reportadas en la literatura como la tagitinina (Zhou *et al*., 2012).

No existen reportes sobre la actividad antihelmíntica de *T. diversifolia* sobre NGI, por lo que este estudio constituye el primer hallazgo de esta especie sobre huevos de *H. contortus*. Los datos obtenidos muestran que el extracto acuoso de flores mostró el mayor porcentaje de inhibición *in vitro* (100 %) en la mayor concentración evaluada (600 µg/mL) y, a la misma dosis, el extracto de hojas y tallos mostraron 90 % y 81 % de inhibición de la eclosión de huevos, respectivamente. El extracto de flores mostró mayor porcentaje de inhibición, atribuida posiblemente a la presencia de lactonas sesquiterpénicas identificadas en la flor (1755 cm^{-1}) y la presencia de fenoles (1391 cm^{-1}) en ese extracto. Los compuestos fenólicos han sido asociados con la resistencia de plantas a una variedad de plagas y patógenos, la investigación ha revelado una correlación de los niveles elevados de compuestos fenólicos con la resistencia de la planta a la infección por nematodos. Diversos compuestos fenólicos han mostrado actividad nematocida, como el pirocatecol, el ácido salicílico y el ácido 4-hidroxibenzoico los cuales exhibieron eficacia nematocida contra *C. elegans* y *M. incognita* (Zhou *et al*., 2012). Adicionalmente, la presencia de taninos que probablemente actuaron de manera sinérgica para producir un efecto mayor que los otros extractos.

Por otro lado, los polifenoles incluidos en la dieta son la fuente más diversa de nutracéuticos, que han demostrado un enorme potencial para modular varias características de la salud y la enfermedad (Sharma y Padwad, 2020).

Los metabolitos responsables de la actividad antihelmíntica de los extractos acuosos de *T. diversifolia*, fenoles, terpenoides y taninos han mostrado actividad nematocida contra diferentes especies de nematodos siendo capaces de interrumpir el ciclo de vida del nematodo y afectar la eclosión del huevo y desarrollo de la larva (Molan y Farah, 2010; Hoste *et al*., 2012). Vargas-Magaña *et al*. (2014) proponen posibles mecanismos de como los extractos de planta inhiben la eclosión del huevo, ellos teorizan tres mecanismos: primero, el extracto afecta la permeabilidad del cascarón; se-

gundo, el extracto inhibe algunas enzimas involucradas en la eclosión; y tercero el extracto afecta los receptores de eclosión que se encuentran en el cascarón.

Conclusiones

De acuerdo a los análisis realizados para conocer las propiedades nutricionales de *T. diversifolia*, se demuestra que los atributos que posee en cuanto a proteína, representa un potencial para ser utilizada en la alimentación de rumiantes en el trópico mexicano. Las pruebas *in vitro* revelaron el potencial antihelmíntico de los extractos acuosos de hojas y flores de *T. diversifolia* para inhibir la eclosión de huevos en un porcentaje de 80 % a 100 % con las concentraciones de 150 µg/mL a 600 µg/mL y con una CL_{90} de 464,1 µg/mL y 107,3 µg/mL respectivamente.

Referencias bibliográficas

Ajao AA, Moteetee NA (2017). *Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray. (Asteraceae: Heliantheae), an invasive plant of significant ethnopharmacological importance: A review. South African Journal of Botany 113: 396-403. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.09.017.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1999). Official Method of Analysis 16th Ed. Washington DC, USA. 1200 pp.

Baruah NC, Sharman RP, Madhusudanan KP, Thyagarajan G, Herz W, Murari R (1979). Sesquiterpene lactones of *Tithonia diversifolia* stereochemistry of the tagitinins and related compounds. Journal of Organic Chemistry 44: 1831-1835. https://doi.org/10.1021/jo01325a018.

Canul-Solis JR, Castillo-Sánchez LE, Escobedo-Mex JG, López-Herrera MA, Lara-Lara PE (2018). Rendimiento y calidad forrajera de *Gliricidia sepium*, *Tithonia diversifolia* y *Cynodon nlemfuensis* en monocultivo y sistema agroforestal. Agrociencia 52: 853-862.

Castañeda-Serrano RD, Piñeros-Varón R, Vélez-Giraldo A (2018). Foliage of tropical arboreal species in feeding ovines (*Ovis aries*): intake, digestibility and balance nitrogen. Boletín Científico Centro de Museos Historia Natural 22: 58-68. https://doi.org/10.17151/bccm.2018.22.1.4.

Chagas-Paula DA, Oliveira RB, Rocha BA, Da Costa FB (2012). Ethnobotany, chemistry, and biological activities of the genus *Tithonia* (Asteraceae). Chemistry & Biodiversity 9: 210-234. https://doi.org/10.1002/cbdv.201100019.

Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Veterinary Parasitology 44: 35-44. https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-u.

Domínguez XA, (1979). Métodos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa, S.A. México, D.F. 281 pp.

Goffin E, Ziemons E, De Mol P, De Madureira MDC, Martins AP, Da Cunha AP, Philippe G, Tits M, Angenot L, Fredrich M (2002). *In vitro* antiplasmodial activity of *Tithonia diversifolia* and identification of its main active constituent: Tagitinin C. Planta Medica 68: 543-545. https://doi.org/10.1055/s-2002-32552.

Hoste H, Martinez-Ortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, Brunet S, Ojeda-Robertos N, Fourquaux I, Torres-Acosta JF, Sandoval-Castro CA (2012). Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. Veterinary Parasitology 186: 18-27. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.042.

Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI) (2011). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Cárdenas, Tabasco. México. pp. 2-3.

Juárez-Hernández J, Bolaños ED, Reinoso M (2004). Contenido de proteína por unidad de materia seca acumulada en pastos tropicales. Época de nortes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 38(4): 423-430.

Kang J, Park SJ, Park HC, Hossain MA, Kim MA, Son SW, Lim CM, Kim TW, Cho BH (2017). Multiresidue screening of veterinary drugs in meat, milk, egg, and fish using liquid chromatography coupled with ion trap time-of-flight mass spectrometry. Applied Biochemestry and Biotechnology 182: 635-652. https://doi.org/10.1007/s12010-016-2350-y.

Katongole CB, Kabirizi JM, Nanyeenya WN, Kigongo J, Nviiri G (2016). Milk yield response of cows supplemented with sorghum stover and *Tithonia diversifolia* leaf hay diets during the dry season in northern Uganda. Tropical Animal Health and Production 48: 1463-1469. https://doi.org/10.1007/s11250-016-1119-1.

Kenyon F, Rinaldi L, McBean D, Pepe P, Bosco A, Melville L, Devin L, Mitchell G, Ianniello D, Charlier J, Vercruysse J, Cringoli G, Levecke B (2016). Pooling sheep faecal samples for the assessment of anthelmintic drug efficacy using McMaster and Mini-FLOTAC in gastrointestinal strongyle and *Nematodirus* infection. Veterinary Parasitology 225: 53-60. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.03.022.

Kuo YH, Chen CH (1998). Sesquiterpenes from the leaves of *Tithonia diversifolia*. Journal of Natural Product 61: 827-828. https://doi.org/10.1021/np970530h.

LeOra software (2003). POLO: A user's guide to Probit Or LOgit analysis. Berkeley, USA. 19 pp.

Mahecha L, Rosales M (2005). Valor nutricional del follaje de Botón de Oro (*Tithonia diversifolia* [Hemsl]. Gray), en la producción animal en el trópico. Livestock Research for Rural Development 17: 100.

Makkar HPS, Blümmel M, Borowy NK, Becker K (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlation with Chemical and protein precipitation methods. Journal of the Science of Food and Agriculture 61: 161-165. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740610205.

Mehrez AZ, Ørskov ER (1977). A study of artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. The Journal of Agricultural Science 88(3): 645-650. https://doi.org/10.1017/S0021859600037321.

Mejía-Díaz E, Mahecha-Ledesma L, Angulo-Arizala J (2017). *Tithonia diversifolia:* especie para ramoneo en sistemas silvopastoriles y métodos para estimar su consumo. Agronomía Mesoamericana 28(1): 289-302. https://doi.org/10.15517/am.v28i1.22673.

Molan AL, Faraj AM (2010). The effects of condensed tannins extracted from different plant species on egg hatching and larval development of *Teladorsagia circumcincta* (Nematoda: Trichostrongylidae). Folia Parasitologica. 57: 62-68. https://doi.org/10.14411/fp.2010.008.

Murgueito E (2005). Silvopastoral systems in the neotropics. En: Silvopastoralism and sustainable land management (Ed. Mosquera-Losada MR, Rigueiro-Rodríguez A, McAdam J), pp. 24-29. CABI Publishing, Wallingford, UK. http://dx.doi.org/10.1079/9781845930011.0024.

Odedire JA, Oloidi FF (2014). Feeding wild sunflower (*Tithonia diversifolia* Hemsl., A. Gray) to West African dwarf goats as a dry season forage supplement. World Journal of Agricultural Research 2: 280-284. https://doi.org/10.12691/wjar-2-6-6.

Orestes LOL, Valenciaga-Gutiérrez D, Ruiz-Vázquez TE, Ruiz-Barrera O, Castillo-Castillo Y, González-García H, Rodríguez-Muela C, Hernández AD, Chongo-García B, Arzola-Álvarez C, Cairo-Sotolongo J (2008). Efecto de la edad de corte en la capacidad fermentativa *in vitro* y la dinámica de degradación ruminal *in situ* de *Tithonia diversifolia*. Zootecnia Tropical 26(3): 243-247.

Osuga IM, Abdulrazak SA, Muleke CI, Fujihara T (2012). Potential nutritive value of various parts of wild sunflower (*Tithonia diversifolia*) as source of feed for ruminants in Kenya. Journal of Food, Agriculture & Environment 10: 632-635.

Ramírez-Rivera U, Sanginés-García JR, Escobedo-Mex JG, Cen-Chuc F, Rivera-Lorca JA, Lara-Lara PE (2010). Effect of diet inclusion of *Tithonia diversifolia* on feed intake, digestibility and nitrogen balance in tropical sheep. Agroforestry Systems 80: 295-302. https://doi.org/10.1007/s10457-010-9320-0.

Rojas-Schroeder JA, Sarmiento-Franco L, Sandoval-Castro CA, Santos-Ricalde RH (2017). Utilización

del follaje del Ramón (*Brosimum alicastrum* Swarth) en la alimentación animal. Tropical and Subtropical Agroecosystems 20: 363-371.

Roothaert LR, Paterson TR (1997). Recent work on the production and utilization of tree fodder in East Africa. Animal Feed Science and Technology 69: 39-51. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)81621-5.

Sepúlveda-Vázquez J, Torres-Acosta JF, Sandoval-Castro CA, Martínez-Puc JF, Chan-Pérez JI (2018). La importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. Journal of the Selva Andina Animal Science 5 (2): 79-95.

Sharma R, Padwad Y (2020). Perspectives of the potential implications of polyphenols in influencing the interrelationship between oxi-inflammatory stress, cellular senescence and immunosenescence during aging. Trends in Food Science & Technology 98: 41-52. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.004.

Tendonkeng F, Fogang Zogang B, Sawa C, Boukila B, Tendonkeng PE (2014). Inclusion of *Tithonia diversifolia* in multinutrient blocks for West African dwarf goats fed *Brachiaria* straw. Tropical Animal Health Production 46: 981-986. https://doi.org/10.1007/s11250-014-0597-2.

Toledo JS, Ambrosio SR, Borges CHG, Manfrim V, Cerri DG, Cruz AK, Da Costa FB (2014). *In Vitro* Leishmanicidal activities of sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* against *Leishmania braziliensis* Promastigotes and Amastigotes. Molecules 19: 6070-6079. https://doi.org/10.3390/molecules19056070.

Van Sao N, Mui NT, Van Binh D (2010). Biomass production of *Tithonia diversifolia* (Wild Sunflower), soil improvement on sloping land and use as high protein foliage for feeding goats. Livestock Research for Rural Development 22(8): 151.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74(10): 3583-3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.

Vargas-Magaña JJ, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Chan-Pérez JI (2014). Anthelmintic activity of acetone-water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: interactions between tannins and other plant secondary compounds. Veterinary Parasitology 206(3): 322-327. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.10.008.

Whittaker JH, Carlson SA, Jones DE, Brewer MT (2017). Molecular mechanisms for anthelmintic resistance in strongyle nematode parasites of veterinary importance. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 40: 105-115. https://doi.org/10.1111/jvp.12330.

Zhao GJ, Zhong XX, Chen WS, Li X, Sun LN (2012). Chemical constituents from *Tithonia diversifolia* and their chemotaxonomic significance. Biochemical Systematics and Ecology 44: 250-254. https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.06.019.

Zhou JL, Wang K, Wang J, Xu J, Zhao T, Shan CL (2012). Secondary Metabolites with antinematodal activity from higher plants. In: Studies in Natural Products Chemistry (Ed. Atta-ur-Rahman), pp. 67-114. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00003-1.

(Aceptado para publicación el 22 de abril de 2021)

Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión

Uxía Yáñez, Juan J. Becerra, Pedro G. Herradón, Ana I. Peña y Luis A. Quintela*

Reproducción y Obstetricia, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario, Avda. Carballo Calero s/n, 27002 Lugo, España

Resumen

La ultrasonografía en modo Doppler es una técnica que permite el estudio del flujo sanguíneo de los diferentes órganos y estructuras de manera no invasiva. Por ello, en el ámbito de la reproducción del ganado vacuno, ha sido de gran ayuda para identificar los cambios hemodinámicos que tienen lugar en el tracto genital durante el ciclo estral, la gestación y el post-parto. Empleando esta información, se han investigado las diferentes aplicaciones de esta herramienta a nivel de campo con el objetivo de optimizar el rendimiento de las explotaciones.

Así, entre sus usos se encuentra la posibilidad de predecir el momento de la ovulación y de estimar la fertilidad; además, permite la evaluación de la funcionalidad del cuerpo lúteo, de manera que, no solo resulta de utilidad a la hora de establecer protocolos de inducción/sincronización de celo, sino que también podría permitir la realización de un diagnóstico de "no gestación" más precoz. De igual modo, se ha estudiado su eficacia a la hora de predecir el éxito de los protocolos de superovulación y el número de embriones recolectados. Por último, esta técnica podría ser de interés para detectar lo antes posible patologías uterinas post-parto y diferenciar los tipos de quistes ováricos.

No obstante, no podemos olvidar que, actualmente, no ha demostrado ser suficientemente fiable de manera individual para la realización de ciertos procedimientos (por ejemplo, llevar a cabo un diagnóstico de gestación más temprano o valorar la fertilidad), aunque sí ha ofrecido resultados interesantes para continuar la investigación en este campo.

Palabras clave: Ultrasonografía, flujo sanguíneo, vacuno, genital.

Doppler Ultrasonography and its application in bovine reproduction: a review

Abstract

Doppler ultrasonography is a technique which allows the study of blood flow to different organs and structures in a non-invasive way. Therefore, in cattle reproduction, it has been of great help in identifying the hemodynamic changes that occur in the genital tract throughout the oestrous cycle, pregnancy, and post-partum. Taking this information into account, several applications of this tool were investigated at field conditions to optimise the efficiency of the farms.

* Autor para correspondencia: luisangel.quintela@usc.es

Cita del artículo: Yáñez U, Becerra JJ, Herradón PG, Peña AI, Quintela LA (2022). Ecografía Doppler y su aplicación en reproducción bovina: revisión. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 82-100. https://doi.org/10.12706/itea.2021.019

In this way, among its applications it can be found the possibility of predicting the time of ovulation and estimating fertility; moreover, it allows the evaluation of the corpus luteum functionality, so that not only is it useful to establish heat inducement/synchronization protocols, but it may be also possible to perform an earlier "non-pregnancy" diagnosis. Additionally, its effectiveness in predicting the outcome of superovulation protocols and the number of collected embryos has been studied. Finally, this technique might be of interest to detect post-partum uterine diseases as soon as possible and identify the types of ovarian cysts.

Nevertheless, we cannot forget that, nowadays, Doppler ultrasonography has not proven to be accurate enough to conduct some procedures individually (such as performing an earlier pregnancy diagnosis or evaluate fertility), although it has offered interesting results to continue the research in this field.

Keywords: Ultrasonography, blood flow, cattle, genital.

Introducción

En las modernas explotaciones bovinas, donde los márgenes comerciales son cada vez más estrechos, la eficiencia reproductiva cobra especial importancia, puesto que de ella depende, en gran medida, la rentabilidad de las granjas. Con el objetivo de optimizar dicha rentabilidad, se deberían evaluar no solo la salud y el bienestar de los animales, sino también el estado de su tracto genital. Dicho examen se ha realizado durante muchos años mediante palpación transrectal; no obstante, a finales del siglo XX, debido a la creación de equipos de ultrasonido más compactos y fáciles de transportar, así como al establecimiento de un precio más accesible, la ecografía cobró fuerza como nueva técnica de diagnóstico a nivel de campo, demostrando ser más eficaz que su predecesora (Beal *et al*., 1992).

Entre las múltiples ventajas que ofrece el examen ecográfico se encuentra la visualización de los ovarios y de las estructuras presentes en ellos, lo que ha hecho posible el seguimiento de la dinámica folicular. De igual modo, el diagnóstico de diversas patologías ováricas y uterinas como quistes, endometritis y piómetras es más sencillo mediante el empleo de esta técnica. Además, permite explorar el interior del útero, por lo que no solo se puede realizar un diagnóstico de gestación más precoz (el día 26 con más del 95 % de sensibilidad, de acuerdo con Filteau y Des-Cóteaux, 1998), sino que también facilita la detección de mortalidad embrionaria, la identificación de más de una cría y la determinación del sexo del feto.

A pesar de sus numerosas aplicaciones, la ecografía en blanco y negro no es capaz de proporcionar información acerca de ciertos aspectos relativos a la funcionalidad de los órganos como, por ejemplo, su vascularización. Para solventar esta limitación, existe el modo Doppler, una técnica complementaria que permite el estudio de la hemodinámica de las estructuras exploradas.

La ecografía en modo Doppler se basa en el fenómeno físico descrito en el siglo XIX por el austríaco Christian A. Doppler, el cual explica el cambio de frecuencia que tiene lugar en una onda cuando hay un desplazamiento entre la fuente emisora y la receptora. A este cambio de frecuencia se le conoce como frecuencia Doppler o "Doppler shift". Si existe un acercamiento, las ondas son percibidas con mayor frecuencia, mientras que, al alejarse, esta será cada vez menor. En la práctica, la ecografía en modo Doppler se emplea para evaluar el flujo sanguíneo mediante el análisis del movimiento de los glóbulos rojos. Existen dos tipos de sistemas Doppler (Paolinelli, 2013):

– Doppler continuo: la señal es emitida y recibida al mismo tiempo por el transductor, por lo que se obtienen todos los flujos y movimientos a lo largo del haz. No determina la posición ni la profundidad del vaso, pero permite evaluar velocidades muy altas.
– Doppler pulsado: en este caso, la señal es emitida por el transductor, y esta debe regresar antes de que se envíe el próximo pulso. Permite concretar la posición del vaso en el espacio. Dentro del sistema pulsado, mediante la modificación de la frecuencia o de las velocidades podemos encontrar otros 3 modos:
    • Doppler espectral: muestra una curva basada en la velocidad y el tiempo, la cual representa la variación de la velocidad de los glóbulos rojos durante el ciclo cardíaco. La dirección de estos últimos se indica por el signo de la velocidad: valores positivos se aproximan al transductor, mientras que los negativos se alejan.
    • Doppler color (Figura 1A): codifica la velocidad media del flujo sanguíneo en colores, superponiéndola a la imagen obtenida en modo B. El color muestra la dirección del flujo y, cuanto más brillante sea, mayor será la velocidad.
    • Doppler potencia (Figura 1B): se relaciona con el número de hematíes, no con su velocidad. Su sensibilidad es 2-5 veces mayor que la del Doppler color, por lo que permite evaluar vasos de menor diámetro o con flujo más lento (Ginther, 2007).

En el ámbito de la reproducción bovina, la evaluación de la vascularización del tracto genital, que en sus inicios se realizaba mediante procedimientos invasivos (Ford *et al*., 1979), se puede llevar a cabo con el empleo del modo Doppler durante un examen transrectal rutinario, gracias a su incorporación a los equipos de ultrasonografía. De esta manera, es posible estudiar los cambios que tienen lugar en el flujo vascular a lo largo del ciclo estral y de la gestación (Herzog y Bollwein, 2007).

Teniendo en consideración la información descrita anteriormente, el objetivo de este trabajo ha sido realizar una revisión sobre las variaciones del flujo sanguíneo que ocurren en el aparato genital de las hembras bovinas durante las diferentes fases del ciclo estral, la gestación y el período post-parto; así mismo, se ha profundizado en las aplicaciones del modo Doppler para el control reproductivo del ganado vacuno.

Variaciones del flujo sanguíneo

Ovarios

El desarrollo folicular en la especie bovina tiene lugar en forma de oleadas. La mayoría de los ciclos se componen de dos o tres oleadas y, en ambos casos, la primera da comienzo el día de la ovulación. Dicho inicio se caracteriza por el crecimiento de 8-41 pequeños folículos (Adams, 1999), los cuales evolucionan a un ritmo similar durante dos días, hasta que uno de ellos es seleccionado para continuar su desarrollo (folículo dominante), mientras los restantes sufren atresia (folículos subordinados). En un ambiente con una elevada concentración de progesterona, los folículos dominantes de las diferentes oleadas regresan. Por el contrario, al desencadenarse la luteolisis y, consecuentemente, disminuir los niveles de esta hormona, el folículo dominante presente se convierte en folículo preovulatorio.

A lo largo del desarrollo folicular, se forma un extenso plexo vascular en las células de la teca (O'Shea *et al*., 1978). Este incremento del aporte sanguíneo es más notable en los folículos dominantes que en los folículos subordinados (Figura 2), por lo que se ha convertido en su principal diferencia histológica (Jiang *et al*., 2003). Por esta razón, la relación

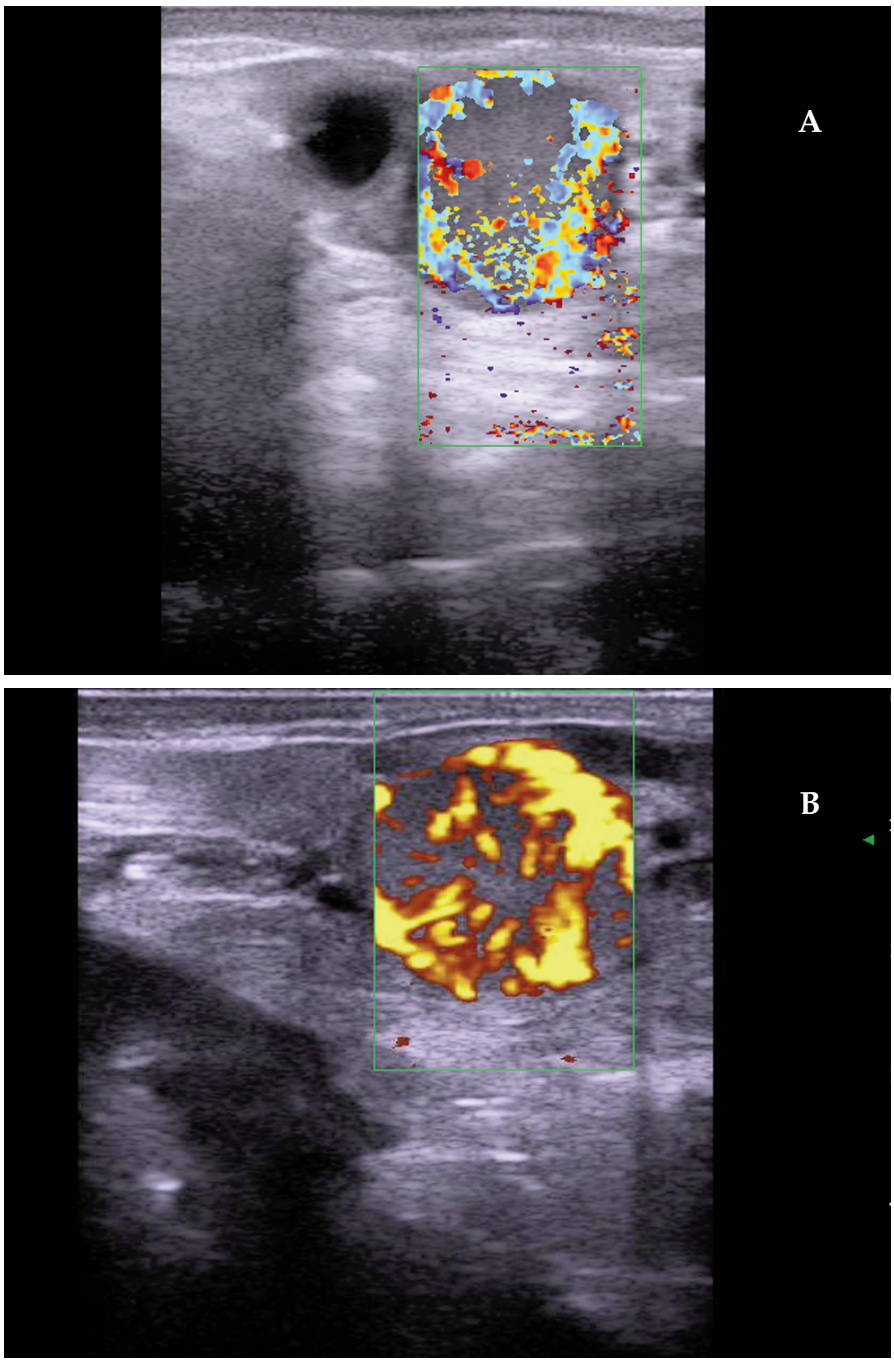


Figura 1. Imagen de un examen ecográfico del cuerpo lúteo con Doppler color (A) y Doppler potencia (B).
Figure 1. Picture of an ultrasonographic examination of the corpus luteum with colour Doppler (A) and power Doppler (B).

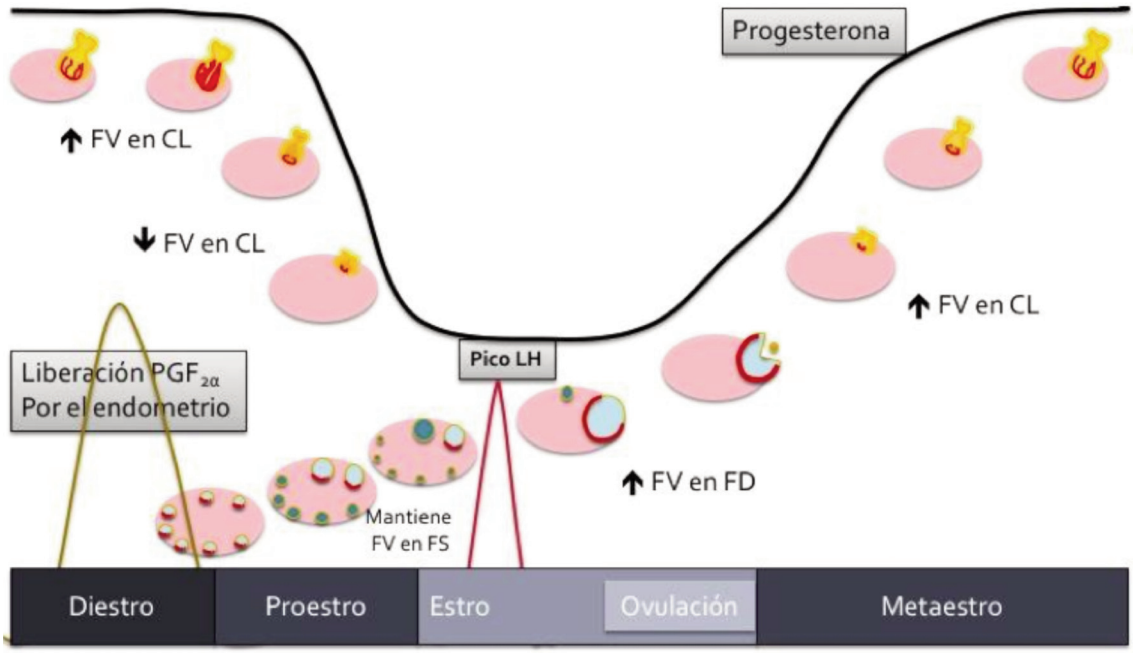


Figura 2. Cambios en el flujo sanguíneo en el ovario durante el ciclo estral en ganado bovino. Modificado de Matsui y Miyamoto (2009).
Figure 2. Changes in ovarian blood flow during the oestrous cycle in cattle. Modified from Matsui and Miyamoto (2009).

existente entre el diámetro folicular y la vascularización juega un papel fundamental en los procesos de selección y ovulación en el ganado bovino (Acosta, 2007). Por lo tanto, mediante el estudio de la naturaleza y de los mecanismos de selección de los folículos podría ser posible mejorar ciertos procedimientos, tales como la superovulación y la recolección de ovocitos para transferencia de embriones, entre otros (Ginther *et al*., 2019).

Como se ha comentado en el párrafo anterior, el flujo sanguíneo y el tamaño de los folículos están íntimamente relacionados; no obstante, se ha descubierto que es el flujo sanguíneo el que primero establece una diferencia entre ambos tipos de folículos. En el año 2019, Ginther *et al*. comprobaron, mediante la realización de un examen ecográfico cada 8 horas, que esta desigualdad en la vascularización tiene lugar 16 horas antes. Por otro lado, tanto el área ocupada por el flujo sanguíneo, como su velocidad (medida en la base del folículo), están temporalmente asociadas con el incremento de la concentración en plasma de estradiol y el pico de LH (Acosta *et al*., 2003), aumentando su intensidad a medida que se acerca el momento de la ovulación (Satheshkumar, 2018). Por consiguiente, la irrigación de los folículos podría ser de utilidad para distinguir de manera precoz cuál será el futuro folículo dominante e incluso podría ayudar a predecir el momento de la ovulación.

Por otro lado, Brännström *et al.* (1998) observaron que el aporte sanguíneo es mayor en la base del folículo que en el ápex, lo que facilita la ruptura del folículo. Durante la ovulación, el folículo colapsa, liberando el

ovocito y el fluido del antro. Además, se produce la pérdida de la membrana basal y se desarrolla una nueva red de vasos sanguíneos a partir de la vascularización de las células de la teca. Este período de intensa angiogénesis continúa durante el desarrollo del cuerpo lúteo (Acosta *et al*., 2003).

Así mismo, el cuerpo lúteo va experimentando a lo largo de su vida variaciones en cuanto a su volumen e irrigación (Figura 2). Primeramente, tiene lugar un incremento de ambos parámetros, directamente relacionado con la capacidad para producir y liberar progesterona (Acosta *et al*., 2003). Es importante destacar que este cuerpo lúteo joven no es sensible a la Prostaglandina $F2_a$ ($PGF2_\alpha$), de modo que, aunque se administrase de manera exógena, no se produciría la luteolisis y tanto su volumen como la concentración de progesterona continuarían aumentando (Acosta *et al*., 2002).

Por el contrario, cuando nos encontramos en mitad de ciclo (día 10), el cuerpo lúteo sí responde a la PGF2α, por lo que, tras la administración de una dosis luteolítica se aprecia un incremento agudo en el flujo sanguíneo (Acosta *et al*., 2002). Este aumento se produce durante las 2 horas posteriores a la inyección y se limita a la vascularización periférica, cuyas arteriolas presuntamente están formadas por capas de músculo liso y, por lo tanto, son capaces de sufrir vasodilatación y vasoconstricción (Miyamoto *et al*., 2005). Este mismo incremento se observa durante la luteolisis espontánea. Así, el flujo sanguíneo se intensifica los días 17-18 del ciclo, seguido de una disminución en la concentración de progesterona un día más tarde (Shirasuna *et al*., 2004a).

Es probable que, efectivamente, este fenómeno se deba a la acción de la PGF2α. Una posible explicación es que la liberación de esta hormona desde el útero estimule la producción de óxido de nitrógeno a nivel de las arteriolas periféricas del cuerpo lúteo maduro, provocando su dilatación y, por consiguiente, un aumento del flujo sanguíneo. A su vez, también predispondría a las células endoteliales a secretar endotelina 1 (ET-1) y angiotensina II (Ang II) (Morawietz *et al*., 2000; Gosgnach *et al*., 2000). Conjuntamente, todos estos sucesos suprimirían la producción de progesterona por las células luteínicas y, por lo tanto, el flujo sanguíneo jugaría un papel fundamental en el inicio de la luteolisis en la especie bovina (Miyamoto *et al*., 2005).

Finalmente, el agudo incremento de la irrigación va seguido de una disminución de esta un día más tarde, a la vez que desciende la concentración de progesterona (Shirasuna *et al*., 2004b); a continuación, se aprecia una importante reducción en el tamaño de esta estructura durante los 2-3 días posteriores (Herzog *et al*., 2010). En consecuencia, se podría llegar a la conclusión de que el cada vez menor flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo podría tener una mayor influencia sobre la concentración de progesterona que la regresión de tejido luteínico (Lüttgenau y Bollwein, 2014).

Útero

Al igual que ocurre en el ovario, el flujo en la arteria uterina a lo largo del ciclo estral presenta un patrón repetitivo, caracterizado por la relación negativa existente entre 2 parámetros: la velocidad y la resistencia. De esta manera, mientras que los valores máximos de resistencia se alcanzan los días 0 (ovulación) y 1 del ciclo, los mínimos son observados durante los días –3, –2 y –1. En el caso de la velocidad, sucede lo mismo, pero de modo inverso, es decir, este parámetro llega a su máximo valor entre los días –3 y –1, siendo mínimo el día de la ovulación (Bollwein *et al*., 2000). A su vez, estos autores encontraron una asociación entre ambos datos y la concentración de estrógenos, y también entre la velocidad y la concentración de progesterona.

Estos cambios habían sido observados previamente en ovejas y cerdas (Ford, 1982). En estas especies, el flujo uterino se mantenía

bajo durante el diestro, en un ambiente con elevada concentración de progesterona; posteriormente, se incrementaba a la vez que lo hacían los niveles de estrógenos hasta el momento del estro. Consecuentemente, el día del ciclo estral en el que se encuentre el animal influye notablemente en la variabilidad de la resistencia y la velocidad de la vascularización (Bollwein *et al*., 2000).

Del mismo modo, el flujo sanguíneo también experimenta variaciones a lo largo de la gestación. Al igual que durante el ciclo estral, los parámetros de resistencia y velocidad se relacionan negativamente; así, a medida que avanza la preñez, la velocidad de la sangre en las arterias uterinas es cada vez mayor, mientras que la resistencia a su paso va disminuyendo. Igualmente, la resistencia es inversamente proporcional al diámetro de la arteria uterina y al volumen circulante. A su vez, todos estos valores son dependientes del mes de gestación en el que se encuentre el animal y de la localización de la arteria uterina, es decir, ipsilateral o contralateral al cuerno gestante (Bollwein *et al*., 2002).

A medida que avanza la preñez, la resistencia al paso de sangre en la arteria uterina va disminuyendo hasta la semana 36, a partir de la cual se incrementa ligeramente hasta el parto (Panarace *et al*., 2006). Resultados similares fueron observados por Bollwein *et al*. (2002), quienes además obtuvieron valores notablemente inferiores para este parámetro en la arteria uterina ipsilateral.

En resumen, tanto la velocidad del flujo como el diámetro de la arteria uterina se incrementan durante toda la gestación; como consecuencia, el volumen se intensifica exponencialmente, siendo más destacado en la arteria ipsilateral. No obstante, mientras que la velocidad sufre un rápido incremento los dos últimos tercios de preñez, el aumento del diámetro es más o menos constante (Bollwein *et al*., 2002; Herzog *et al*., 2011). Paradójicamente, el fuerte incremento de vascularización que tiene lugar al final de la gestación, adecuado a las crecientes necesidades del feto, se atribuye más al mayor diámetro del vaso que a la velocidad (Bollwein *et al*., 2002). Al emplear la fórmula VOL = TAMV × π × (D × 0,1 /2)^2 × 60 (VOL = volumen sanguíneo, TAMV = velocidad máxima media del flujo sanguíneo en la arteria uterina y D = diámetro de la arteria uterina) para calcular el volumen sanguíneo, podemos ver que un pequeño incremento en el diámetro de un vaso grande hace variar el volumen considerablemente.

Por otro lado, Silva y Ginther (2010) llevaron a cabo un estudio en el cual compararon, mediante el empleo de Doppler color, la vascularización del útero en la parte media de cada cuerno, entre novillas gestantes y vacías, durante los días 0-18 post-inseminación. Al analizar los resultados, observaron que del día 14 al 18 post-ovulación se incrementaba la vascularización en ambos cuernos en hembras no gestantes; a su vez, este hecho se relacionaba en el tiempo con una disminución y una elevación de la concentración de progesterona y estrógenos en plasma, respectivamente. Sin embargo, solo a partir del día 18 era evidente un aumento del flujo sanguíneo en el cuerno ipsilateral de animales gestantes.

Otro factor que caracteriza el normal transcurso de la gestación es la desaparición de la señal de Notch (Figura 3), una escotadura en la onda obtenida mediante Doppler espectral que refleja el cierre de la válvula aórtica (Panarace *et al*., 2006). Esta marca está presente mientras la vascularización de la placenta no está totalmente desarrollada y los cambios estructurales de la arteria uterina no se han completado. En el momento en que estas modificaciones tienen lugar, la resistencia uterina al paso del flujo sanguíneo disminuye y la señal de Notch se va atenuando hasta desaparecer entre las 22 y 26 semanas de preñez en las arterias ipsilateral y contralateral, respectivamente (Panarace *et al*.,

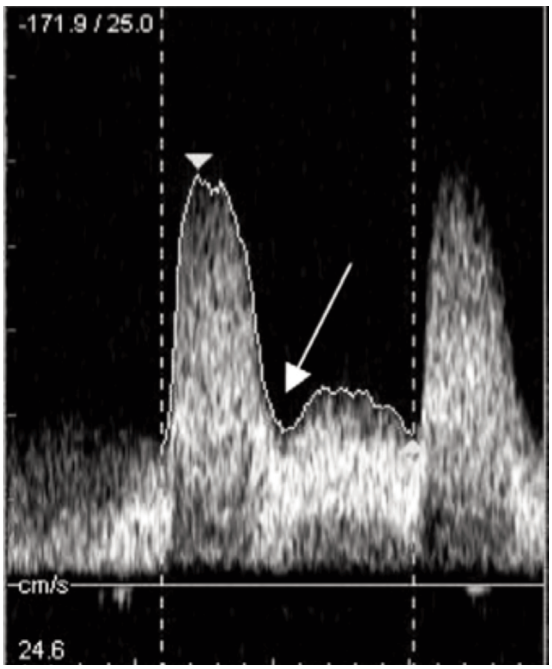


Figura 3. Imagen de un examen ecográfico con Doppler espectral mostrando la señal de Notch (flecha) en la arteria uterina de una vaca a los 31 días de preñez. Modificado de Panarace *et al*. (2006).
Figure 3. Picture of an ultranosographic examination with spectral Doppler showing the Notch signal (arrow) in the uterine artery of a cow at 31 days of pregnancy. Modified from Panarace et al. *(2006).*

2006). En humanos, unos valores de resistencia elevados y la persistencia de la señal de Notch son indicativos de un aporte sanguíneo anormal al feto (Harrington *et al.,* 1996). Consecuentemente, este signo podría ser empleado como un indicador de desarrollo adecuado de la placenta.

Por último, cabe destacar que, durante los primeros cuatro días del período post-parto, el volumen de flujo sanguíneo en las arterias uterinas varía drásticamente (Heppelmann *et al*., 2013a). De esta manera, su valor se ve reducido casi en un 90 % en ambos vasos. Además, otros parámetros que también se modifican durante esta etapa son el diámetro, la velocidad y la resistencia. El primero de ellos disminuye un 37 % y 47 % en las arterias ipsilateral y contralateral, respectivamente. En cuanto a la velocidad, se rebaja a la mitad ya el primer día, seguido de un descenso más discreto a lo largo de los tres días posteriores. Por último, parámetros indicativos de la resistencia al paso del flujo sanguíneo, como el índice de pulsatilidad, se ven incrementados notablemente, llegando a superar el doble de su medida inicial. De este modo, existe una correlación entre las distintas variables que caracterizan el flujo sanguíneo: tanto el diámetro como la velocidad y el volumen están relacionados de manera positiva entre sí, mientas que la resistencia mantiene una correlación negativa.

Aplicaciones del modo Doppler

A lo largo de los últimos 20 años, la ecografía en modo Doppler se ha convertido en una herramienta de gran utilidad en el ámbito de la reproducción bovina, demostrando ser eficaz y apta para sustituir otros métodos invasivos de evaluación del flujo sanguíneo (Ford *et al*., 1979).

A continuación, se expondrán una serie de situaciones en las que la aplicación de esta técnica no solo supondría un mayor aporte de información, sino también una ventaja a la hora de anticiparse a aquellos sucesos que, en caso de acontecer, podrían tener un impacto negativo en la salud del animal y, consecuentemente, en su rendimiento.

Predecir la ovulación y estimar la fertilidad

Como se ha explicado en el apartado correspondiente, mediante el empleo de la ecografía transrectal en modo Doppler se ha descubierto que, en el ganado vacuno, existe una notable desigualdad en la vascularización de la pared (Figura 4) de los folículos preovulatorios en comparación con aquellos folículos que no llegarán a ovular (Acosta *et al*., 2003).

De igual modo, es importante destacar que las diferencias observadas entre el período anterior y posterior al pico de LH confirmarían la hipótesis de que el estradiol y la LH están implicadas en el incremento de flujo sanguíneo hacia el folículo dominante (Acosta *et al*., 2003). Así mismo, Ginther (2007) señala que este incremento de señal Doppler en la pared del folículo es debido a un activo proceso de neovascularización. Complementariamente, Satheshkumar (2018), tras la realización de un estudio con Doppler espectral, observó una menor resistencia al paso del riego sanguíneo el día del estro, la cual indica vasodilatación e incremento del flujo al folículo para asegurar un adecuado aporte de factores nutricionales, endocrinos y de crecimiento para favorecer la ovulación.

Teniendo en cuenta esta información, el grado de vascularización de la pared, la velocidad del flujo sanguíneo y la resistencia a su paso podrían convertirse en indicadores fiables para identificar folículos sanos, así como para predecir el momento de la ovulación, pudiendo retrasarse esta última en el caso de encontrar desviaciones en dichos valores.

En relación con lo anterior, el incremento del flujo sanguíneo en el folículo preovulatorio también se ha asociado con la probabilidad de que el animal quede gestante. De esta manera, Hunter (2003) observó una mayor señal Doppler en novillas que resultaron gestantes, lo que podría ser debido a un incremento en el número y diámetro de las arteriolas encargadas de irrigar el folículo. Esta señal más intensa concuerda además con los menores índices de resistencia obtenidos por Siddiqui *et al*. (2008), mediante el examen de un grupo de hembras preñadas con Doppler color y espectral.

Evaluación de la funcionalidad del cuerpo lúteo

Otra importante aplicación del modo Doppler es que permite la visualización del flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo, posibilitando la evaluación de su función mediante la utilización de una técnica no invasiva (Acosta *et al*., 2002). Se ha empleado ya en diferentes especies como en vacas (Herzog *et al*., 2010), yeguas (Brogan *et al*., 2016), ovejas (Figueira *et al*., 2015) y búfalas (Lasheen *et al*., 2018).

De esta manera, en el ganado bovino se ha observado una buena correlación (mayor que con el área) entre la vascularización de esta estructura y la concentración de progesterona a lo largo del ciclo estral; este hecho cobra sentido teniendo en cuenta que tanto el aporte de precursores de esteroides como la liberación de la progesterona a la circulación dependen de una adecuada irrigación (Acosta *et al*., 2002).

Por otra parte, tal y como se ha dicho anteriormente, el cuerpo lúteo no siempre es sensible a la acción de la PGF2α. Así, si se administra una dosis durante los 5 días post-ovulación, esta no tendrá efecto y tanto la concentración de progesterona en plasma como el tamaño luteal seguirán aumentando (Acosta *et al*., 2002).

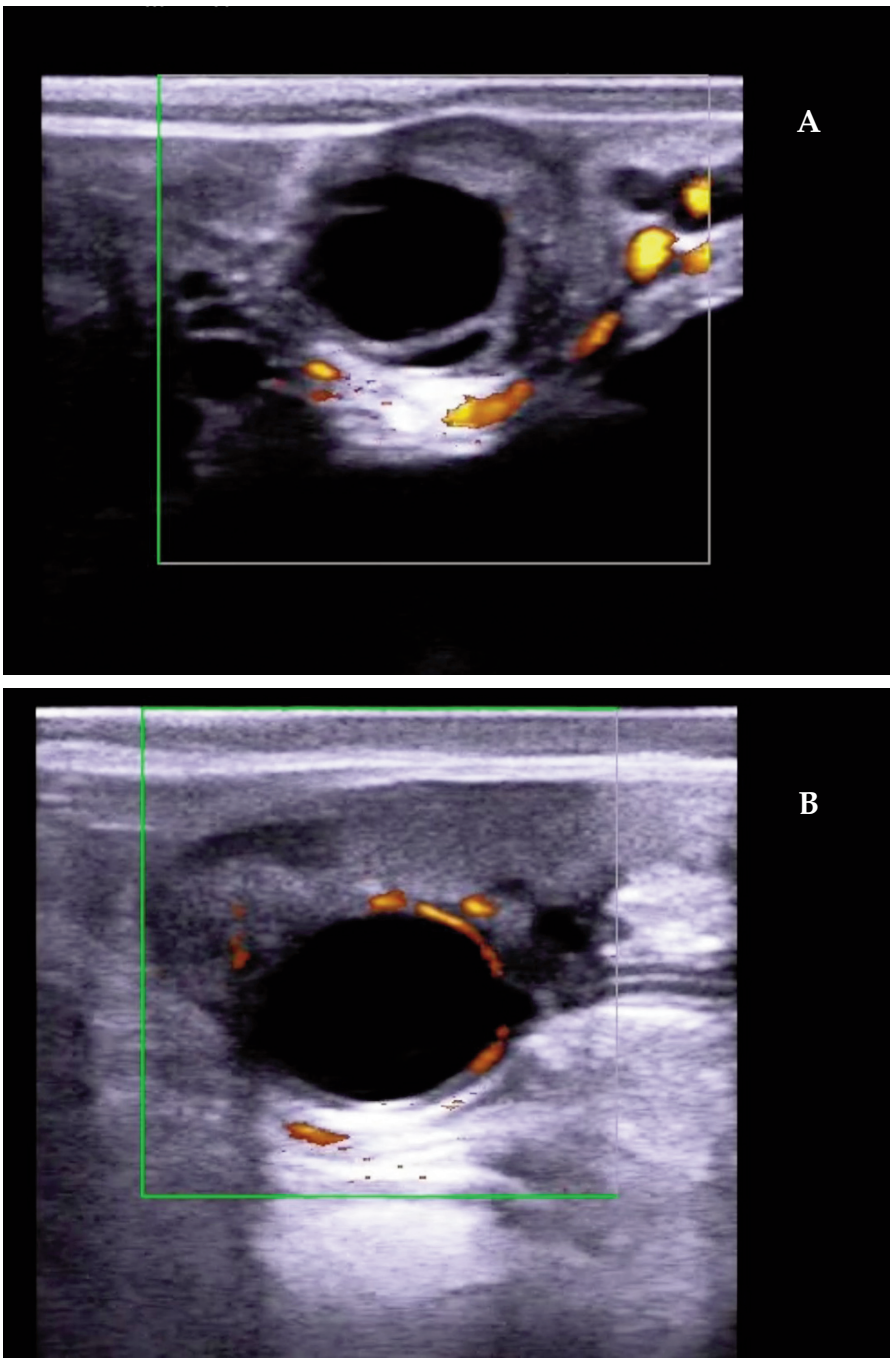


Figura 4. Imagen de un examen ecográfico con Doppler potencia de un folículo atrésico (A) y un folículo preovulatorio (B), en la que se puede observar la diferencia en el flujo sanguíneo.
Figure 4. Picture of an ultrasonographic examination with power Doppler of an atretic follicle (A) and a preovulatory follicle (B), in which the difference in blood flow can be observed.

A su vez, tampoco sería necesario el empleo de esta hormona a final del ciclo (días 17-19), ya que el cuerpo lúteo se encontrará bajo la influencia de la PGF2α secretada por el endometrio (Miyamoto y Shirasuna, 2009). Por este motivo, la aplicación práctica de la ecografía Doppler como herramienta complementaria a la hora de establecer protocolos de inducción/sincronización de celo resulta evidente, puesto que permitiría seleccionar sólo aquellos animales que presenten cuerpos lúteos capaces de responder al tratamiento con prostaglandinas, es decir, que se encuentren en mitad de ciclo y tengan un adecuado flujo vascular (Lüttgenau y Bollwein, 2014).

Realizar un diagnóstico de gestación precoz

Cuerpo lúteo

Puesto que el flujo sanguíneo en el cuerpo lúteo permite evaluar su funcionalidad, se han llevado a cabo diferentes estudios con el objetivo de intentar establecer un diagnóstico de gestación más precoz (días 19-21) empleando la ecografía en modo Doppler (Matsui y Miyamoto, 2009). Scully *et al*. (2015) descubrieron que las diferencias entre los animales gestantes, no gestantes y cíclicos respecto a la irrigación y tamaño de esta estructura eran aparentes el día 18 después de la inseminación artificial; además, estas variables estaban positivamente relacionadas entre sí y con la concentración de progesterona. No obstante, la ecotextura que podríamos apreciar con un examen ecográfico tradicional no difería entre los distintos tipos de animales. En este estudio, el flujo sanguíneo era mayor en vacas preñadas que en no preñadas, sin existir diferencias significativas entre preñadas y cíclicas.

Por otro lado, Siqueira *et al*. (2019) demostraron que el flujo sanguíneo comienza a diferenciarse a partir del día 16 post-inseminación, 24-48 horas antes que cualquier otra variable morfológica o funcional; así, la vascularización comienza a ser cada vez menor del día 16 en adelante en animales que no quedan gestantes. Consecuentemente, el modo Doppler podría emplearse en el control reproductivo del ganado vacuno para mejorar la productividad de los rebaños mediante la identificación temprana de animales no gestantes, ya que sería posible comenzar antes un protocolo de resincronización y, de esta manera, reducir el intervalo entre partos (Siqueira *et al*., 2019).

En relación con el diagnóstico precoz de no gestación debemos mencionar la identificación de animales que han sufrido mortalidad embrionaria temprana, en los cuales se observa un intervalo interestros >25 días (Herzog *et al*., 2011). Estos autores observaron que el flujo sanguíneo luteal de estos animales era similar al de los individuos gestantes, hasta pasados 13 días desde el celo. Sin embargo, mientras que en el grupo de vacas preñadas la irrigación continuaba aumentando, en aquellas que habían sufrido mortalidad embrionaria se detenía. Esta característica permitiría identificar precozmente a estos animales, que de otra forma serían difícilmente reconocibles, ya que no hallaron diferencias en los niveles de progesterona.

En resumen, varios autores (Utt *et al*., 2009; Siqueira *et al*. 2019) están de acuerdo en que el flujo sanguíneo del cuerpo lúteo podría ser un buen parámetro para la identificación de animales no gestantes, puesto que se observa un descenso del mismo asociado a la luteolisis. Lamentablemente, este indicador por sí solo no debería ser empleado a nivel práctico debido a su insuficiente sensibilidad y especificidad; además, las destacables variaciones entre animales dificultan la instauración de un punto de corte (Herzog *et al*., 2011; Lüttgenau y Bollwein, 2014). Una posible solución sería la propuesta por Scully *et al*. (2014), quienes, al combinar la evaluación del flujo vascular del cuerpo lúteo, su tamaño y la ecotextura del útero el día 18 post-

inseminación, obtuvieron sensibilidades y especificidades superiores al 70 %; más aún, al realizar el mismo examen tres días después, estos valores superaron el 97,5 %.

Arterias y paredes uterinas

Como se ha señalado previamente, las arterias uterinas también sufren una serie de variaciones en cuanto a las características de su flujo sanguíneo, tanto a lo largo del ciclo estral como de la gestación. Consecuentemente, conseguir comprender las diferencias existentes entre ambas situaciones y lograr identificarlas durante el examen ecográfico en modo Doppler supone un punto clave para diferenciar animales gestantes de aquellos que no lo están.

De esta manera, las hembras no gestantes y cíclicas presentan una velocidad de flujo constantemente baja y una elevada resistencia durante la fase luteal. A medida que se aproxima el día del estro, la velocidad va en aumento, alcanzando su máximo valor antes de la ovulación, mientras que los niveles de resistencia se ven disminuidos (Bollwein *et al*., 2000).

Por el contrario, en individuos gestantes, se observa un constante incremento en la velocidad y una disminución de la resistencia durante la segunda semana de preñez. Posteriormente, Honnens *et al*. (2008a) observaron una disminución de la velocidad y un aumento de la resistencia (alcanzando su mínimo y máximo, respectivamente, el día 18); estos cambios son debidos probablemente a una vasoconstricción e indican una irrigación uterina reducida durante la fase de reconocimiento maternal de la gestación, considerado el momento más crítico de toda la preñez, que tiene lugar sobre los días 15-17 (Binelli *et al*., 2001). Estos cambios van seguidos nuevamente por un incremento de la velocidad y una disminución de la resistencia aproximadamente los días 20-22, en los que tiene lugar la adhesión entre el blastocisto y el epitelio uterino (Guillomot y Guay, 1982). Este suceso puede ser debido a los procesos de angiogénesis que empiezan durante la fase de implantación, habiéndose ya observado esta asociación en otras especies (Chavatte-Palmer y Guillomot, 2007). A su vez, Honnens *et al*. (2008a) no encontraron una relación entre la concentración de estrógenos y progesterona y el flujo sanguíneo de la arteria uterina en hembras gestantes, por lo que su regulación en estos animales parece depender de factores de regulación diferentes y/o adicionales, bien a nivel sistémico o local.

Un aspecto a tener en cuenta es la influencia que el embrión puede ejercer en la irrigación uterina. En el estudio llevado a cabo por Silva y Ginther (2010), comprobaron si en el grupo de animales preñados existían o no diferencias entre el flujo sanguíneo del cuerno que albergaba el embrión/feto y el que no durante los días 0-60.

Concluyeron que el grado de vascularización estaba relacionado con la expansión del alantocorion, y los resultados indicaban que el incremento de la perfusión uterina dependía del contacto local y directo entre el embrión y sus membranas con el endometrio (Silva y Ginther, 2010).

Para terminar, a pesar de que no existen evidencias suficientes para considerar la evaluación del flujo sanguíneo en la arteria uterina con ecografía Doppler un método fiable para el diagnóstico de gestación, varios autores han encontrado ciertas diferencias en este parámetro entre hembras gestantes y vacías. Por este motivo, tanto la presencia del embrión como la de sus membranas han sido propuestas como posibles factores reguladores de la irrigación del útero al inicio de la preñez.

Superovulación y transferencia embrionaria

Es importante destacar que, en medicina veterinaria, el ovario recibe aporte sanguíneo a partir de dos vasos diferentes: la arteria ovárica y la rama uterina de la arteria ovárica (Ford y Chenault, 1981). Por este motivo, el hecho de medir el flujo vascular en una localización proximal a la unión de la rama uterina ocasionaría una infravaloración de la irrigación ovárica total.

Alternativamente, se han estudiado las variaciones en el flujo sanguíneo de la arteria uterina en vacas en régimen de superovulación y su correlación con la respuesta ovárica y los niveles de hormonas esteroideas (Honnens *et al*., 2008b). Además, también intentaron probar si la ecografía transrectal en modo Doppler resultaba útil a la hora de predecir el número de embriones que podrían ser recolectados. Los resultados obtenidos mostraron un notable incremento del flujo uterino, debido al aumento del volumen y a los menores índices de resistencia. Este hecho fue atribuido al desarrollo folicular y a los cada vez mayores niveles de estradiol (Strigini *et al*., 1995).

Por otra parte, existe cierta controversia entre investigadores sobre si el mayor flujo uterino es debido a la estimulación física por parte del embrión (Bollwein *et al*., 2003; Silva *et al*., 2005) o bien a la producción de sustancias vasoactivas por el embrión y/o el endometrio (Ford, 1982; Ford *et al*., 1979). Es importante tener en cuenta que una notable diferencia entre el estudio de Honnens *et al*. (2008b) y los arriba mencionados es que, en estos últimos, los animales examinados no habían sido sometidos a un protocolo de superovulación. Así, estos autores sólo observaron un incremento en el flujo sanguíneo a partir de la segunda semana de gestación, mientas que Honnens *et al*. (2008b) advirtieron que ya en el día 7 existía una elevada irrigación. Este hecho podría ser debido a la presencia de múltiples embriones en el interior del útero y a la mayor producción de sustancias vasoactivas en comparación con gestaciones individuales (Honnens *et al*., 2008b). A pesar de los hallazgos destacados, no se ha podido establecer una relación sólida entre el flujo de la arteria uterina y el número de embriones transferibles; por este motivo, la aplicación de manera única de la ultrasonografía Doppler en transferencia embrionaria para predecir el número de embriones potencialmente transferibles tras un protocolo de superovulación no resulta fiable.

Sin embargo, no podemos olvidar que la determinación temprana de animales no gestantes incrementa la eficiencia reproductiva en programas de transferencia embrionaria puesto que, cuanto antes se identifiquen, antes podrán ser resincronizados para el siguiente servicio.

Posteriormente, con el objetivo de intentar predecir el éxito de un protocolo de superovulación, Honnens *et al*. (2009) llevaron a cabo un estudio en el cual examinaron mediante ultrasonografía Doppler la arteria ovárica para intentar establecer una relación entre el flujo sanguíneo del ovario y su respuesta a tratamientos hormonales. Sin embargo, los resultados obtenidos mostraron que esta técnica no era capaz de proporcionar la suficiente información; consecuentemente, estos autores determinaron que la valoración del flujo ovárico total, medido distalmente a las ramificaciones, o bien el flujo folicular, medido en las paredes de los folículos, podría proporcionar una mejor estimación del estatus funcional de estos últimos durante el tratamiento con gonadotropinas.

Diagnóstico de patologías uterinas post-parto

Las patologías uterinas afectan a un gran número de animales tras el parto y conllevan una alteración tanto de la función ovárica

como del propio útero; consecuentemente, aparecen una serie de pérdidas económicas derivadas de la infertilidad causada por estas enfermedades, del incremento de la tasa de eliminación, de la menor producción de leche y de los costes del tratamiento (Sheldon *et al*., 2009).

El flujo sanguíneo tiene un papel fundamental en el proceso de la inflamación, siendo la vasodilatación la característica más importante de todos los procesos inflamatorios (Foster, 2007); este hecho, junto al conocimiento de que, efectivamente, el flujo sanguíneo experimenta unas variaciones notables durante el post-parto, hace evidente que las distintas alteraciones que puedan aparecer en este período van a ocasionar la obtención de valores de parámetros Doppler distintos a los que se observarían en un post-parto fisiológico.

Las diferencias más destacables entre animales con patologías puerperales y sanos, en cuanto al tamaño uterino y a las variables del flujo sanguíneo, se producen al comienzo de dicha etapa. Transcurridos 8 días desde el parto, se aprecia un incremento en el flujo de las arterias uterinas (a la par que una menor resistencia) en los individuos enfermos. Una posible hipótesis para explicar este incremento en vacas con patologías post-parto es el efecto que la mayor concentración de Prostaglandina E2 (PGE2) observada podría tener sobre el mismo (Mateus *et al*., 2003). Además de ser inmunosupresora, esta hormona puede actuar como un potente vasodilatador y miorrelajante (Still y Greiss, 1978).

Por otro lado, Debertolis *et al*. (2016) investigaron cómo variaba el flujo sanguíneo en las arterias uterinas de vacas con endometritis inducida (infusión intrauterina con 720 mg de policresuleno); además, estudiaron las consecuencias que dicha inflamación podría tener sobre el siguiente ciclo estral. Los resultados obtenidos mostraron un incremento en la velocidad del flujo una hora después de la infusión, manteniéndose en niveles elevados los 4 días posteriores. Por el contrario, los valores indicativos de la resistencia variaron de manera inversa, disminuyendo rápidamente después de la infusión y manteniéndose bajos hasta el comienzo del siguiente ciclo. Estos cambios reflejan un evidente aumento de la irrigación durante los cuatro primeros días tras la inducción de la inflamación, volviendo a niveles normales al inicio del siguiente ciclo. Además, valoraron las alteraciones en los perfiles hormonales, obteniendo un descenso en la concentración media de progesterona y una elevación de los niveles de estrógenos; no obstante, estos hallazgos eran mucho más moderados en comparación con las modificaciones del flujo sanguíneo.

Por último, mientras que en individuos sanos el flujo uterino sigue modificándose una vez alcanzada la completa involución uterina, en hembras con afecciones post-parto estos cambios no tienen lugar, permaneciendo la perfusión invariable durante los días 45 y 65. Este hallazgo sugiere que el proceso inflamatorio afecta de manera más importante al sistema vascular que al tejido conectivo uterino, lo que conlleva una involución vascular más atrasada respecto a la involución tisular (Heppelmann *et al*., 2013b).

Diagnóstico de quistes ováricos

Una de las patologías ováricas más frecuentes en ganado vacuno son los quistes ováricos. Estas formaciones pueden ser de dos tipos: quistes foliculares, caracterizados por presentar una pared delgada y niveles bajos o basales de progesterona; o bien quistes luteinizados, cuyas paredes presentan mayor grosor y los niveles de progesterona se encuentran significativamente elevados (Douthwaite y Dobson, 2000).

Existen diferentes opciones que nos permiten diagnosticar el tipo de quiste que presenta el animal. Aunque sería posible, mediante pal-

pación transrectal resulta difícil distinguirlos (Farin *et al*., 1992); por otro lado, la determinación de los niveles de progesterona es un método fiable, mas requiere tiempo y su coste es elevado. Como alternativa a estas dos técnicas está la ecografía en blanco y negro, que permite observar la pared y medir su grosor, el cual será <3 mm en quistes foliculares y >3 mm en quistes luteinizados (Matsui y Miyamoto, 2009). No obstante, la ecografía en modo Doppler color ofrece una mayor seguridad a la hora de realizar la medición, puesto que la observación del flujo sanguíneo facilita la delimitación de la pared (Matsui y Miyamoto, 2009).

En la práctica, el hecho de que el modo Doppler permita distinguir de manera más fiable el tipo de quiste que presenta el animal resulta útil a la hora de instaurar un tratamiento, puesto que este difiere en función de la clase de quiste a eliminar. En el caso de los quistes foliculares, el tratamiento de elección se realiza con análogos de la Hormona liberadora de Gonadotropina (GnRH), con el objetivo de inducir su luteinización. Por el contrario, la PGF2α y sus análogos se emplean para tratar quistes luteinizados, ocasionando la regresión del tejido luteal. Sin embargo, actualmente se emplea con más frecuencia el protocolo OvSynch para el tratamiento de esta patología; al combinar las dos hormonas citadas anteriormente, la identificación del tipo de quiste no es imprescindible. No obstante, la tasa de preñez posterior sigue siendo baja (Jeengar *et al*., 2014).

Conclusiones

La ecografía en modo Doppler es una técnica que posee una gran ventaja frente a la ultrasonografía convencional en modo B, y es que permite el estudio de la irrigación de los diferentes órganos y estructuras. Dentro del ámbito de la veterinaria, gracias al descenso tanto en el coste como en el tamaño de los equipos de ultrasonidos, en los últimos años ha sido posible implantar este sistema a nivel de campo.

Mediante el empleo de esta técnica, en reproducción bovina se ha podido profundizar en el conocimiento de los cambios hemodinámicos que tienen lugar a lo largo del ciclo estral, de la gestación y también durante el post-parto. Esta información ha resultado ser de gran utilidad y se ha aprovechado para comprobar su fiabilidad a la hora de realizar determinados procedimientos que ayudarían a mejorar el rendimiento de las explotaciones.

Entre sus aplicaciones cabe destacar que ofrece la posibilidad de predecir el momento de la ovulación y estimar la fertilidad del animal. Además, permite evaluar la funcionalidad del cuerpo lúteo, pudiendo ser de utilidad a la hora de realizar un diagnóstico de no gestación. También podría emplearse para predecir el éxito de los protocolos de superovulación y el número de embriones recolectados. Por último, esta técnica podría servir de ayuda para detectar precozmente patologías uterinas post-parto y diferenciar los distintos tipos de quistes ováricos.

En definitiva, la ecografía en modo Doppler, en sus distintas versiones, es una técnica relativamente novedosa en lo que respecta a la reproducción bovina y gracias a la cual se ha podido obtener información sobre el estado del tracto genital sin el empleo de métodos invasivos. A pesar de que de manera individual no ha demostrado ser lo suficientemente fiable para la realización de ciertos procedimientos, sí ha ofrecido resultados interesantes para intentar establecer una relación con otros parámetros y, de esta forma, continuar la investigación en este campo.

Agradecimientos

Uxía Yáñez Ramil cuenta con un contrato predoctoral (Ref. 2020/122) financiado por la Xunta de Galicia.

Referencias bibliográficas

Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A (2002). Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2α injection in the cow. Biology of Reproduction 66: 651-658. https://doi.org/10.1095/biolreprod66.3.651.

Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A (2003). Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. Reproduction 125: 759-767. https://doi.org/10.1530/rep.0.1250759.

Acosta TJ (2007). Studies of folicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. Journal of Reproduction and Development 53: 39-44. https://doi.org/10.1262/jrd.18153.

Adams GP (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. Journal of Reproduction and Fertility Supplement 54: 17-32. https://doi.org/10.1530/biosciprocs.4.002.

Beal WE, Perry RC, Corah LR (1992). The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. Journal of Animal Science 70: 924-929. https://doi.org/10.2527/1992.703924x.

Binelli M, Thatcher WW, Mattos R, Baruselli PS (2001). Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. Theriogenology 56: 1451-1463. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00646-X.

Bollwein H, Meyer HHD, Maierl J, Weber F, Baumgartner U, Stolla R (2000). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. Theriogenology 53: 1541-1552. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00296-X.

Bollwein H, Baumgartner U, Stolla R (2002). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. Theriogenology 57: 2063-2061. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00706-9.

Bollwein H, Mayer R, Stolla R (2003). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. Theriogenology 60: 597-605. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00080-3.

Brännström M, Zackrisson U, Hagström HG, Josefsson B, Hellberg P, Granberg S, Collins WP, Bourne T (1998). Preovulatory changes of blood flow in different regions of the human follicle. Fertility and Sterility 69: 534-442. https://doi.org/10.1016/S0015-0282(97)00544-X.

Brogan PT, Henning H, Stout TAE, de Ruijter-Villani M (2016). Relationship between colour flow Doppler sonographic assessment of corpus luteum activity and progesterone concentrations in mares after embryo transfer. Animal Reproduction Science 166: 22-27. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.12.010.

Chavatte-Palmer P, Guillomot M (2007). Comparative implantation and placentation. Gynecologic and Obstetric Investigation 64: 166-174. https://doi.org/10.1159/000101742.

Debertolis L, Mari G, Merlo B, Merbach S, Schoon HA, Iacono E, Bollwein H (2016). Effects of induced endometritis on uterine blood flow in cows as evaluated by transrectal Doppler sonography. Journal of Veterinary Science 17: 189-197. https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.2.189.

Douthwaite R, Dobson H (2000). Comparison of different methods of diagnosis of cystic ovarian disease in cattle and an assessment of its treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. Veterinary Record 147: 355-359. http://dx.doi.org/10.1136/vr.147.13.355.

Farin PW, Youngquist RS, Parfet JR, Garverick HA (1992). Diagnosis of luteal and folicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association 200: 1085-1089.

Figueira LM, Fonseca JF, Arashiro E, Souza-Fabjan J, Ribeiro A, Oba E, Viana J, Brandão FZ (2015). Colour Doppler ultrasonography as a tool to assess luteal function in Santa Inês ewes. Reproduction in Domestic Animals 50: 643-650. https://doi.org/10.1111/rda.12543.

Filteau V, DesCôteaux L (1998). Predictive values of early pregnancy diagnosis by ultrasonography in dairy cattle. American Association of Bovine Practicioners Proceedings of the Thirty-First Annual Conference, 24-26 septiembre, Spokane, WA, USA, pp. 170-171. https://doi.org/10.21423/aabppro19985712.

Ford SP, Chenault JR, Echternkamp SE (1979). Uterine blood flow of cows during the oestrous cycle and early pregnancy: effect of the conceptus on the uterine blood supply. Journal of Reproduction and Fertility 56: 53-62. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0560053.

Ford SP, Chenault JR (1981). Blood flow to the corpus luteum-bearing ovary and ipsilateral uterine horn of cows during the oestrous cycle and early pregnancy. Journal of Reproduction and Fertility 62: 555-562. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0620555

Ford SP (1982) Control of uterine and ovarian blood flow throughout the estrous cycle and pregnancy of ewes, sows and cows. Journal of Animal Science 2: 32-42. https://doi.org/10.2527/1982.55Supplement_II32x

Foster RA (2007). Female reproductive system. En: Pathologic Basis of Veterinary Disease (Eds. McGavin MD y Zachary JF), pp. 1263-1316. Mosby Elsevier.

Ginther OJ (2007). Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography, Book 4. Equiservices Publising, USA. 258 pp.

Ginther OJ, Dangudubiyyam SV, Domingues RR (2019). Follicle blood flow and FSH concentration associated with variations in characteristics of follicle selection in heifers. Theriogenology 125: 93-101. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.019.

Gosgnach W, Challah M, Coulet F, Michel JB, Battle T (2000). Shear stress induces angiotensin converting enzyme expresión in cultured smooth muscle cells: posible involvement of bFGF. Cardiovascular Research 45: 486-492. https://doi.org/10.1016/S0008-6363(99)00269-2.

Guillomot M, Guay P (1982). Ultrastructural features of the cell surfaces of uterine and trophoblastic epithelia during embryo attachment in the cow. The Anatomical Record 204: 315-322. https://doi.org/10.1002/ar.1092040404.

Harrington K, Cooper D, Lees C, Hecher K, Campbell S (1996). Doppler ultrasound of the uterine arteries: the importance of bilateral notching in the prediction of pre-eclampsia, placental abruption or delivery of a small-for-gestational-age baby. Ultrasound in Obstetrics and Gynecology 7: 182-188. https://doi.org/10.1046/j.1469-0705.1996.07030182.x.

Heppelmann M, Krüger L, Leidl S, Bollwein H (2013a). Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in Simmenthal heifers. Journal of Veterinary Science 14: 323-327. https://doi.org/10.4142/jvs.2013.14.3.323.

Heppelmann M, Weinert M, Brömmling A, Piechotta M, Hoedemaker M, Bollwein H (2013b). The effect of puerperal uterine disease on uterine involution in cows assessed by Doppler sonography on the uterine arteries. Animal Reproduction Science 143: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.003.

Herzog K, Bollwein H (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. Reproduction of Domestic Animals 42: 51-58. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.00903.x.

Herzog K, Brockhan-Lüdemann M, Kaske M, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H (2010). Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. Theriogenology 73: 691-697. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.016.

Herzog K, Voss C, Kastelic JP, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H (2011). Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows. Theriogenology 75: 549-554. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.024.

Honnens A, Voss C, Herzog K, Niemann H, Rath D, Bollwein H (2008a). Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. Theriogenology 70: 1048-1056. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.06.022.

Honnens A, Niemann H, Paul V, Meyer HHD, Bollwein H (2008b). Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle: Uterine blood flow in superovulated cattle. Theriogenology 70: 859-867. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.05.054.

Honnens A, Niemann H, Herzog K, Paul V, Meyer HHD, Bollwein H (2009). Relationships between ovarian blood flow and ovarian response to eCG-treatment of dairy cows. Animal Reproduction Science 113: 1-10. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.05.077

Hunter RHF (2003). Physiology of the graafian follicle and ovulation. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 418 pp.

Jeengar K, Chaudhary V, Kumar A, Raiya S, Gaur M, Purohit GN (2014). Ovarian cysts in dairy cows: old and new concepts for definition, diagnosis and therapy. Animal Reproduction 11: 63-73.

Jiang JY, Macchiarelli G, Tsang BK, Sato E (2003). Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. Reproduction 125: 211-223. https://doi.org/10.1530/rep.0.1250211.

Lasheen ME, Badr HM, Kandiel MMM, Abo El-Maaty AM, Samir H, Farouk M, Eldawy MH (2018). Predicting early pregnancy in Egyptian buffalo cows via measuring uterine and luteal blood flows, and serum and saliva progesterone. Tropical Animal Health and Production 50: 137-142. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1413-6.

Lüttgenau J, Bollwein H (2014). Evaluation of bovine lutealblood flow by using color Doppler ultrasonography. Reproductive Biology 14: 103-109. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2014.03.003.

Mateus L, Lopes da Costa L, Diniz P, Ziecik AJ (2003). Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE2 and PGFM) concentration and ovarian function in dairy cows with puerperal endometritis. Animal Reproduction Science 76: 143-154. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00248-8.

Matsui M, Miyamoto A (2009). Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow. The Veterinary Journal 181: 232-240. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.02.027.

Miyamoto A, Shirasuna K, Wijayagunawardane MPB, Watanabe S, Hayashi M, Yamamoto D, Matsui M, Acosta TJ (2005). Blood flow: a key regulatory component of corpus luteum function in the cow. Domestic Animal Endocrinology 29: 329-339. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.011.

Miyamoto A, Shirasuna K (2009). Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. Animal Reproduction 6: 47-59.

Morawietz H, Talanow R, Szibor M, Rueckschloss U, Schubert A, Bartling B, Darmer D, Holtz J (2000). Regulation of the endothelin system by shear stress in human endotelial cells. The Journal of Physiology 525: 761-770. https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.00761.x.

O'Shea JD, Hay MF, Cran DG (1978). Ultrastructural changes in the theca interna during folicular atresia in sheep. Reproduction 54: 183-187. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0540183.

Panarace M, Garnil C, Marfil M, Jauregui G, Lagioia J, Luther E, Medina M (2006). Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. Theriogenology 66: 2113-2119. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.03.040.

Paolinelli P (2013). Principios físicos e indicaciones clínicas del ultrasonido Doppler. Revista Médica Clínica Las Condes 24: 139-148. https://doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70139-1.

Satheshkumar S (2018). Perifollicular blood flow in the follicle from which ovulation occurs in cows. Animal Reproduction Science 198: 154-159. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.09.014.

Scully S, Butler ST, Kelly AK, Evans ACO, Lonergan P, Crowe MA (2014). Early pregnancy diagnosis on days 18 to 21 postinsemination using high-resolution imaging in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 97: 3542-3557. https://doi.org/10.3168/jds.2013-7518.

Scully S, Evans ACO, Carter F, Duffy P, Lonergan P, Crowe MA (2015). Ultrasound monitoring of blood flow and echotexture of the corpus luteum and uterus during early pregnancy of beef heifers. Theriogenology 83: 449-458. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.10.009.

Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. Biology of Reproduction 81: 1025-1032. https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077370.

Shirasuna K, Asaoka H, Acosta TJ, Wijayagunawardane MPB, Ohtani M, Hayashi M, Matsui M, Miyamoto A (2004b). Real-time relationships in intraluteal release among prostaglandin $F_2\alpha$, endothelin-1, and angiotensin II during spontaneous luteolysis in the cow. Biology of Reproduction 71: 1706-1711. https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.030270.

Shirasuna K, Wijayagunawardane MPB, Watanabe S, Yamamoto D, Matsui M, Ohtani M, Miyamoto A (2004a). A blood flow in the corpus luteum acutely increases together with endothelin-1 mRNA expresión at early stage of regression during spontaneous luteolysis in the cow. Biology of Reproduction 71: 137.

Siddiqui MAR, Almamun M, Ginther OJ (2008). Blood flow in the wall of the preoculatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers. Animal Reproduction Science 113: 287-292. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.07.008.

Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ (2005). Changes in vascular perfusión of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. Biology of Reproduction 72: 755-761. https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036384.

Silva LA, Ginther OJ (2010). Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusión during early pregnancy in heifers. Reproduction 139: 453-463. https://doi.org/10.1530/REP-09-0363.

Siqueira LG, Arashiro EK, Ghetti AM, Souza ED, Feres LF, Pfeifer LF, Fonseca JF, Viana JH (2019). Vascular and morphological features of the corpus luteum 12 to 20 days after timed artificial insemination in dairy cattle. Journal of Dairy Science 102: 1-11. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15853.

Still JG, Greiss FC (1978). The effect of prostaglandins and other vasoactive substances on uterine blood flow and myometrial activity. American Journal of Obstetrics and Gynecology 130: 1-8. https://doi.org/10.1016/0002-9378(78)90430-1.

Strigini FAL, Scida PAM, Parri C, Visconti A, Susini S, Genazzani AR (1995). Modifications in uterine and intraovarian artery impedance in cycles of treatment with exogenous gonadotropins: effects of luteal-phase support. Fertility and Sterility 64: 76-80. https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)57658-4.

Utt MD, Johnson GL, Beal WE (2009). The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. Theriogenology 71: 707-715. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.09.032.

(Aceptado para publicación el 20 de mayo de 2021)

Análisis del impacto multifacético de la componente monetaria en la elección de los aceites de oliva

Manuel Arriaza[1,*], Melania Salazar-Ordóñez[2] y Macario Rodríguez-Entrena[2]

[1] Instituto de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA). Centro Alameda del Obispo, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14080 Córdoba, España
[2] WEARE-Water, Environmental and Agricultural Resources Economics, Universidad de Córdoba, Puerta Nueva s/n, E-14071 Córdoba, España

Resumen

En los hogares españoles aproximadamente dos tercios del aceite consumido es aceite de oliva, con preferencia del aceite de oliva refinado (AOR) sobre el aceite de oliva virgen extra (AOVE). El presente artículo analiza los factores que influyen en la elección de AOVE, el aceite de calidad superior, organoléptica y nutricionalmente, frente al AOR, más allá del diferencial de precio entre ambos productos. A partir de los datos de un panel de consumo con 648 hogares en Andalucía, y mediante un modelo logístico de parámetros aleatorios, los resultados sugieren que la probabilidad de elección del AOVE frente al AOR decrece conforme se incrementa el diferencial de precios entre ambas categorías y cuando el consumidor opta por aceites de marca de distribuidor y los adquiere en establecimientos de gran descuento. Por el contrario, se incrementa esta probabilidad en los hogares de rentas más altas y localizados en provincias productoras de aceite. Finalmente, se detecta que casi dos tercios de la elección del consumidor se deben a heterogeneidad no observada y una alta inercia en el consumo de aceite, esto es, la probabilidad de repetición en la elección es casi un 80 % superior a la probabilidad de cambio.

Palabras clave: Elección de aceite, datos de panel, aceite de oliva virgen extra, aceite de oliva refinado, modelo logístico de parámetros aleatorios.

Analysis of the multifaceted impact of the monetary component in the choice of olive oils

Abstract

In Spanish households, approximately two-thirds of the oil consumption correspond to olive oil, especially refined olive oil (ROO) over extra virgin olive oil (EVOO). This paper aims to analyze the factors determining the choice of EVOO, the organoleptic and nutritionally superior quality category, over the ROO beyond their price gap. Based on the consumption of 648 Andalusian households included in a panel data and a random parameters logit model the results suggest that the probability of EVOO choice over ROO decreases as the price gap increases, the consumer opts for store brands and chooses hard discount stores. Conversely, the odds ratio increases in high-income households and those located in olive oil producer provinces. Finally, it is worth noting that almost two-thirds of the consumer choice is due to the unobserved household heterogeneity and the strong inertia of the olive oil consumption, being 80 % higher the probability of no change.

Keywords: Olive oil choice, panel data, extra virgin olive oil, refined olive oil, random parameters logit model.

* Autor para correspondencia: manuel.arriaza@juntadeandalucia.es

Cita del artículo: Arriaza M, Salazar-Ordóñez M, Rodríguez-Entrena M (2022). Análisis del impacto multifacético de la componente monetaria en la elección de los aceites de oliva. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 101-118. https://doi.org/10.12706/itea.2021.015

Introducción

Atendiendo al aceite consumido en España en 2018 (MAPA, 2019), el consumo de aceite de oliva (incluyendo aceite de oliva refinado, aceite de oliva virgen y aceite de oliva virgen extra) es, de lejos, el de mayor importancia (64,9 % en volumen y 85,6 % en valor), seguido por el aceite de girasol, orujo, maíz y otros aceites (31,6 %; 0,9 %; 0,1 % y 2,5 % en volumen, respectivamente). Si se hace referencia al consumo per cápita del aceite de oliva, el consumo del aceite de oliva virgen y el virgen extra (agregadamente 3,92 l /persona) es prácticamente igual al consumo del aceite de oliva refinado (AOR) (3,83 l/persona), siendo productos con dos procesos de obtención bien diferenciados: los dos primeros son aceites obtenidos exclusivamente por procedimientos mecánicos frente al aceite de oliva refinado, un aceite sometido a tratamiento químico de refinado y mezclado con aceites obtenidos directamente de la aceituna. Cabe apuntar que esta diferenciación no está totalmente clara entre los consumidores (Salazar-Ordóñez *et al.*, 2018). No obstante, en la literatura previa se ha observado una preferencia del consumidor hacia el AOVE cuando deben elegir entre el consumo de varios tipos de aceite (por ejemplo, ver, Bernabéu *et al.*, 2009; Dekhili *et al*., 2011; Mtimet *et al*., 2013).

Además, al tratarse de un producto agroalimentario, existen factores más allá del tipo de aceite que influyen en el consumo, pudiendo ser clasificados como relacionados con la persona o con el entorno (Steenkamp, 1997). Entre los primeros, se observa que existe un limitado nivel de conocimiento sobre los aceites de oliva por parte del consumidor (por ejemplo, ver, Calatrava-Requena y González-Roa, 2003; Matthäus y Spener, 2008; Torres-Ruiz *et al*., 2012), pero una imagen positiva del aceite de oliva en general como la de un producto saludable (Mili, 2006; García-González y Aparicio, 2010; Delgado y Guinard, 2011), viéndose además su intención de compra influida por las actitudes hacia el producto (Yangui *et al*., 2014). En relación con el entorno, además de un factor económico como el precio (Di Vita *et al*., 2013; Erraach *et al*., 2014), la literatura también halla impacto sobre las preferencias del consumidor de características como el país de origen del producto (Krystallis y Ness, 2005; Menapace *et al*., 2011), la presencia de marcas de calidad diferenciada (Sottomayor *et al*., 2010; Menapace *et al.*, 2011) o la marca de productor (Chaniotakis *et al*., 2010).

Al margen de la imagen positiva de los consumidores sobre los aceites de oliva, se hacen patentes no solo los efectos beneficiosos para la salud que tiene el consumo de aceite de oliva virgen extra (AOVE) frente al AOR (Schwingshackl *et al.*, 2019), sino la contribución del AOVE en mayor medida a la sostenibilidad de las zonas rurales (Casini *et al.*, 2016), ya que a su mayor valor añadido se une, en muchos casos, la propia transformación y comercialización en las mismas zonas productoras. A este elemento hay que sumar el desarrollo creciente del oleoturismo, asociado a la producción de AOVEs premium (Millán *et al.*, 2018).

En este contexto, es de utilidad para el sector conocer qué factores influyen en la elección de uno frente al otro, más aun pudiendo ser considerados por los consumidores como dos productos parcialmente sustitutivos en la cocina (Santos *et al.*, 2013), aun cuando, al margen del consumo en crudo donde predomina claramente el uso del AOVE, existen ciertas ventajas del AOVE en algunos usos, por ejemplo, en repostería (Caponio *et al.*, 2012). Así, el presente estudio analiza diferentes factores relacionados directa o indirectamente con el precio y su percepción que pueden influir en la elección del AOVE frente al AOR a partir del consumo de aceites anual de un panel de hogares de Andalucía.

Tras la introducción, el siguiente apartado muestra los materiales y métodos utilizados, incluyendo la descripción del panel de consumidores y el modelo de regresión logística multinivel, continuando con los resultados y discusión de los mismos, y finalizando con las conclusiones derivadas del estudio.

Material y métodos

El panel de consumidores

Existen dos tipos básicos de muestras obtenidas a partir de paneles de consumidores (Callegaro *et al.*, 2015): (a) muestras probabilísticas, en donde el panel está integrado por una muestra representativa de la población objetivo y (b) muestras de acceso voluntario en donde los integrantes del panel participan de forma voluntaria en el estudio. Los datos utilizados en el presente estudio se correspondieron con el primer tipo, ya que recogían de forma exhaustiva la información de compra en los hogares durante todo el periodo analizado.

Conviene apuntar que el problema de la representatividad del panel en la población objetivo, en este caso los hogares andaluces en los que se consume algún tipo de aceite, es un tema ampliamente abordado por numerosos autores (Ragnedda y Muschert, 2013). En este sentido, a pesar de que la composición de los paneles en la mayoría de las ocasiones no sigue un proceso probabilístico de creación, siendo el muestreo de cuotas el más habitual, diferentes estudios que comparan los resultados obtenidos a partir de los datos de panel con aquellos basados en muestreos probabilísticos mediante entrevistas cara a cara arrojan resultados similares (Duffy *et al.*, 2005). En efecto, si bien es posible encontrar diferencias importantes entre ambos enfoques cuando el sesgo del entrevistador tiene un claro efecto (por ejemplo, preguntando sobre la intención de voto), estas diferencias se reducen notablemente cuando no existe este sesgo, como en el caso del análisis de las preferencias o hábitos de consumo (Lohse *et al.*, 2000).

En este contexto, la base de datos utilizada en el presente estudio contiene información sobre el consumo de cualquier tipo de aceite en los 1.752 hogares incluidos en el panel de hogares de Andalucía propiedad de Kantar Worldpanel, información suministrada por el consumidor mediante el uso de un escáner portátil diseñado para leer los códigos de barras de los productos adquiridos. En esta base de datos se incluye el consumo de aceites durante el año 2016, detallándose el tipo de aceite consumido (AOR, AOVE, girasol u otros aceites), provincia y fecha de compra, cantidad adquirida, tamaño del envase, precio pagado, establecimiento de compra, si es de marca de distribuidor o de fabricante y características del hogar (tamaño familiar, edad del responsable de compra, edad de los hijos y nivel de renta).

En la Tabla 1 se presentan las proporciones de hogares por provincia en la muestra junto con sus respectivos intervalos de confianza. Como puede observarse, si se compara la distribución muestral con la poblacional (Agresti, 2002) se concluye que la muestra puede considerarse como representativa. Alternativamente, la prueba chi-cuadrado de validez de la muestra (H_0: no hay diferencias significativas entre ambas distribuciones) arrojó un valor del estadístico igual a 20,37 (*p*-valor = 0,0048); no obstante, en muestras de gran tamaño, como es el caso, suele incrementarse el nivel de confianza para reducir el error de tipo I manteniéndose la potencia de la prueba (Cohen, 1990). Siguiendo este criterio, para un nivel de confianza del 99,6 % el valor crítico es 20,85, por tanto sí se mantuvo la hipótesis nula de validez de la muestra.

Tabla 1. Representatividad de la muestra de hogares por provincia.
Table 1. Representativeness of household sample by province.

Provincia	Muestra (%)	Intervalo de confianza 95% (%)		Población objetivo (%)	Representatividad de la muestra
Almería	6,8	5,6	8,0	8,1	Ligeramente inferior
Cádiz	16,2	14,4	17,9	14,5	Adecuada
Córdoba	8,9	7,6	10,2	9,6	Adecuada
Granada	10,7	9,2	12,1	11,3	Adecuada
Huelva	6,3	5,1	7,4	6,1	Adecuada
Jaén	6,7	5,5	7,8	8,0	Ligeramente inferior
Málaga	18,7	16,8	20,5	19,6	Adecuada
Sevilla	25,9	23,8	27,9	22,8	Ligeramente superior
Total	100,0			100,0	

Fuente: Kantar worldpanel e Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía (2019).

De forma adicional se comprobó la validez de la muestra analizando la distribución muestral del consumo de aceite por tipo de envase y por tipo de aceite, tal y como se puede ver en la Tabla 2.

Tabla 2. Representatividad de la muestra de hogares según el tipo de aceite y tamaño del envase.
Table 2. Representativeness of household sample by oil type and package size.

	Muestra (%)	intervalo de confianza 95%		Población objetivo (%)	Representatividad de la muestra
Tipo de aceite:					
Oliva refinado (AOR)	28,3	26,2	30,4	30,4	Adecuada
Oliva Virgen Extra (AOVE)	35,4	33,2	37,6	35,9	Adecuada
Girasol	26,0	23,9	28,1	24,6	Adecuada
Otros aceites	10,3	8,9	11,7	9,1	Adecuada
Total	100,0			100,0	
Envase:					
1 litro	43,6	41,3	45,9	40,7	Ligeramente superior
5 litros	39,7	37,4	42,0	43,0	Ligeramente inferior
Otros tamaños	16,7	15,0	18,4	16,3	Adecuada
Total	100,0			100,0	

Fuente: Kantar worldpanel y MAPA (2019).

En el caso de la distribución muestral del consumo de aceite por tamaño del envase existió una ligera sobrerrepresentación de los envases de 1 litro e infrarrepresentación de los envases de 5 litros, no obstante, con un valor chi-cuadrado igual a 8,23 (p-valor = 0,016), se pudo mantener la hipótesis de validez de la muestra con un nivel de confianza del 99 %. De igual forma, respecto al tipo de aceite consumido, la muestra se ajustó a la población objetivo, con un valor chi-cuadrado igual a 6,83 (p-valor = 0,077).

En definitiva, teniendo en cuenta la distribución de hogares por provincia y el consumo de aceite por tipo de envase y de aceite, el panel de consumidores pudo considerarse como razonablemente representativo de la población objetivo.

Submuestra de elecciones del AOVE y del AOR

Teniendo en cuenta el objetivo del estudio, analizar los factores de elección del AOVE frente al AOR, la muestra inicial de 1.752 hogares, con un total agregado de 12.409 compras de algún tipo de aceite, se redujo a 648 hogares que realizaron al menos tres compras durante el año (Sivakumar y Raj, 1997) de AOVE y/o AOR en alguno de los cuatro establecimientos seleccionados (un supermercado, un hipermercado y dos establecimientos de gran descuento donde todos ellos cuentan con una gran implantación a nivel a nacional), los cuales representaban el 74 % de las ventas de aceite del panel de hogares. Esta última limitación de establecimientos fue necesaria para disponer de datos suficientes para estimar el diferencial de precios semanal por establecimiento del AOVE y del AOR de marca de distribuidor, variable proxy que estimaba el efecto del diferencial de precios semanal sobre la elección del AOVE o del AOR (variable "diferencial" en la Tabla 4). Por tanto, la submuestra utilizada contenía 648 hogares con 4.574 observaciones de compras de AOVE o AOR, lo cual implicó un número promedio de 7,1 compras por hogar y año. Se descartó el uso de un subpanel equilibrado por el riesgo de sesgo muestral, ya que el número de compras podía tener relación con la elección del tipo de aceite. La tabla siguiente muestra las elecciones de compra de la submuestra según el tipo de establecimiento y la marca.

Tabla 3. Número de compras en la muestra según establecimiento y marca de aceite.
Table 3. Number of purchase choices according to the retailer and by olive oil categories.

	Supermercado	Hipermercado	Establecimientos de gran descuento
AOR	1.108	380	928
Marca de fabricante (%)	1,3	42,6	3,9
Marca de distribuidor (%)	98,7	57,4	96,1
AOVE	1.010	756	392
Marca de fabricante (%)	3,3	72,6	8,7
Marca de distribuidor (%)	96,7	27,4	91,3
Número total de compras	2.118	1.136	1.320

Fuente: Elaboración propia a partir de Kantar worldpanel.

AOR: Aceite de oliva refinado; AOVE: Aceite de oliva Virgen Extra.

Como se puede ver, casi la mitad (46 %) de las observaciones de la submuestra correspondieron a compras en el supermercado, seguidas por las compras de los establecimientos de gran descuento y el hipermercado (29 % y 25 %, respectivamente). En el caso del supermercado existía un equilibrio de compra del AOVE y del AOR, a diferencia del hipermercado donde era mayor el número de compras del AOVE y de los establecimientos de gran descuento, donde ocurría lo contrario. Respecto a la marca del aceite, dominó claramente la marca de distribuidor en el caso del supermercado y los establecimientos gran descuento, tanto para el AOVE como para el AOR, siendo solo las compras de marca de fabricante superiores a las de distribuidor en el caso de la categoría AOVE en la gran superficie.

Variables del panel de consumidores

Las variables consideradas en los modelos de elección discreta incluyeron tanto consumos anuales agregados del hogar como las características del producto adquirido en cada compra (tipo de aceite, marca, precio, si estaba en promoción y tamaño del envase), características del comprador (edad, nivel de ingresos y tamaño de la familia), fecha y lugar de compra.

De acuerdo con la información disponible del panel de consumo, la variable promoción (promo) fue considerada dicotómica, esto es, con valor 1 si el producto tenía cualquier tipo de promoción (3×2, descuento en la segunda unidad, etc.) o 0 si no lo tenía. La clasificación del hogar según su nivel de renta disponible se realizó mediante la percepción subjetiva del entrevistado.

Modelos de regresión multinivel

El análisis de los datos de panel en el presente estudio se abordó dentro del enfoque de los modelos jerárquicos o multinivel (Goldstein, 2010) en el que la información se encuentra estructurada en diferentes niveles, en este caso dos: el nivel 1 representado por la unidad de decisión de compra, esto es, el hogar (variable clúster), y el nivel 2, las sucesivas elecciones de compra (AOR o AOVE) realizadas a lo largo del año.

La elección de este enfoque metodológico vino guiada por la existencia de variabilidad no observada, es decir, información sobre las características del hogar y las preferencias del consumidor, que condicionan las elecciones. De esta forma, las decisiones de compra dentro de un hogar tienden a tener menor variabilidad (variabilidad intra-grupo) que las decisiones entre hogares (variabilidad entre grupos). Es, por tanto, adecuado el considerar en el modelo de decisión el efecto de la variable clúster (hogar), efecto que se puede modelizar mediante los modelos lineales generalizados mixtos (Breslow y Clayton, 1993; Agresti, 2002), entre los que se encuentran los modelos de efectos fijos y los modelos de efectos aleatorios.

El caso de ignorar el nivel 1, es decir, la agregación de las compras por hogar, se estaría ante el modelo más simple para la explicación de la elección del AOVE o del AOR, esto es, un modelo logístico agregado que consideraba las compras como muestras independientes tomadas en diferentes momentos. Matemáticamente, las cuatro alternativas de modelización de la elección del AOVE del hogar *i* en el periodo *t* ($y_{it} = 1$), asumiendo $y_{it} = 1$ si $y_{it}^* > 0$ fueron (Baltagi, 2001).

Tabla 4. Variables utilizadas en los modelos logísticos para explicar la elección del tipo de aceite.
Table 4. Variables used in the logistic models to explain the extra virgin olive oil (EVOO) choice.

Grupo	Variable	Descripción	Unidad	Media	Mín.	Max.
Consumo anual del hogar	ltotales	Volumen de aceite adquirido en el año	Litros	33,8	2,5	112,0
	gasto	Gasto anual en aceite	Euros	101,9	9,0	352,0
	ncompras	Número de compras anuales	Entero	10,7	3	41
	naceites	Número de tipos de aceites adquiridos (aor, aove, girasol y/u otros)	1 a 4	2,6	1	4
Decisión de Compra	fidelidad	Cantidad comprada en el establecimiento principal	Porcentaje	77,1	25	100
	aove	Elección de AOVE o AOR	1 = AOVE; 0 = AOR	0,47	0	1
	marcadist	Aceite con marca de distribuidor	1 = Sí; 0 = No	0,82	0	1
	diferencial	Diferencia de precio entre el AOVE y el AOR de marca del distribuidor	Euros	0,66	0,20	1,70
	promo	Aceite en promoción	1 = Sí; 0 = No	0,24		
	envase	Tamaño del envase	Mililitros	1965	50	5000
	grandto	Establecimiento de gran descuento	1 = Sí; 0 =No	0,29	0	1
Características del consumidor	provprod	Comprador de provincia productora (Jaén, Córdoba, Sevilla o Granada)	1 = Sí; 0 = No	0,38	0	1
	familia	Número de integrantes del hogar	Entero	3,18	1	5
	hijos6	En el hogar hay hijos menores de 6 años	1 = Sí; 0 = No	0,10	0	1
	hijos15	En el hogar hay hijos menores de 15 años	1 = Sí; 0 = No	0,31	0	1
	edad1	Comprador entre 18 y 34 años	1 = Sí; 0 = No	0,05	0	1
	edad2	Comprador entre 35y 49 años	1 = Sí; 0 = No	0,33	0	1
	edad3	Comprador entre 50 y 64 años	1 = Sí; 0 = No	0,47	0	1
	edad4	Comprador con 65 o más años	1 = Sí; 0 = No	0,15	0	1
	renta1	Hogar de renta disponible baja	1 = Sí; 0 = No	0,22	0	1
	renta2	Hogar de renta disponible media	1 = Sí; 0 = No	0,30	0	1
	renta3	Hogar de renta disponible media-alta	1 = Sí; 0 = No	0,31	0	1
	renta4	Hogar de renta disponible alta	1 = Sí; 0 = No	0,17	0	1

Fuente: Kantar worldpanel.

AOR: Aceite de oliva refinado; AOVE: Aceite de oliva virgen extra

Nota: La variable dependiente en los modelos logísticos es aove.

Modelo logístico agregado
(modelo simplista)

Este modelo no considera la agrupación de compras por hogar sino que las considera todas agregadamente, por tanto, tanto el intercepto como las pendientes son fijos e iguales para todas las unidades, su formulación sería:

$$y_{it}^* = \beta_0 + x'_{it}\beta_1 + u_{it} \quad [1]$$

donde: $u_{it} \sim N(0, \sigma^2)$

Modelo condicional de efectos fijos
(intercepto fijo del hogar i = β_{0i})

En este caso no existe un intercepto igual para todos los hogares, sino que es específico y fijo para cada uno, sin embargo, las pendientes β_1 son fijas e iguales para todos:

$$y_{it}^* = \beta_{0i} + x'_{it}\beta_1 + u_{it} \quad [2]$$

donde: $u_{it} \sim N(0, \sigma^2)$; $E(x_{it}u_{it}) = 0$

Modelo logístico de interceptos aleatorios
(componente aleatoria del intercepto del hogar i = γ_{0i}).

Al igual que el caso anterior, cada hogar tiene su propio intercepto, pero en lugar de ser fijo es aleatorio:

$$y_{it}^* = \beta_{0i} + x'_{it}\beta_1 + u_{it} \quad [3]$$

donde: $\beta_{0i} = \beta_0 + \gamma_{0i}$; $\gamma_{0i} \sim N(0, \tau_0^2)$; $u_{it} \sim N(0, \sigma^2)$; $E(\gamma_{0i}u_{it}) = 0$

Modelo logístico de interceptos (γ_{0i}) y pendientes (γ_{1i}) aleatorios

Es el modelo más complejo, cada hogar tiene ambos parámetros aleatorios:

$$y_{it}^* = \beta_{0i} + x'_{it}\beta_{1i} + u_{it} \quad [4]$$

donde: $\beta_{0i} = \beta_0 + \gamma_{0i}$; $\beta_{1i} = \beta_1 + \gamma_{1i}$; $\gamma_{0i} \sim N(0, \tau_0^2)$; $\gamma_{1i} \sim N(0, \tau_1^2)$; $u_{it} \sim N(0, \sigma^2)$; $E(\gamma_{0i}u_{it}) = 0$; $E(\gamma_{1i}u_{it}) = 0$; $cov(\gamma_{0i}\gamma_{1i}) = \tau_{01}$

La elección del tipo de modelo, uno de efectos fijos o de efectos aleatorios (de interceptos o de interceptos y pendientes), suele realizarse a partir de la prueba de Hausman, cuya hipótesis nula es la igualdad de parámetros en ambos modelos. En caso de rechazar esta hipótesis se presentan dos alternativas:

– Optar por un modelo de efectos fijos, el cual, si bien es menos eficiente (proporciona mayores errores estándar) proporciona estimaciones insesgadas (Allison, 2009). Como es sabido, el modelo de efectos fijos no estima el efecto de variables que no presentan variación intra-grupo, en nuestro caso, por ejemplo, si el hogar se encontraba en una provincia productora (Jaén, Córdoba, Sevilla o Granada), el nivel de renta del hogar o si el hogar solo consumía un tipo de aceite a lo largo de todo el periodo analizado, si bien sí controla su efecto en la elección del AOVE frente al AOR, o viceversa. Esto representa una gran ventaja frente a los modelos de efectos aleatorios cuando en estos últimos no se cumple el requisito de no correlación entre las variables explicativas x_{it} y los efectos individuales β_{0i} (Halaby, 2004). El modelo de efectos fijos, no obstante, implica la no consideración de información potencialmente útil para la explicación de la variable dependiente (Bell *et al.*, 2019), como se podría argumentar en el interés de estimar el efecto del nivel de renta y el lugar de residencia de los hogares en el consumo del AOVE.

– Valorar la magnitud de las diferencias de las estimaciones de ambos modelos para, en el caso de ser mínimas, aceptar el coste de tener un ligero sesgo en las estimaciones que proporciona el modelo de efectos aleatorios a cambio de conseguir una mayor eficiencia en las estimaciones y poder cuantificar el efecto de variables con cero varianza intra-grupo (Bell y Jones, 2014). Incluso en el caso de una correlación moderada entre los regresores y la variable de respuesta, incumpliendo por tanto el requisito de inde-

pendencia del modelo de efectos aleatorios, si el número de unidades es elevado (por encima de 11), así como el número de observaciones por unidad (por encima de 5), es aconsejable el modelo de efectos aleatorios si se pretende extrapolar las conclusiones a unidades no incluidas en la muestra (Clark y Linzer, 2015).

En resumen, operacionalmente, como en general no es posible determinar si las variables no controladas que influyen sobre la variable dependiente están correlacionadas con las variables explicativas utilizadas en el modelo, si se atiende a las estimaciones de los coeficientes de ambos modelos y hay grandes diferencias es probable que las estimaciones del modelo de efectos aleatorios sean sesgadas y, por tanto, sea más seguro optar por un modelo de efectos fijos. No obstante, como sugiere Judge *et al.* (1988), si el número de unidades (hogares) es muy superior al número de observaciones por unidad (compras) y estas unidades son una muestra aleatoria de la población objetivo (todos los hogares andaluces), el modelo de efectos aleatorios resulta apropiado.

Obviamente, si no se rechaza la hipótesis nula de la prueba de Hausman entonces las estimaciones proporcionadas por ambos modelos son insesgadas y, en ese caso, sería mejor optar por el modelo de efectos aleatorios por ser más eficiente. La elección del modelo de efectos aleatorios tiene la ventaja adicional de poder estimar el efecto de variables que no presentan intra-variación en el grupo, por ejemplo la localización del hogar en una provincia productora de aceite, su nivel de renta o ser un hogar que solo consume un tipo de aceite.

Resultados y discusión

En la Tabla 5 aparecen los resultados de los cuatro modelos estimados, incluyéndose los efectos marginales, así como las pruebas de validez de los mismos y bondad de ajuste. En relación con la elección del modelo, la prueba Hausman al nivel de significación 0,01 (Prob > Chi^2 = 0,000) rechazó la hipótesis nula de igualdad de parámetros en ambos modelos, lo cual haría que se optara por el modelo de efectos fijos. No obstante, si se atendía a las diferencias de los coeficientes de los modelos de efectos fijos y aleatorios, resultaba asumible ese ligero sesgo del modelo de efectos aleatorios a cambio de la ventaja de poder cuantificar el efecto de variables fijas en el tiempo (la provincia y el nivel de renta del hogar en los modelos de parámetros aleatorios). Adicionalmente, según apuntan Judge *et al.* (1988), el gran número de hogares (648) en relación con el número de compras (con un mínimo de 3 y un máximo de 41) también apoyó el uso de los modelos de efectos aleatorios. Dentro de estos últimos, no había grandes diferencias entre el modelo solo con interceptos aleatorios y el modelo con interceptos y pendientes aleatorios, favoreciéndose el primero, tanto por el criterio de información bayesiano (BIC) como por la preferencia de un modelo lo más parsimonioso posible, por tanto, la discusión se centró en el modelo de interceptos aleatorios.

Como se ha apuntado, el modelo logístico agregado (el modelo más simple), al no tener en cuenta la heterogeneidad no observada de los hogares, subestima el efecto de las variables explicativas sobre la probabilidad de elección del AOVE sobre el AOR, como pone de manifiesto la Tabla 6.

El coeficiente de correlación intraclase (ICC) para los interceptos fue igual a 0,654, sugiriendo que aproximadamente dos tercios de las variaciones de elección entre el AOVE y el AOR se debieron a factores no observados. A partir de los valores medianos de los predictores (Rodríguez y Elo, 2003) los interceptos aleatorios indicaron que:

– La probabilidad marginal de elección del AOVE fue de 0,47 (47 % eligen AOVE frente a un 53 % que optan por el AOR).

Tabla 5. Estimación de los cuatro modelos logísticos de elección del aceite de oliva virgen extra (AOVE) frente al aceite de oliva refinado (AOR).
Table 5. Estimation of the four logistic models of consumers' olive oil choice.

	A. Modelo logístico agregado				B. Modelo condicional de efectos fijos				C. Modelo logístico de interceptos aleatorios				D. Modelo logístico de interceptos y pendientes aleatorios			
	Coef.	S.E.	OR	S.E.	Coef.	S.E.	OR	S.E.	Coef.	S.E.	OR	S.E.	Coef.	S.E.	OR	S.E.
diferencial	-0,630**	0,144	0,53	0,077	-1,167**	0,215	0,31	0,067	-1,250**	0,213	0,29	0,061	-1,267**	0,244	0,28	0,069
provprod	0,401**	0,065	1,49	0,097	0		1		0,649**	0,231	1,91	0,442	0,663**	0,227	1,94	0,441
marcadist	-1,178**	0,090	0,31	0,028	-0,845**	0,160	0,43	0,069	-1,261**	0,156	0,28	0,044	-1,285**	0,159	0,28	0,044
renta4	0,298**	0,085	1,35	0,114	0		1		0,726*	0,307	2,07	0,635	0,749*	0,302	2,12	0,639
grandto	-0,779**	0,073	0,46	0,034	-1,137**	0,171	0,32	0,055	-1,278**	0,154	0,28	0,043	-1,312**	0,156	0,27	0,042
constante	1,288**	0,116	3,63	0,422					1,712**	0,240	5,54	1,33	1,739**	0,251	5,69	1,43
Pseudo R^2	0,083															
LR chi^2 /Wald chi^2	522,6**				149,9**				224,1**				209,9**			
sigma_u									2,493							
rho (ICC)									0,654				0,692			
LR test rho=0									1366,5**				1371,9**			
BIC	5854,3				2116,3				4496,2				4507,7			
hogar																
var(diferencial)													2,114	1,432		
var(_cons)													7,473	1,195		
cov(_cons,diferencial)													-1,392	1,018		

** y * indican nivel de significación estadística al 1 % y 5 %, respectivamente.

Nota: La variable dicotómica dependiente es aove.

Tabla 6. Efecto de las variables explicativas sobre la elección del aceite de oliva virgen extra (AOVE) frente al aceite de oliva refinado (AOR).
Table 6. Effects of explanatory variables on extra virgin olive oil (EVOO) choice over refined olive oil (ROO).

	Variación de la ratio entre la probabilidad de elección de AOVE y a la probabilidad de elección de AOR	
	Modelo logístico agregado	Modelo logístico de interceptos aleatorios
Reducción de un euro en el diferencial de precio entre AOVE y AOR	+89 % (1/0,53 = 1,89)	+245 % (1/0,29 = 3,45)
Hogar en provincia productora de aceite de oliva	+49 %	+91 %
Marca de fabricante	+223 % (1/0,31 = 3,23)	+257 % (1/0,28 = 3,57)
Renta media-alta o alta	+35 %	+107 %
Supermercado o hipermercado	+117 % (1/0,46 = 2,17)	+257 % (1/0,28 = 3,57)

– La probabilidad de elección del AOVE fue 7,9 veces superior a la probabilidad de elección del AOR cuando la elección anterior fue AOVE.

– La asociación manifiesta entre predictores y elecciones (coeficiente de correlación de Pearson igual a 0,47) fue mucho menor que la asociación latente, esto es, solo el 22,5 % ($0,47^2 = 0,225$) de la variación en la elección del tipo de aceite se debió a los predictores observados, muy inferior a la propensión latente (65,4 %).

– Con un coeficiente de Yule igual a 0,775, la probabilidad de concordancia entre dos elecciones excedió la discordancia en un 77,5 %, esto es, existía una fuerte inercia en la compra de aceite, manteniéndose la elección anterior, efecto bien conocido en marketing en general (Dubé *et al.*, 2010) y el consumo de aceite en particular (Pérez y Pérez y Gracia, 2020).

Entre los atributos que valoró el consumidor a la hora de elegir AOVE tiene especial relevancia el precio (Gázquez-Abad y Sánchez-Pérez 2009; Di Vita *et al.*, 2013; Yangui *et al.*, 2014; Del Giudice *et al.*, 2015; Bernabéu y Díaz, 2016; Yangui *et al.*, 2019). En el panel analizado, el sobreprecio medio de AOVE sobre AOR, ambos de marca de fabricante, varió entre el 20,5 % y 25,0 %, según el establecimiento, como indica la Tabla 7.

La importancia de este atributo, medido como diferencial de precio entre AOVE y AOR, quedó reflejada en cualquiera de las especificaciones de los modelos de elección, tanto en el modelo de efectos fijos como en el de efectos aleatorios. No obstante, como se puede apreciar en el siguiente gráfico, fue a partir de un diferencial de 1,20 euros por litro cuando se produjo una caída en la cantidad de AOVE adquirido frente al AOR.

Además del efecto del diferencial de precio, la probabilidad de elección del AOVE frente al AOR se vio incrementada cuando el consumidor residía en una zona productora de aceite (Ballco y Gracia, 2020) y cuando tenía

Tabla 7. Diferencial de precio entre el aceite de oliva virgen extra (AOVE) frente al aceite de oliva refinado (AOR) de marca de distribuidor.
Table 7. Price differences of storebrand extra virgin olive oil (EVOO) and storebrand refined olive oil (ROO).

	Precio medio semanal del AOVE (euros/litro)	Precio medio semanal del AOR (euros/litro)	Diferencial medio de precios	Sobreprecio del AOVE (%)
Supermercado	3,94	3,23	0,71	22,1
Hipermercado	4,12	3,34	0,78	23,4
Gran descuento 1	4,36	3,49	0,87	25,0
Gran descuento 2	4,09	3,39	0,69	20,5

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos de Kantar worldpanel.

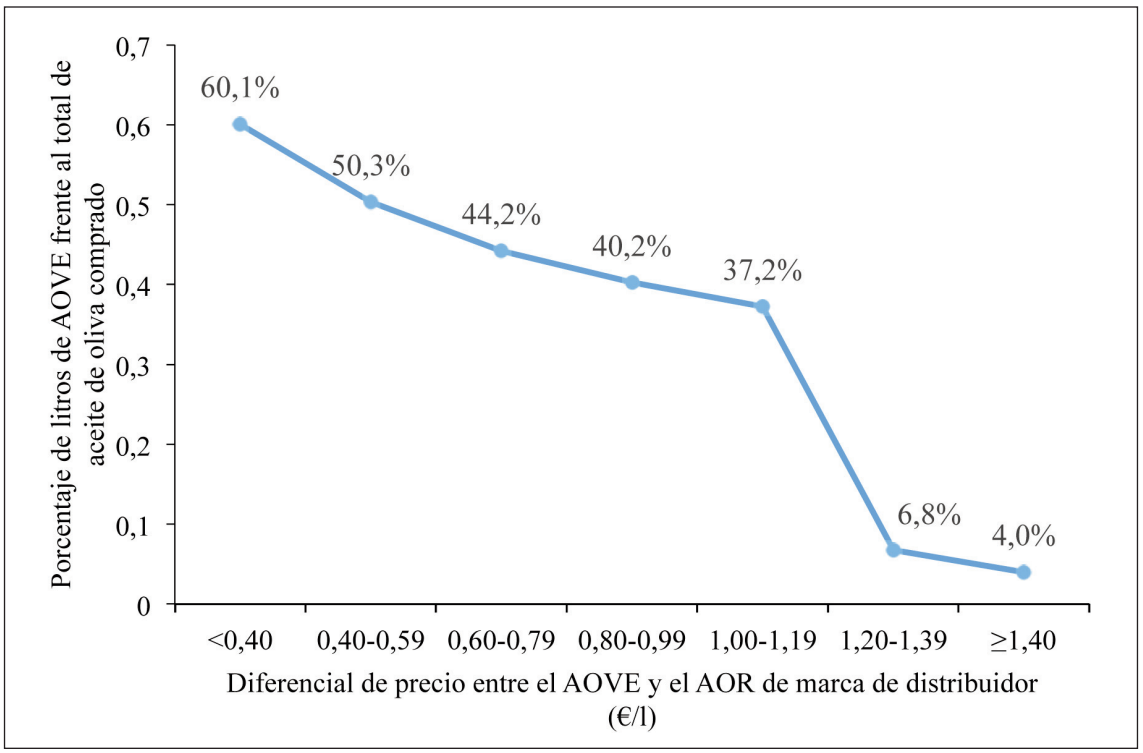


Figura 1. Porcentaje de litros totales de AOVE comprados frente al total de litros de aceite de oliva (AOVE+AOR) según el diferencial semanal promedio del precio del aceite de oliva virgen extra (AOVE) y del aceite de oliva refinado (AOR) de marca de distribuidor.

Fuente: Elaboración propia a partir de Kantar worldpanel.

Figure 1. Percentage of EVOO over total olive oil (litres) depending on the average weekly price difference of storebrand extra virgin olive oil (EVOO) and refined olive oil (ROO).

un nivel de renta medio y medio-alto, duplicándose prácticamente esta probabilidad en ambos casos, resultados en línea con los resultados obtenidos por Salazar-Ordóñez *et al.* (2019), si bien con un efecto mayor en el presente estudio. Por el contrario, existió una reducción de la probabilidad de elegir el AOVE frente al AOR cuando el producto era de marca de distribuidor y adquirido en establecimientos de gran descuento.

En relación con el mayor consumo de AOVE en las zonas productoras varios autores apuntan al efecto de aspectos culturales (Vanhonacker *et al.*, 2010), en este caso, mayor tradición en el consumo de aceite de oliva. Del mismo modo, la componente local del aceite virgen extra jugaría a favor de su elección en estas zonas productoras frente al refinado (Sanz y Macías, 2005; Dekhili y d'Hauteville, 2009; Cavallo *et al*., 2017). Asimismo, el grado de conocimiento del producto también influye en la elección del tipo de aceite, viéndose incrementada la proporción de AOVE cuando el consumidor tiene un mayor nivel de conocimiento del aceite de oliva (Torres-Ruiz *et al*., 2012; Di Vita *et al*., 2020).

La especificación final del modelo no incluyó el efecto de la promoción del aceite (promo) en la elección del consumidor, al no resultar una variable significativa en la especificación inicial, siendo una variable positivamente correlacionada con la estrategia comercial del establecimiento (Cramér's V = 0,282). En efecto, en los establecimientos de gran descuento la importancia de las ventas de aceite en promoción (12,5 % del total de las ventas) fue mayor que en el hipermercado y el supermercado (9,3 % y 2,5 %, respectivamente). Por otro lado, el efecto de la promoción sobre la elección de aceite también resultó parcialmente capturado por su relación con la variable marca de distribuidor (marcadist), apreciándose igualmente una correlación positiva entre ambas, si bien en menor grado (Cramér's V = 0,182). La exclusión de la variable promoción en la elección de aceite es igualmente observada en otros estudios sobre elecciones de aceite (Matsatsinis *et al.*, 2007; Gázquez-Abad y Sánchez-Pérez, 2009), si bien no se descarta en otros (Guerrero *et al.*, 2000).

De igual forma, el tamaño del envase tampoco se incorporó en la especificación final del modelo de elección, al igual que apuntan otros estudios (Matsatsinis *et al.*, 2007), si bien en otros casos sí resulta significativa esta variable (Di Vita *et al.*, 2013; Romo-Muñoz *et al.*, 2017).

Conclusiones

A partir de los datos de consumo de aceite de un panel de hogares durante un año en cuatro cadenas de distribución (un supermercado, un hipermercado y dos cadenas de gran descuento), se analiza el efecto de diferentes variables explicativas en la elección del AOVE frente al AOR mediante un modelo logístico de parámetros aleatorios. Metodológicamente, tanto el modelo de efectos fijos como los modelos de efectos aleatorios apuntan a la importancia de la heterogeneidad no observada en la elección del tipo de aceite en los hogares analizados, limitando la capacidad explicativa de los predictores. No obstante, los resultados sugieren que la componente monetaria, reflejada en la naturaleza de la mayoría de predictores empleados, muestra un poder explicativo muy relevante. Así, el diferencial de precio tiene un efecto fundamental en la elección del AOVE frente al AOR reduciéndose, drásticamente, a partir de 1,20 euros/l la cantidad de AOVE adquirido frente al total de aceite de oliva. Asimismo, también se detecta una reducción de la probabilidad de elección del AOVE cuando el consumidor opta por aceite de marca de distribuidor, variable a su vez fuertemente relacionada con el tipo de establecimiento en

el que se realiza la compra que igualmente muestra un efecto depresor de la probabilidad. Por contra, aquellos hogares con mayores ingresos muestran una mayor probabilidad de elección del AOVE. Respecto a variables no relacionadas con dicha componente monetaria, en zonas productoras, como era previsible, se detecta una mayor propensión al consumo del AOVE.

La mejora de la cuota de mercado de AOVE frente a AOR, con efectos positivos sobre los productores de aceite y sobre el medio rural, colisiona con la gran inercia de elección que muestra el consumidor, donde casi la mitad de los hogares no cambian de tipo de aceite. Asimismo, destaca sobre manera, considerando las notables diferencias de calidad entre ambas categorías de aceite, el gran impacto que representa la componente monetaria en la propensión a comprar AOVE. Estos hallazgos de relevancia fundamental apuntan al conocimiento del consumidor como aspecto clave para explicar dicho comportamiento. Nos encontramos en una etapa de desarrollo del mercado oleícola donde si bien es cierto que el consumidor puede percibir que el AOVE es de mayor calidad no termina por reconocer de forma meridiana cuáles son los caracteres diferenciales que están detrás de dicha calidad. Este aspecto determina que el diferencial de precio percibido por el consumidor juegue un rol crucial en el momento de la toma de decisiones en el lineal del supermercado, acortándose la importancia del diferencial de calidad existente entre ambas categorías. Particularmente, en el caso de los aceites de oliva, cuando se incluyen las marcas de fabricante, existe una clara región de superposición entre los vectores de precio de ambas calidades de producto (AOVE y ROO), teniendo como consecuencia límites difusos entre los precios de referencia que favorecen el papel clave que juega el diferencial de precios. Por otra parte, la existencia recurrente de volatilidad en el mercado oleícola hace que el establecimiento de precios de referencia en la mente del consumidor sea un proceso difuso ya que dichas fluctuaciones repentinas (frecuentemente agresivas), sobre todo cuando son al alza, destruyen el "*framing*" y los procesos de anclaje del consumidor en el mercado lo cual ante un consumidor poco informado puede penalizar la elección del aceite de mayor calidad AOVE. Esta configuración del mercado también propicia la sobreponderación de la confianza y lealtad a la marca por parte del consumidor representando un fenómeno que facilita la toma de decisiones en el lineal del supermercado y favorece un comportamiento de inercia.

La suma de dichos factores donde, además, existe un riesgo históricamente elevado de incrementos temporales del diferencial entre ambos productos, debido a malas cosechas, obliga a una estrategia de concienciación del consumidor por parte del sector que incida en la diferenciación de ambos productos, posicionando la imagen del AOVE como un producto de superior calidad incidiendo en un mayor desarrollo de su componente hedónica. En este sentido, el mercado también puede estar apuntando hacia una ventaja competitiva para aquel distribuidor que apueste activamente porque el consumidor conozca la diferencia entre calidades y lo comunique activamente en sus lineales. Esto podría ir acompañado de un mensaje claro de apoyo a un producto icónico y al sector productor que permitiría una diferenciación y la obtención de una ventaja competitiva.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los dos revisores anónimos sus comentarios y sugerencias, los cuales han contribuido a la mejora del artículo. Esta investigación ha sido financiada por el proyecto RTA2013-00032-00-00 (MERCAOLI) cofinanciado por el INIA y el Ministerio de Economía y Competitividad, así como

por la Unión Europea a través de los Fondos FEDER 2014-2020 "Programa Operativo de Crecimiento Inteligente".

Referencias bibliográficas

Agresti A (2002). Categorical data analysis 2nd ed. John Wiley & Sons, New Jersey, USA. 710 pp.

Allison PD (2009). Fixed effects regression models. SAGE Publications, London, UK. 123 pp.

Ballco P, Gracia A (2020). Do market prices correspond with consumer demands? Combining market valuation and consumer utility for extra virgin olive oil quality attributes in a traditional producing country. Journal of Retailing Consumer Services 53: 101999. https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2019.101999.

Baltagi BH (2001). Econometric analysis of panel data 3rd ed. John Wiley & Sons, Chichester, England. 257 pp.

Bell A, Jones K (2014). Explaining fixed effects: random effects modeling of time-series cross-sectional and panel data. Political Science Research Methods 3(1): 133-153. https://doi.org/10.1017/psrm.2014.7.

Bell A, Fairbrother M, Jones K (2019). Fixed and random effects models: making an informed choice. Quality & Quantity 53(2): 1051-1074. https://doi.org/10.1007/s11135-018-0802-x.

Bernabéu R, Olmeda M, Díaz M, Olivas R (2009). Commercial opportunities for olive oil from Castilla-La Mancha (Spain). Grasas y Aceites 60(5): 525-533. https://doi.org/10.3989/gya.053409.

Bernabéu R, Díaz M (2016). Preference for olive oil consumption in the Spanish local market. Spanish Journal of Agricultural Research 14(4): e0108. https://doi.org/10.5424/sjar/2016144-10200.

Breslow NE, Clayton DG (1993). Approximate inference in Generalized Linear Mixed Models. Journal of the American Statistical Association 88(421): 9-25. https://doi.org/10.2307/2290687.

Calatrava-Requena J, González-Roa MC (2003). El consumo de aceites de oliva en España: análisis de la situación actual y del potencial de demanda. XI simposium Expoliva, 14-16 de mayo, Jaén (España).

Callegaro M, Manfreda KL, Vehovar V (2015). Web Survey Methodology. SAGE Publications, Londres, UK. 344 pp.

Casini L, Contini C, Romano C, Scozzafava G (2016). New Trends in Food Choice: What Impact on Sustainability of Rural Areas? Agriculture and Agricultural Science Procedia 8: 141-147. https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.019.

Caponio F, Giarnetti M, Paradiso VM, Summo C, Gomes T (2012). Potential use of extra virgin olive oil in bakery products rich in fats: a comparative study with refined oils. International Journal of Food Science & Technology 48(1): 82-88. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03161.x.

Cavallo C, Caracciolo F, Cicia G, Del Giudice T (2017). Extra-Virgin Olive Oil: Are consumers provided with the sensory quality they want? A hedonic price model with sensory attributes. Journal of the Science of Food and Agriculture 98(4): 1591-1598. https://doi.org/10.1002/jsfa.8633.

Chaniotakis IE, Lymperopoulos C, Soureli M (2010). Consumers' intentions of buying own-label premium food products. Journal of Product and Brand Management 19(5): 327-334. https://doi.org/10.1108/10610421011068568.

Clark TS, Linzer DA (2015). Should I use fixed or random effects? Political Science Research Methods 3(2): 399-408. https://doi.org/10.1017/psrm.2014.32.

Cohen J (1990). Things I have learned (so far). American Psychologist 45: 1304-1312. https://doi.org/10.1037/0003-066X.45.12.1304.

Dekhili S, d'Hauteville F (2009). Effect of the region of origin on the perceived quality of olive oil: an experimental approach using a control group. Food Quality and Preference 20: 525-532. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.05.008.

Dekhili S, Sirieix L, Cohen E (2011). How consumers choose olive oil: the importance of origin cues. Food Quality and Preference 22(8): 757-62. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.06.005.

Delgado C, Guinard JX (2011). How do consumer hedonic ratings for extra virgin olive oil relate to quality ratings by experts and descriptive analysis ratings? Food Quality and Preference 22(2): 213-225. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.10.004.

Del Giudice T, Cavallo C, Caracciolo F, Cicia G (2015). What attributes of extra virgin olive oil are really important for consumers: a meta-analysis of consumers' stated preferences. Agricultural and Food Economics 3(20): 1-15. https://doi.org/10.1186/s40100-015-0034-5.

Di Vita G, D'Amico M, La Via G, Caniglia E (2013). Quality perception of PDO extra-virgin olive oil: which attributes most influence Italian consumers? Agricultural Economic Review 14(2): 46-58. https://doi.org/10.22004/ag.econ.253544.

Di Vita G, Strano A, Maesano G, La Via G, D'Amico M (2020). The role of individual knowledge in functional olive oil preferences: Does self-coherence lead to different health attributes perception? Foods 9: 1428. https://doi.org/10.3390/foods9101428.

Dubé JP, Hitsch GJ, Rossi PE (2010). State dependence and alternative explanations for consumer inertia. The RAND Journal of Economics 41(3): 417-445.

Duffy B, Terhanian G, Bremer J, Smith K (2005). Comparing data from online and face-to-face surveys. International Journal of Market Research 47(6): 615-639. https://doi.org/10.1177/147078530504700602.

Erraach Y, Sayadi S, Gómez AC, Parra-López C (2014). Consumer-stated preferences towards Protected Designation of Origin (PDO) labels in a traditional olive-oil-producing country: the case of Spain. New Medit 13(4): 11-19.

García-González DL, Aparicio R (2010). Research in olive oil: challenges for the near future. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(24): 12569-12577. https://doi.org/10.1021/jf102735n.

Gázquez-Abad JC, Sánchez-Pérez M (2009). Factors influencing olive oil brand choice in Spain. Agribusiness 25(1): 36-55. https://doi.org/10.1002/agr.20183.

Goldstein H (2010). Multilevel statistical models 4th ed. John Wiley & Sons, Londres. 384 pp.

Guerrero L, Colomer Y, Guàrdia MD, Xicola J, Clotet R (2000). Consumer attitude towards store brands. Food Quality and Preference 11(5): 387-395. https://doi.org/10.1016/S0950-3293(00)00012-4.

Halaby CN (2004). Panel models in sociological research: theory into practice. Annual Review of Sociology 30: 507-544. https://doi.org/10.1146/annurev.soc.30.012703.110629.

Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía (2019). Censo de población y vivienda 2011. Junta de Andalucía. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadisticaycartografia/censos/censo2011/index.htm (Consultado: 1 de octubre de 2020).

Judge GG, Hill RC, Griffiths WE, Lutkepohl H, Lee TS (1988). Introduction to the theory and practice of econometrics. John Wiley & Sons, Nueva York, USA. 1024 pp.

Krystallis A, Ness M (2005). Consumer preferences for quality foods from a South European perspective: a conjoint analysis implementation on Greek olive oil. International Food and Agribusiness Management Review 8(2): 62-91. https://doi.org/10.22004/ag.econ.8161.

Lohse GL, Bellman S, Johnson EJ (2000). Consumer buying behavior on the Internet: Findings from panel data. Journal of Interactive Marketing 14(1): 15-29. https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6653(200024)14:1<15::AID-DIR2>3.0.CO;2-C.

MAPA (2019). Informe del consumo alimentario en España 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/images/es/20190807_informedeconsumo2018pdf_tcm30-512256.pdf (Consultado: 1 de octubre de 2020).

Matsatsinis NF, Grigoroudis E, Samaras AP (2007). Comparing distributors' judgements to buyers' preferences: A consumer value analysis in the Greek olive oil market. International Journal of Retail & Distribution Management 35(5): 342-362. https://doi.org/10.1108/09590550710743717.

Matthäus B, Spener F (2008). What we know and what we should know about virgin oils – a general introduction. European Journal of Lipid Science and Technology 110(7): 597-601. https://doi.org/10.1002/ejlt.200800118.

Menapace L, Colson G, Grebitus C, Facendola M (2011). Consumers' preferences for geographical origin labels: evidence from the Canadian olive oil market. European Review of Agricultural Economics 38(2): 193-212. https://doi.org/10.1093/erae/jbq051.

Millán MG, Pablo-Romero MP, Sánchez-Rivas J (2018). Oleotourism as a sustainable product: an analysis of its demand in the south of Spain (Andalusia). Sustainability 10(1): 101. https://doi.org/10.3390/su10010101.

Mili S (2006). Olive oil marketing on non-traditional markets: prospects and strategies. New Medit 5(1): 27-37.

Mtimet N, Zaibet L, Zairi C, Hzami H (2013). Marketing olive oil products in the Tunisian local market: The importance of quality attributes and consumers' behavior. Journal of International Food and Agribusiness Marketing 25(2): 134-145. https://doi.org/10.1080/08974438.2013.736044.

Pérez y Pérez L, Gracia A (2020). Intención de compra de aceite de oliva con denominación de origen protegida: el aceite del Bajo Aragón. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 116(1): 57-70. https://doi.org/10.12706/itea.2019.018.

Ragnedda M, Muschert GW (2013). The digital divide: the internet and social inequality in international perspective. Routledge, New York, USA. 324 pp.

Rodríguez G, Elo I (2003). Intra-class correlation in random-effects models for binary data. The Stata Journal: Promoting Communications on Statistics and Stata 3(1): 32-46. https://doi.org/10.1177/1536867X0300300102.

Romo-Muñoz RA, Cabas-Monje JH, Garrido-Henrríquez HM, Gil JM (2017). Heterogeneity and nonlinearity in consumers' preferences: an application to the olive oil shopping behavior in Chile. PLoS One 12(9): e0184585. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184585.

Salazar-Ordóñez M, Rodríguez-Entrena M, Cabrera ER, Henseler J (2018). Understanding product differentiation failures: the role of product knowledge and brand credence in olive oil markets. Food Quality and Preference 68: 146-155. https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.02.010.

Salazar-Ordóñez M, Rodríguez-Entrena M (2019). Hybridizing consumer behavioural approaches on agrifood markets: attitudes, judgements and choices. Spanish Journal of Agricultural Research 17(2): e0109. https://doi.org/10.5424/sjar/2019172-14155.

Santos CSP, Cruz R, Cunha SC, Casal S (2013). Effect of cooking on olive oil quality attributes. Food Research International 54(2): 2016-2024. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.014.

Sanz J, Macías A (2005). Quality certification, institutions and innovation in local agro-food systems: protected designations of origin of olive oil in Spain. Journal of Rural Studies 21: 475-486. https://doi.org/10.1016/j.jrurstud.2005.10.001.

Schwingshackl L, Krause M, Schmucker C, Hoffmann G, Rücker G, Meerpohl JJ (2019). Impact of different types of olive oil on cardiovascular risk factors: a systematic review and network meta-analysis. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases 29(10): 1030-1039. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.07.001.

Sivakumar K, Raj SP (1997). Quality tier competition: How price change influences brand choice and category choice. Journal of Marketing 61(3): 71-84. https://doi.org/10.2307/1251790.

Sottomayor M, Monteiro SDM, Teixeira MS (2010). Valuing nested names in the Portuguese olive oil market: An exploratory study. Book of Abstracts of the 116th EAAE Seminar, 27-30 de octubre, Parma, Italia.

Steenkamp JBEM (1997). Dynamics in Consumer behavior with respect to agricultural and food products. En: Agricultural Marketing and Consumer Behavior in a Changing World (Eds. Wierenga B, van Tilburg A, Grunert K, Steenkamp JBEM, Wedel M) pp. 143-188. Springer, Boston. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6273-3_8.

Torres-Ruiz FJ, Vega-Zamora, M, Gutiérrez-Salcedo, M (2012). Análisis de la confusión sobre los aceites de oliva y su efecto en el mercado. Distribución y Consumo 22(122): 1-8.

Vanhonacker F, Lengard V, Hersleth M, Verbeke W (2010). Profiling European traditional food consumers. British Food Journal 112(8): 871-886. https://doi.org/10.1108/00070701011067479.

Yangui A, Costa-Font M, Gil JM (2014). Revealing additional preference heterogeneity with extended random parameter logit model: the case of extra virgin olive oil. Spanish Journal of Agricultural Research 12(3): 553-567. https://doi.org/10.5424/sjar/2014123-5501.

Yangui A, Gil JM, Costa-Font M (2019). Comportamiento de los consumidores españoles y los factores determinantes de sus disposiciones a pagar hacia el aceite de oliva ecológico. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 115(3): 252-269. https://doi.org/10.12706/itea.2019.014.

(Aceptado para publicación el 22 de abril de 2021)

Análisis coste-eficacia en la gestión de subproductos ganaderos de vacuno de leche para la reducción de la contaminación por nitrógeno

M. Soledad Muñoz-Luque y Julio Berbel*

Departamento de Economía Agraria; Área de Economía, Sociología y Políticas Agrarias; Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y de Montes, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Ctra. Madrid-Cádiz, Km. 396. 14071, Córdoba, España

Resumen

En este trabajo se ha realizado un análisis coste-eficacia (ACE) para validar las diferentes medidas que puedan aplicarse a los subproductos ganaderos procedentes de explotaciones de vacuno de leche intensivo de la comarca de Los Pedroches (norte de Córdoba, España). El ACE ordena según el ratio coste económico de la medida y eficacia en reducción de las presiones por lixiviación de nitrógeno (N) con el impacto en la contaminación de masas de agua con el exceso de nitratos vertidos a los campos de cultivo a través del estiércol y purín de vacuno. Para ello se han seleccionado una serie de indicadores de reducción de la presión y se han analizado varias medidas de contaminación puntual y difusa en la gestión de los subproductos ganaderos. Dichas medidas se examinarán a través de un ACE similar al que se aplica a los planes hidrológicos en España desde la implementación de la Directiva Marco de Agua. Las medidas que han resultado coste-eficaces en la reducción de la presión por contaminación por Nitrógeno son las que incluyen una gestión adecuada de los subproductos ganaderos en la propia explotación, así como la valorización de éstos a través de tratamientos, como compostaje o digestión anaerobia. Con la aplicación de estas medidas se reducirá la contaminación en las masas de agua a corto-medio plazo en la zona de estudio.

Palabras clave: Análisis coste-eficacia, estiércol, purín, nitratos, lixiviación, bovino.

Cost-effectiveness analysis of livestock by-products management of dairy cattle for the reduction of nitrogen pollution

Abstract

In this work a cost-effectiveness analysis has been carried out to validate different measures that can be applied to livestock by-products from intensive dairy cattle farms in the region of Los Pedroches (northern Córdoba, Spain), from an economic point of view and with the ability to reduce the strong pressure on nitrogen (N) leaching to the environment, due to contamination of water bodies with excess nitrates discharged to the fields through cattle manure and slurry. For this, a series of pressure reduction indicators have been selected and several measures of point and diffuse contamination in the management of livestock by-products have been analyzed. These measures will be examined through a cost-effectiveness

* Autor para correspondencia: berbel@uco.es

Cita del artículo: Muñoz-Luque MS, Berbel J (2022). Análisis coste-eficacia en la gestión de subproductos ganaderos de vacuno de leche para la reducción de la contaminación por nitrógeno. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 119-136. https://doi.org/10.12706/itea.2021.017

analysis based on that applied to hydrological plans in Spain since the implementation of the Water Framework Directive. The measures that have proved cost-effective in reducing N leaching are those that include proper management of livestock by-products in the farm itself, as well as the valorization of these through treatments, such as composting or anaerobic digestion. With the application of these measures, pollution in water bodies will be reduced in the short-medium term in the study area.

Keywords: Cost-effectiveness analysis, manure, slurry, nitrates, leaching, bovine.

Introducción

La comarca de Los Pedroches (norte de la provincia de Córdoba) destaca por su actividad ganadera, siendo uno de los principales motores económicos. Cuenta con el 9,64 % de las explotaciones ganaderas de Andalucía y el 56 % de su provincia. El objeto de este proyecto se centra en la ganadería intensiva, que se ha desarrollado asombrosamente durante los últimos 25 años, concentrándose especialmente en explotaciones de vacuno de leche. Según los datos de las Oficinas Comarcales Agrarias Pedroches I y Pedroches II, el número de explotaciones intensivas de vacuno de leche es de 341, con un censo medio de 55.173 cabezas de ganado. Basándose en los estándares de producción de estiércoles y purines de la legislación aplicable, se producen 910.000 toneladas de estiércol y más de 707.000 m^3 de purín al año, sólo procedente del vacuno de leche. De tal cantidad de subproducto se deduce que las toneladas obtenidas de nitrógeno son 4.055 y se ha estimado que pueden llegar a lixiviarse 3.171 toneladas de nitrógeno al año por una ineficaz gestión de los subproductos ganaderos.

Los controles que deben hacerse en las explotaciones de vacuno de leche con el fin de evitar la contaminación de nitratos al medio ambiente, estarán ligados a un adecuado manejo y tratamiento de los subproductos ganaderos. Por las investigaciones realizadas en la zona, la mayoría de las explotaciones ganaderas no cumplen los requisitos mínimos de almacenamiento controlado de los subproductos ni presentan alternativas de gestión que no sean la aplicación directa en campo o el compostaje básico en la propia explotación.

Las fuentes de contaminación se distinguen entre puntuales y difusas. Las sustancias contaminantes originadas por fuentes puntuales son las procedentes de vertidos o suelos contaminados en las instalaciones de las explotaciones ganaderas. Estas fuentes son aisladas y más fáciles de controlar. Se deben principalmente a la falta de impermeabilización y de cubierta de las balsas y del terreno donde se extienden los subproductos generados, así como al erróneo dimensionamiento de las balsas.

En cuanto a la contaminación de origen difuso, es aquella que no procede de un punto de origen específico, donde los contaminantes se arrastran y se lixivian desde la tierra hasta las masas de aguas superficiales y subterráneas. La fuente de contaminación difusa más significativa es la sobrefertilización nitrogenada aplicada a los suelos y cultivos agrarios. De esta forma se genera un excedente de nitrógeno que se infiltra en el subsuelo o es transportado mediante escorrentía superficial contaminando los recursos hídricos. Esto implica una serie de consecuencias ambientales que se están haciendo patentes en el estado de las masas de agua de la comarca.

De hecho, en la zona de estudio se encuentra la cuenca del Embalse de La Colada, catalogada como zona vulnerable por la contaminación agraria de nitratos por el Decreto 36/2008 (BOJA, 2008). Esta zona presenta unas restricciones en cuanto al uso de subproductos en las zonas agrícolas para evitar una contaminación debido a la sobrefertilización. Las cantidades máximas de estiércol/

purín aplicadas al terreno no podrán superar los 170 kg de nitrógeno por hectárea y año. Además, se establece un Manual de códigos de buenas prácticas agrarias para maximizar el empleo de abonos en los cultivos. Todo esto se encuentra recogido en el Real Decreto 261/1996 (BOE, 1996) y en la Orden de 1 de junio de 2015, por la que se aprueba el programa de actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias designadas en Andalucía (BOJA, 2015).

El nivel de contaminación alcanzado supone su declaración en "mal estado"[1] según la Directiva Marco del Agua (DMA) (DOCE, 2000). Además, los Planes Hidrológicos señalan la obligación de aplicar medidas a las Zonas Vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias, como el Código de Buenas Prácticas Agrarias. El principal objetivo de estos planes es la reducción de la lixiviación de nitratos que son aplicados como fertilizantes en cultivos y en la propia explotación ganadera.

Es más, la problemática de contaminación de las aguas en la comarca de Los Pedroches se extiende al resto de la geografía española. La última evaluación disponible en España (MITECO, 2017) indica que un 46 % de las masas de agua superficiales y un 48 % de las subterráneas se encuentran en un estado "peor que bueno"[2] por causas cuantitativas (exceso de extracciones) o cualitativas (contaminación difusa o puntual). Y entre las principales presiones sobre los sistemas acuáticos, destaca la contaminación difusa de origen agrario.

Este trabajo pretende realizar un estudio de los indicadores de presión por exceso de N y las medidas para la reducción del N presente en el manejo y tratamiento de los subproductos ganaderos. La metodología seguida se basa en el esquema Fuerza-Presión-Estado-Impacto-Respuesta (DPSIR: *Driving forces of environmental changes, Pressures on the environment, State of the environment, Impacts on population, economy and ecosystems and Response of the society*), estableciendo un marco ampliamente reconocido y desarrollado para la organización del estado del medio ambiente. Este marco es el que recomienda la Agencia Europea de Medio Ambiente (EEA, 2005) y la propia DMA en su Artículo 9º (Planes de Medidas; DOCE, 2000) que reproduce el reglamento de Planificación Hidrológica (BOE, 2008).

Cuando se hayan seleccionado las medidas adecuadas, teniendo en cuenta los tratamientos actuales y las mejores técnicas disponibles de tratamiento, se examinarán a través de un análisis coste-eficacia (ACE). Un análisis coste-eficacia se fundamenta en la comparación de la reducción del impacto (o presiones) sobre el medio acuático (evolución positiva de un indicador) con el coste anual equivalente (financiero) de la medida (European Commission, 2003). El ACE está basado en el que se aplica a los planes hidrológicos en España desde la implementación de la DMA. Por último, se escogerán aquellas medidas que resulten coste-eficaces en la reducción de la lixiviación de nitrógeno.

---

1. Una masa de agua en "mal estado" se considerará cuando esté sujeta a alteraciones antropogénicas que impidan alcanzar los objetivos medioambientales para las aguas superficiales asociadas que puede ocasionar perjuicios a los ecosistemas existentes asociados o que puede causar una alteración del flujo que genere salinización u otras intrusiones (Instrucción de Planificación Hidrológica; BOE, 2008).

2. El estado de una masa de agua superficial quedará determinado por el peor valor de su estado ecológico o de su estado químico. Cuando el estado ecológico sea bueno o muy bueno y el estado químico sea bueno, el estado de la masa de agua superficial se evaluará como "bueno o mejor". En cualquier otra combinación de estados ecológico y químico el estado de la masa de agua superficial se evaluará como "peor que bueno". Para el caso de aguas subterráneas dicho estado podrá clasificarse como bueno o malo (Instrucción de Planificación Hidrológica; BOE, 2008).

Material y métodos

DPSIR

El esquema DPSIR considera un modelo en el que determinadas fuerzas motrices (*driving forces*) son las causantes de las presiones que están perturbando el estado del medio ambiente. Esta perturbación presenta un impacto sobre el entorno y el ser humano, al cual la sociedad debe dar respuesta adoptando medidas para poder corregir, mitigar o compensar dicho impacto (Martín-Ortega *et al.*, 2008). La Figura 1 ilustra el esquema de análisis DPSIR recomendado por la Agencia Europea de Medioambiente (Kristensen, 2004) para este trabajo, ejerciendo como "Fuerza" la actividad ganadera de vacuno lechero intensiva en la comarca de Los Pedroches.

Además, en la planificación hidrológica (BOE, 2008) se recomienda la elaboración de un ACE de las medidas, valorando la reducción de los impactos y permitiendo el empleo de las 'Presiones' como indicador cuando la determinación del impacto no sea posible, como en el caso de estudio. Por lo tanto, se elaborará un ACE de la reducción de presiones.

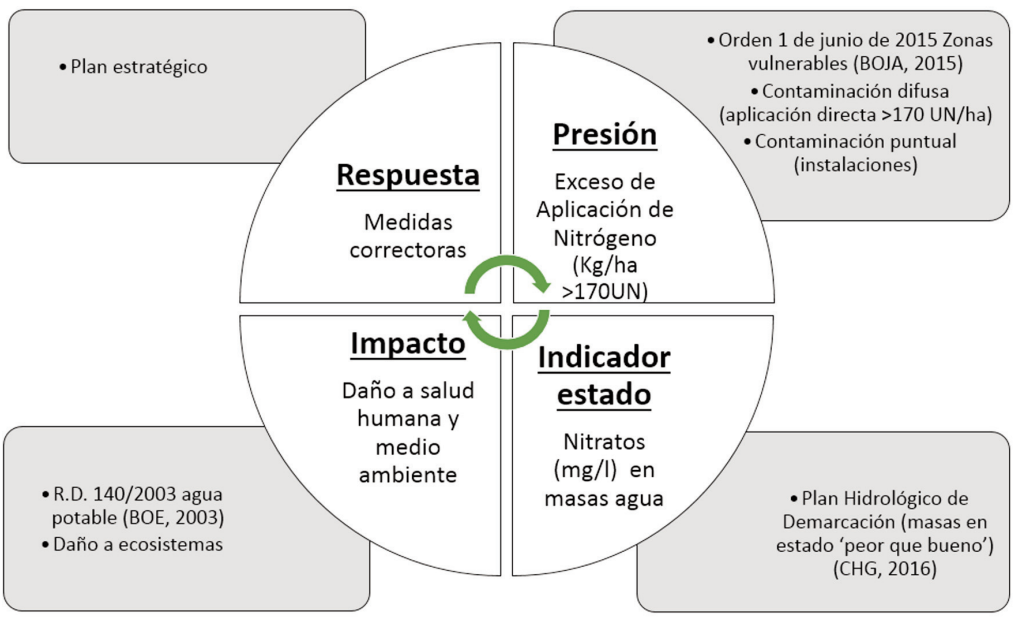


Figura 1. Esquema DPSIR de contaminación por actividad ganadera. Elaboración propia.
Figure 1. DPSIR scheme of contamination by livestock activity. Own elaboration.

Indicadores de estado

El exceso de nitrógeno generado por la deficiente gestión de los subproductos ganaderos genera a su vez un exceso de este nutriente en las masas de agua superficiales y subterráneas. El indicador de estado más utilizado es la concentración en mg/L de nitratos. Este indicador se emplea para definir las masas de agua como en buen o mal estado que aparecen en el Plan Hidrológico de Demarcación y que según la DMA deberían estar todas en estado bueno o muy bueno en el horizonte 2027 (DOCE, 2000). En la co-

marca de Los Pedroches el Plan Hidrológico que impera es el Plan Hidrológico del Guadiana (P.H.G.) (CHG, 2016).

Según el P.H.G. 2015-2021, las masas de agua superficiales de la comarca están prácticamente todas en estado 'peor que bueno' según muestra la Figura 2.A. (CHG, 2017). Se descarta que el origen de las presiones sea la deficiente depuración de las aguas urbanas, ya que en la comarca la densidad de población es muy reducida y las EDAR funcionan relativamente bien. Por lo que el principal agente contaminador es, necesariamente, la cabaña ganadera, y en especial el vacuno de leche intensivo.

En cuanto a las masas de agua subterráneas de la Demarcación del Guadiana, el 80 % de ellas se caracterizan como en 'mal estado' (Figura 2.B.). La masa de agua subterránea 'Los Pedroches', ubicada en la comarca, forma parte de este porcentaje debido, principalmente, al estado químico analizado. Se clasifica en mal estado por parámetros cuantitativos con valores de concentración en nitratos ([NO_3^-]) altos o muy altos, en cualquier caso, superiores a 50 mg/L NO_3^-, entre los años 2008-2011. Estos datos determinan una valoración final del estado químico respecto al contenido en nitratos de "malo". Igualmente, según la Revisión del 2° ciclo (CHG, 2017) la masa de agua aparece como 'peor que bueno' y por tanto necesitada de la aplicación de medidas correctoras.

A su vez, se pueden observar las masas de agua asociadas a las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos de origen agrario presentes en Demarcación del Guadiana, en concreto la Cuenca del Embalse de La Colada (Figura 2.C.). Se hace patente una fuerte contaminación del sistema acuático en la comarca, lo que pone de manifiesto la necesidad de ejecutar un plan de medidas para disminuir drásticamente la contaminación.

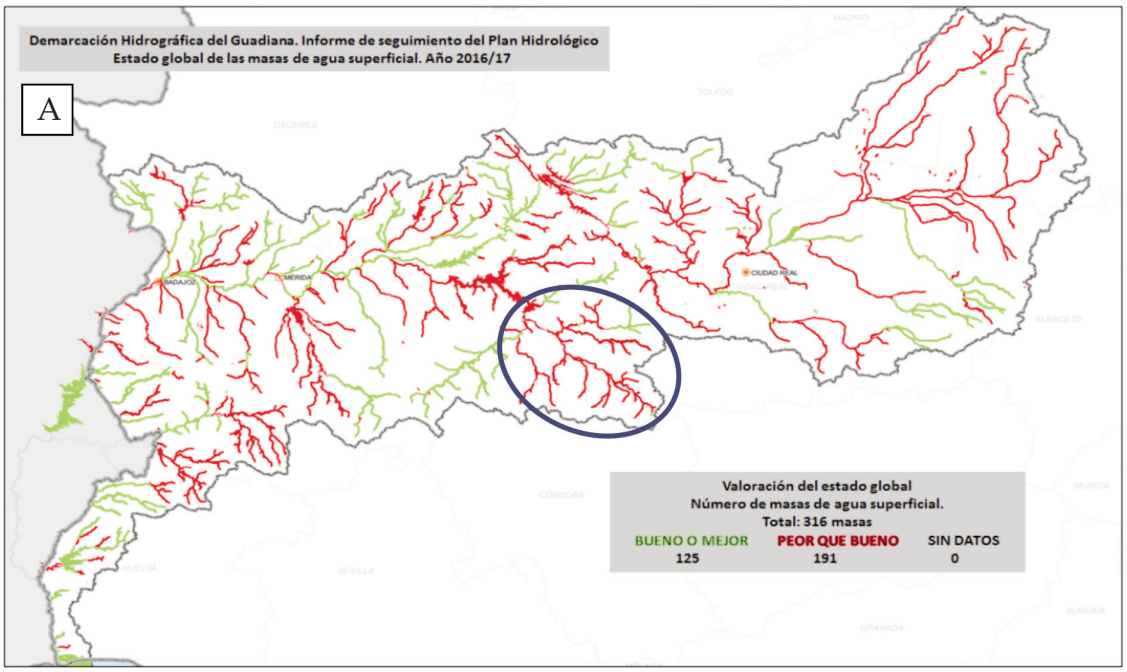
Siguiendo el esquema DPSIR, lo deseable sería elaborar un análisis de las medidas en función de su impacto en la mejora de estos indicadores que miden la reducción de nitratos en masas de agua. Pero por la dificultad de acometer este tipo de análisis, el trabajo se ha centrado en la reducción de las presiones (exceso de N aplicado o lixiviado).

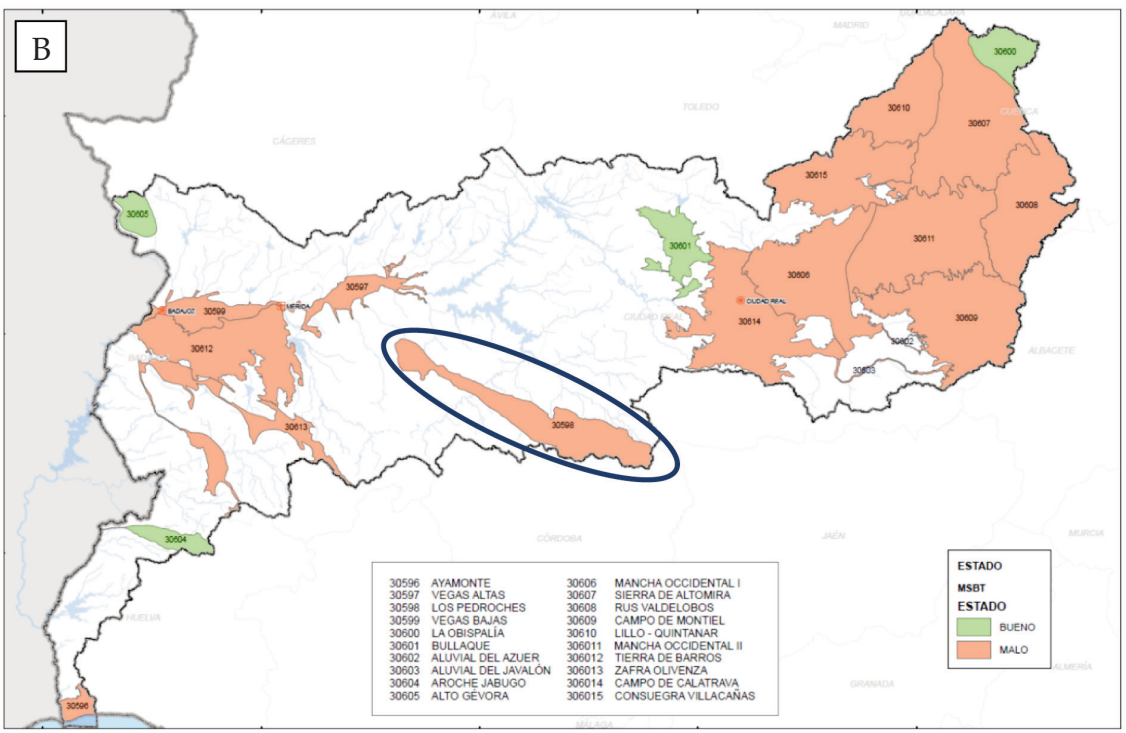
Indicadores de presión

En el análisis de las presiones en la comarca se van a diferenciar entre la contaminación difusa y la contaminación puntual, respecto al nitrógeno lixiviado en el subsuelo que termina en la red hídrica de la comarca. De ambas fuentes, la que presenta más problemática a la hora de controlar es la contaminación difusa, por lo que habrá que hacer más hincapié en las medidas encaminadas a examinar este tipo de contaminación.

La fertilización nitrogenada aplicada a los suelos y cultivos agrarios, tanto abonos químicos como subproductos ganaderos, genera anualmente un excedente total estimado de 23.382 t/año de N (valor medio de 2005), en forma de NO_3^-, NH_4^+, etc. en las comarcas del sur de la provincia de Badajoz y del norte de Córdoba (Los Pedroches) (CHG, 2016, Anejo 5). En este trabajo se ha estimado que en la comarca se pueden llegar a lixiviar hasta 3.171 t/año de N sólo procedente del vacuno de leche.

La concentración de nitratos se ha incrementado progresivamente hasta superar las concentraciones de 40 mg/L y 50 mg/L, considerados como límites en la determinación de masas de agua en riesgo y afectadas por la contaminación por nitratos, respectivamente. El P.H.G. (2015-2021) estima que hay un 44 % de aguas superficiales con alto riesgo de no alcanzar el buen estado en 2021, entre las que se encuentran el Embalse de La Colada y los ríos adyacentes, así como un 85 % de las aguas subterráneas, entre ellas, la masa de Los Pedroches (CHG, 2016).


Demarcación Hidrográfica del Guadiana. Informe de seguimiento del Plan Hidrológico
Estado global de las masas de agua superficial. Año 2016/17
A
Valoración del estado global
Número de masas de agua superficial.
Total: 316 masas
BUENO O MEJOR
125
PEOR QUE BUENO
191
SIN DATOS
0


B
30596 AYAMONTE
30597 VEGAS ALTAS
30598 LOS PEDROCHES
30599 VEGAS BAJAS
30600 LA OBISPALÍA
30601 BULLAQUE
30602 ALUVIAL DEL AZUER
30603 ALUVIAL DEL JAVALÓN
30604 AROCHE JABUGO
30605 ALTO GÉVORA
30606 MANCHA OCCIDENTAL I
30607 SIERRA DE ALTOMIRA
30608 RUS VALDELOBOS
30609 CAMPO DE MONTIEL
30610 LILLO - QUINTANAR
306011 MANCHA OCCIDENTAL II
306012 TIERRA DE BARROS
306013 ZAFRA OLIVENZA
306014 CAMPO DE CALATRAVA
306015 CONSUEGRA VILLACAÑAS
ESTADO
MSBT
ESTADO
BUENO
MALO

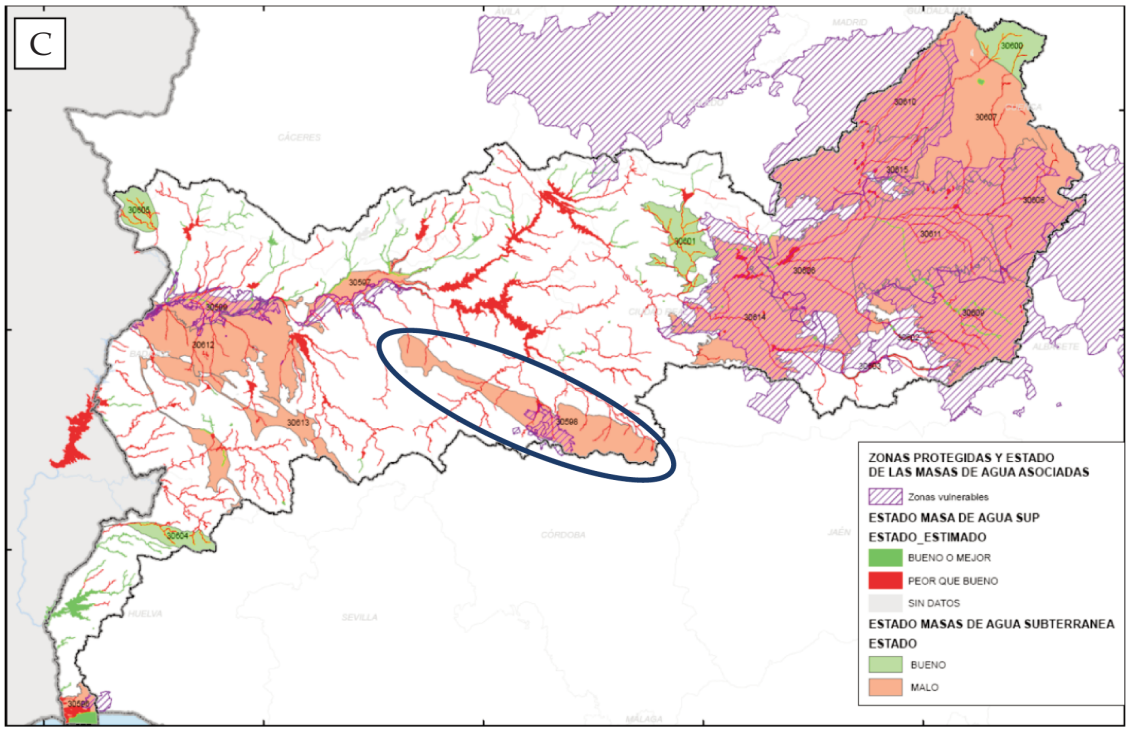


Figura 2. A. Estado en masas de agua superficial (CHG, 2017). B. Estado en masas de agua subterráneas (CHG, 2016, Anejo 9). C. Estado en masas de agua asociadas a zonas vulnerables (CHG, 2016, Anejo 9). NOTA: zona señalada donde se ubica el área de estudio, la masa agua subterránea Los Pedroches y la Zona Vulnerable Cuenca del Embalse de la Colada.
Figure 2. A. State surface water bodies (CHG, 2017). B. State groundwater bodies (CHG, 2016, Anexx 9). C. State bodies of water associated with vulnerable areas (CHG, 2016, Anexx 9). NOTE: designated area where the study area is located, Groundwater mass Los Pedroches and Vulnerable Zone of the Colada Reservoir Basin.

Según los trabajos de seguimiento del P.H.G. (2015-2021) en el año 2017 (CHG, 2017), se han descrito impactos de tipo NUTR (impactos por la contaminación por nutrientes de N procedentes de agricultura y ganadería). En las masas de agua superficiales, debe señalarse el río Guadarramilla (en el área de estudio) con un excedente acumulado de 208 t/año, declarándose un impacto por contaminación por nutrientes que supera el umbral significativo de 115 t/año. Para aguas subterráneas, el umbral de excedente de N a partir del cual aparecen impactos de tipo NUTR se ha fijado en 2,25 kg/ha, valor superado en la masa subterránea de Los Pedroches con 3,62 kg/ha.

Los indicadores de presión puntual y difusa por el exceso de N se recogen en la tabla 1. No obstante, debido a la dificultad que comprenden algunas de las mediciones en campo, principalmente por la contaminación difusa, se va a utilizar como indicador de presión el nitrógeno lixiviado (toneladas de N/año) a través de los indicadores I2 e I3.

Tabla 1. Indicadores de presión por exceso de nitrógeno.
Table 1. Pressure indicators for excess nitrogen.

Indicador	Descripción
I1) Balance de nitrógeno en la superficie del suelo (Windolf *et al.*, 2012).	Estudio del ciclo del N en las aportaciones al suelo y en su retirada con la cosecha de los cultivos, para adecuar dichas aportaciones y evitar los excedentes.
I2) Eficiencia del uso de N en estiércol (Windolf *et al.*, 2012).	Estudio de un manejo adecuado del estiércol tanto en las explotaciones ganaderas como en su destino final o tratamiento.
I3) Eficiencia del uso de purines (Windolf *et al.*, 2012).	Estudio de un manejo adecuado del purín tanto en las explotaciones ganaderas como en su destino final o tratamiento.
I4) Isotopos estables de N (Koh *et al.*, 2010).	Evaluación cuantitativa de la disminución de la concentración de nitrato en agua subterránea a través de la medición de isotopos estables de nitrógeno.
I5) Concentraciones NO_3 en masas de agua (CHG, 2016, Anejo 9).	Estudio de la concentración mg/L de nitratos en las masas de agua para su cumplimiento con los máximos establecidos por la legislación.
I6) Grado de eutrofia en masas de agua superficiales (Dupas *et al.*, 2015).	Estudio del grado de eutrofia de las masas de agua superficiales; para poder determinar su contaminación o no por exceso de nutrientes.
I7) Porcentaje de masas de agua afectadas por presiones significativas (CHG, 2016, Anejo 9).	Evaluación cuantitativa del número y porcentaje de masas de agua que están afectadas por presiones significativas en relación a la contaminación por nitratos de origen agrario y ganadero.

Medidas y eficacia

Las medidas adoptadas, así como la eficacia de las mismas, se basan en la investigación de informes técnicos, estudios y ensayos previos de otros trabajos. Las medidas serán diferenciadas según sea el origen de la fuente de contaminación, difusa o puntual. Y la eficacia será definida como la capacidad que tiene cada medida para reducir la cantidad de N que es lixiviado hacia las masas de agua. La eficacia de cada medida se calcula como un porcentaje, que hace referencia a la capacidad para disminuir la lixiviación de nitrógeno si se llega a aplicar la medida. Este porcentaje está referenciado a un estado basal del sistema donde no se toma ninguna medida para disminuir la lixiviación de N.

Destacar que ambos bloques de medidas serán estudiados en el análisis coste-eficacia.

A continuación, se ha realizado un estudio de la variación de la reducción total del N lixiviado procedente del vacuno de leche intensivo para toda la comarca cuando se aplican las medidas correctoras. Se parte de la base de que en el estado actual (*baseline*) se podría estar lixiviando 3,1 millones de UN (kg N/año) aproximadamente. Aplicando las distintas medidas de control de contaminación de origen difuso (D) y puntual (P) propuestas en el sistema, se reduce la cantidad

de lixiviación de N, traduciéndose como reducción total de N entendida como 'reducción de presión'. Así mismo, se han analizado medidas combinadas (C), aunando varias medidas en una sola. Las denominaciones de las medidas y la reducción de presión quedan recogidas en el Anexo I del material complementario.

Medidas para reducir la contaminación difusa

La ganadería en áreas con una alta concentración ganadera y con una superficie agrícola insuficiente para distribuir las deyecciones debe precisar actuaciones especiales para poder gestionar el exceso de nutrientes. Por ello, es fundamental disponer de un sistema de control eficaz de las prácticas de aplicación directa (AD). Se asume que no se permite la aplicación con sistemas de 'abanico' o plato ni cañones, métodos prohibidos por el Real Decreto 980/2017, de 10 de noviembre, por el que se modifican los Reales Decretos 1075/2014, 1076/2014, 1077/2014 y 1078/2014, todos ellos de 19 de diciembre, dictados para la aplicación en España de la Política Agrícola Común (BOE, 2017). En su lugar, se debe realizar la inyección de purines en suelo y los estiércoles sólidos deberán enterrarse después de su aplicación en el menor plazo de tiempo posible. En la Tabla 2 quedan recogidas las medidas a adoptar para disminuir la contaminación difusa de nitratos en la zona de estudio (información de cada medida ampliada en el Anexo II del material complementario).

Tabla 2. Medidas para disminuir la contaminación difusa de nitratos y eficacia en la reducción de presiones (nitrógeno lixiviado).
Table 2. Measures to reduce diffuse nitrate contamination and efficiency in pressure reduction (leached nitrogen).

Medida	Eficacia (%)
D1) Control de la aplicación directa en parcela de purines mediante un sistema de localización GPS y registro 'on-line' (Consejería Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de Andalucía, 2017)	40
D2) Humedales construidos (Ockenden *et al.*, 2012)	40
D3) Plantación de biofiltros vegetales (Farías Morán, 2017)	90
D4) Mejora del manejo de fertilizantes (Quemada *et al.*, 2013)	50
D5) Uso de cultivos de cubierta: reemplazar barbecho por CC no-leguminosa (Quemada *et al.*, 2013)	50
D6) Mejora tecnología de fertilizantes: inhibidores de la nitrificación (Quemada *et al.*, 2013)	25
D7) Mejores técnicas disponibles en el esparcimiento de purines (sistema de tubos colgantes) (MAPAMA, 2017)	25
D8) Mejores técnicas disponibles en el esparcimiento de purines (sistema de inyección y enterrado) (MAPAMA, 2017)	35
D9) Mejora en el manejo del agua en las necesidades del cultivo (Quemada *et al.*, 2013)	80
D10) Mayor capacidad de almacenamiento de purín (9 meses) (Windolf *et al.*, 2012)	50
D11) Uso de bioactivantes en estiércol y purines (web Penergetic, 2020)	30

Medidas para reducir la contaminación puntual

Para la contaminación puntual, las medidas a tener en cuenta deberán ser aplicadas en las explotaciones ganaderas, en las plantas de tratamiento o en los puntos donde puede producirse una contaminación puntual. En la Tabla 3 quedan recogidas las medidas a adoptar para disminuir la contaminación puntual de nitratos en la zona de estudio (información de cada medida ampliada en el Anexo II del material complementario).

Tabla 3. Medidas para disminuir la contaminación puntual de nitratos y eficacia en la reducción de presiones (nitrógeno lixiviado).
Table 3. Measures to reduce point nitrate contamination and efficiency in pressure reduction (leached nitrogen).

Medida	Eficacia (%)
P1) Implantación de un Sistema de Gestión Ambiental (MAPAMA, 2017)	40
P2) Cisterna flexible para purines (MAPAMA, 2017)	100
P3) Mejor gestión de efluentes en granja (Doole *et al.*, 2013)	25
P4) Almacenamiento y cubrición (MAPAMA, 2017)	100
P5) Separación S/L (MAPAMA, 2017)	20
P6) Impermeabilización explotación (MAPAMA, 2017)	100
P7) Adecuación balsas almacenamiento (MAPAMA, 2017)	100
P8) Compostaje pilas volteadas o compostaje básico (Tchobanoglous *et al.*, 1996; Floats *et al.*, 2004; MAGRAMA, 2015)	40
P9) Compostaje pilas estáticas aireadas sin cubierta (Tchobanoglous *et al.*, 1996; MAPAMA, 2017)	40
P10) Compostaje pilas estáticas aireadas con cubierta (Tchobanoglous *et al.*, 1996; MAPAMA, 2017)	50
P11) Compostaje vertical (web Traco Iberia S.L., 2020)	70
P12) Vermicompostaje (Lobo, 2014)	40
P13) Digestión anaerobia (Tchobanoglous *et al.*, 1996; Floats *et al.*, 2004; MAGRAMA, 2015)	40
P14) Cambio dieta ganado, alimentos bajos en proteínas (MAPAMA, 2017)	30
P15) Acidificación purín (MAGRAMA, 2015) (MAPAMA, 2017)	25
P16) Pirólisis (MAGRAMA, 2015)	50
P17) Catálisis enzimática (Howard *et al.*, 2003; Arellano, 2015)	10
P18) Nitrificación-desnitrificación (Floats *et al.*, 2004; MAGRAMA, 2015)	80
P19) Disminución purín mediante energía solar (web proyecto SOLARPUR, 2020)	70

Análisis coste-eficacia

Una vez que se han seleccionado un conjunto amplio de medidas para gestionar las fuentes difusas y puntuales en el sistema de estudio, y habiéndose determinado su eficacia en la reducción de la lixiviación de N, se procede al Análisis ACE (Berbel *et al.*, 2011). En primer lugar, se tienen en cuenta los costes directos de las medidas (entre los que se incluyen los costes de inversión anualizados), el coste de mantenimiento y otros costes económicos, aplicando un interés del 6 % con un plazo de amortización de 20 años, calculados con la siguiente fórmula:

$$CAE = K \cdot \alpha_{n,r} + COyM \Leftrightarrow CAE = I \cdot \alpha_{n,i} + COyM + \Delta R$$

donde:

CAE = Coste anual equivalente.

K = Coste anual equivalente del Pago de Inversión.

I = Inversión en equipos, infraestructuras, obra civil, etc.

$\alpha_{n,i}$ = factor de amortización e intereses anual, para un periodo n, a una tasa de descuento i.

COyM = Coste de operación y mantenimiento (recurrente).

R = Ganancia o reducción de costes, o pérdida neta de renta o aumento de costes.

Las dos definiciones del CAE se deben a que a consecuencia de la aplicación de unas medidas concretas se van a obtener productos comercializables (por ejemplo, compost y biogás) de los cuales se obtienen unos ingresos. En cambio, otras medidas no suponen la generación de estos productos, por lo que no se puede aplicar el parámetro R en la fórmula, teniéndose solo en cuenta en el cálculo del CAE la inversión y los costes de operación y mantenimiento.

El parámetro R se obtiene aplicando el rendimiento de la técnica para la obtención del producto comercializable y el precio de mercado de ese producto, lo que se traduce en ingresos de la venta. La diferencia entre CAE (inversión y COyM) y los ingresos de la venta, será el Coste Neto Total.

Finalmente, para ambos tipos de medidas, se divide el valor de CAE total o Coste Neto Total entre las toneladas tratadas (estiércol o purín, dependiendo del tipo de residuo) para obtener el valor de la aplicación de la técnica o medida en EUR/tonelada residuo tratado (Véase Anexo II del material complementario para visualizar los cálculos del CAE en cada medida).

Siguiendo con el esquema de la Instrucción del Plan Hidrológico (IPH) aprobado por la Orden ARM/2656/2008 (BOE, 2008), para cada medida que se incluya en el estudio, conocido su coste y su eficacia, se calculará el índice coste-eficacia. Este índice se calcula como el cociente entre el CAE de la medida y la mejora conseguida en la reducción de la presión (Anexo I del material complementario.).

Por último, se ordenarán las medidas estudiadas de menor a mayor índice coste-eficacia y se seleccionarán aquellas que teniendo un menor índice presenten una mayor reducción de la presión total (UN no-lixiviado/año). Las medidas que han resultado ser coste-eficaces son las que se encuentran en el conjunto eficiente o frontera coste-eficacia de reducción de las presiones. La Figura 3 ilustra la línea (frontera eficiente) que une las soluciones no dominadas (puntos que están en la frontera o conjunto eficiente) para soluciones puras, mixtas (señaladas por un punto) o bien para la combinación de estas (segmento que une los puntos de cada alternativa). Las medidas dominantes serán las más efectivas cuando para el mismo coste consigan una mayor reducción de presiones que las dominadas o bien las que consigan idéntica reducción de presión a menor coste que las medidas dominadas (Romero, 1993). En definitiva, se trata de determinar aquellas

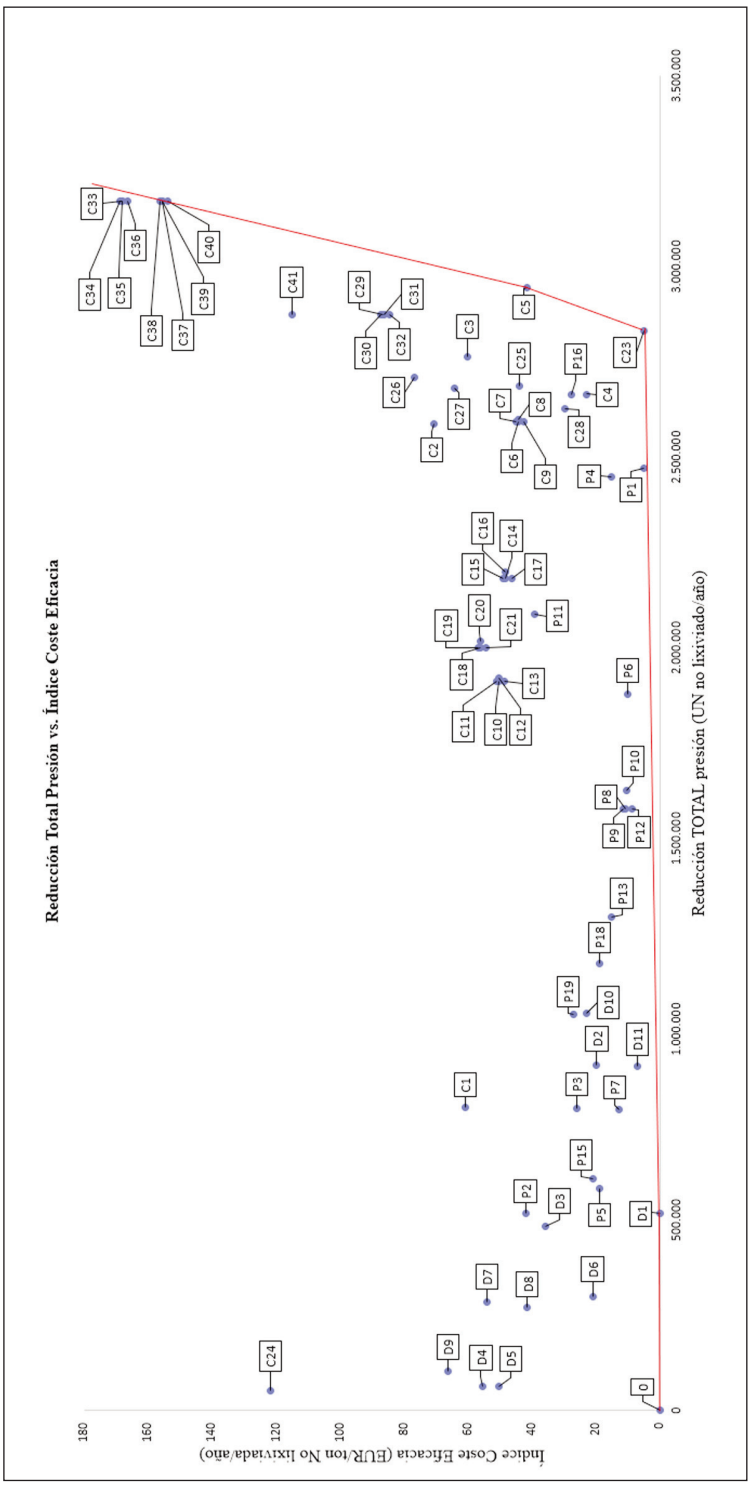


Figura 3. Gráfico resultante del estudio análisis coste-eficacia en la reducción de presión del nitrógeno lixiviado. Elaboración propia.
Figure 3. Graph resulting from the study cost-effectiveness analysis in pressure reduction of leached nitrogen. Own elaboration.

medidas o alternativas que resultan más racionales para minimizar el coste, es decir el empleo de recursos económicos para un mismo nivel de satisfacción de las metas.

Resultados y discusión

Del gráfico resultante del estudio ACE en la Figura 3 se extrae que las medidas D1, P1, C5, C23, C37, C38, C39 y C40 serían las más coste-eficaces para la reducción de presiones por contaminación de subproductos ganaderos. De hecho, las medidas que abarcan desde C37 hasta C40 presentan una reducción total de la lixiviación del nitrógeno estimada en todo el sistema de la comarca de Los Pedroches para la ganadería de vacuno lechero. Así mismo, indicar que las medidas P14 y P17 han sido excluidas del gráfico debido a que presentan un CAE fuera de rango por su baja eficacia.

El ACE efectuado ha dado como resultado una serie de medidas que deberán ser llevadas a cabo en un futuro para mejorar el impacto sobre las aguas superficiales y subterráneas procedente del uso de los subproductos ganaderos de vacuno. Estas medidas serán:

- La implantación de una aplicación (APP) para el control de la aplicación directa en campo (D1).
- La implantación de un Sistema de Gestión Ambiental en las explotaciones para certificar que la gestión de los subproductos ganaderos se está llevando a cabo siguiendo unos estándares de calidad (P1).
- Las dos medidas anteriores combinadas (C23).
- Las medidas combinadas de utilización de un separador sólido/líquido, la impermeabilización de la zona donde se acumule el estiércol en la explotación y la adecuación e impermeabilización de las balsas de purines o del total de los subproductos (C5).
- Y todas las medidas anteriores combinadas añadiendo además: la modernización de la maquinaria para la aplicación directa con un sistema de inyección y enterrado, el uso de cisternas flexibles para el almacenamiento de purines en épocas de lluvias, una planta de compostaje para el tratamiento de estiércol (compostaje básico, compostaje avanzado con aireación forzada sin cubierta, compostaje avanzado con aireación forzada con cubierta o vermicompostaje) y una planta de digestión anaerobia para el tratamiento de purines (C37, C38, C39 y C40).

Además, se podrían señalar otras medidas como recomendadas o voluntarias para el ganadero, que también resultan tener un coste-eficacia adecuado, aun sin situarse en la frontera (Figura 3), quedan en una situación muy próxima:

- Uso de bioactivantes en estiércol y purines, para mejorar el producto fertilizante resultante como compost y digestato (D11).
- Impermeabilización de balsas de purines y cubrición con geotextil, que reducirá la emisión de amoníaco y evitará la contaminación puntual y la dilución del material con el agua de lluvia (P4).
- Cámara de compostaje vertical (P11), que, aunque resulte una tecnología más cara, presenta una mayor eficiencia, mayor rendimiento y menor tiempo en la producción del producto y se podrían usar purines hasta un 20 % del material a tratar en conjunto con el estiércol.

Los ganaderos deberán asumir el coste de las mejoras e instalaciones que se realicen en su propia explotación, como por ejemplo las medidas P1 y C5. Las medidas que implican un tratamiento colectivo o global de los subproductos, como las plantas de tratamiento de compostaje o digestión anaerobia, y la implantación de una APP implicarán costes que

tendrán que ser asumidos por cooperativas de los ganaderos de la comarca que pueden contar con subvenciones administrativas, o bien, por empresas externas que se beneficien de la gestión de los subproductos ganaderos.

Para una mejor visualización de como resultaría la gestión ideal de los subproductos generados en las explotaciones de vacuno de leche objeto de estudio, se ha representado en un esquema (Figura 4) las medidas resultantes como obligatorias y recomendadas a llevar a cabo en un futuro próximo. Se incluyen las medidas resultantes como más coste-eficaces del análisis ACE, ya que se asume que la implantación de estas medidas repercutirá tanto ambiental como económicamente en la comarca. La gestión de los subproductos empezaría con una separación de la parte sólida y líquida de los subproductos, mejorando el tratamiento a posteriori. El almacenamiento de los subproductos será impermeabilizado para evitar la contaminación a través del subsuelo. La parte sólida podrá tener 3 fines: compostaje, cama para ganado y aplicación directa en campo. Y los purines tendrán dos fines: digestión anaerobia y aplicación directa. Ambas aplicaciones en campo estarán controladas por la APP, reduciendo al máximo la sobrefertilización.

Destacar que las medidas propuestas están enfocadas en revalorizar los subproductos de las explotaciones ganaderas utilizándolos para crear un producto fertilizante (compost y digestato) y un producto energético (biogás) englobados ambos como energía verde por su origen en la biomasa. Esto hace del esquema propuesto una apuesta de futuro en un sistema sostenible, tanto ambiental como socioeconómico, y de autogestión por parte de los ganaderos y los agricultores de la comarca y/o de zonas de demanda de fertilizantes.

Las granjas de vacuno de leche son un importante contribuyente a la lixiviación de nitratos y la economía regional, por lo que tendrán que modificar las prácticas actuales para revertir esta tendencia a través de medidas como las que se incluyen en este estudio (Doole *et al.*, 2013). No obstante, la clave para una primera reducción eficaz de la lixiviación de nitrógeno con procedencia agrícola estará principalmente en un control y mejora del manejo de los fertilizantes y del agua en la agricultura (Quemada *et al.*, 2013), de ahí que las fertilizaciones orgánicas deban ser controladas desde su origen.

Con la aplicación de las medidas aquí propuestas, se reducirían las presiones causadas por el exceso nitrogenado tanto en la aplicación directa como por contaminación puntual. La contaminación por nitrógeno procedente de la cabaña intensiva del vacuno lechero sería prácticamente inexistente en esta región, logrando el objetivo principal del proyecto. El indicador de estado del esquema DPSIR, la concentración de nitratos en mg/L en masas de agua, mejoraría sensiblemente a corto y medio plazo cumpliendo con la legislación ambiental nacional y europea. Este hecho enlazaría con una mejora del entorno natural y social de la comarca.

El siguiente paso sería la elaboración de un análisis territorial y de viabilidad económica para tomar la mejor decisión en la implantación de plantas de tratamiento de compostaje y digestión anaerobia en la comarca, cuyo fin será el tratamiento del estiércol y del purín. Además, los ganaderos deberán seguir las directrices para implantar y ejecutar las otras medidas en las propias explotaciones y a nivel comarcal. Por último, se plantearía un estudio estratégico en el que se elaboraría una propuesta para resolver el problema conociendo el coste y el análisis territorial de las opciones elegidas.

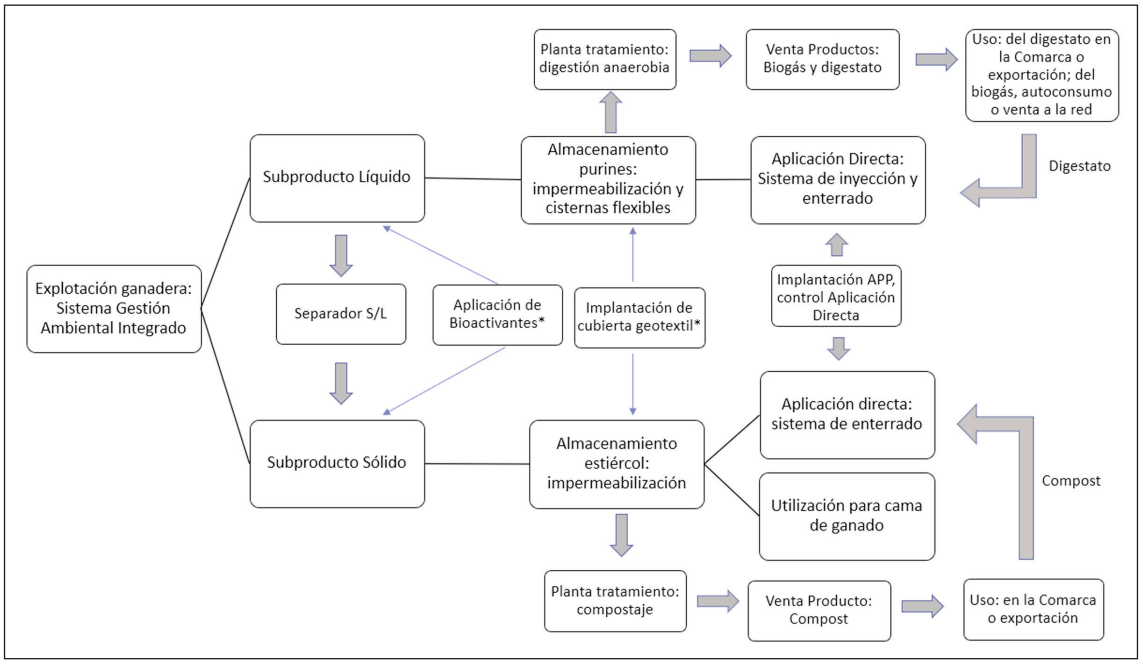


Figura 4. Esquema general propuesto de la gestión de subproductos ganaderos de vacuno intensivo de leche en la comarca de Los Pedroches. Elaboración propia.

*Medidas propuestas como recomendadas o voluntarias.

Figure 4. General scheme proposed for the management of livestock by-products of intensive milk cattle in Los Pedroches region. Own elaboration.

**Measures proposed as recommended or voluntary.*

Conclusiones

El estudio que se ha presentado demuestra que es posible aplicar las herramientas económicas propuestas por la Directiva Marco de Aguas, en concreto el esquema DPSIR y el análisis coste-eficacia para la mejora de la sostenibilidad de los sistemas ganaderos. En concreto para la reducción del impacto ambiental originado por la mala gestión de los subproductos que deriva en una contaminación de las aguas por nitrógeno y otros elementos. La aplicación de esta metodología permite seleccionar las mejores técnicas desde el punto de vista económico y teniendo en cuenta la eficacia en reducción de la contaminación por nitrógeno. Aplicando las medidas seleccionadas a través del análisis coste-eficacia, se reducirán las presiones por el exceso nitrogenado en las masas de agua de la comarca, lo que repercutirá positivamente en los sucesivos estudios de los planes hidrológicos de la Demarcación del Guadiana.

Primeramente, se deben establecer más controles en las ganaderías y garantizar la buena gestión y almacenamiento de los subproductos dentro de la propia explotación, evitando la contaminación en el origen. Para ello se debe garantizar la impermeabilización de los espacios de almacenamiento, balsas bien dimensionadas e impermeabilizadas. Igualmente, se deben hacer respetar los códigos de buenas prácticas agrarias y la legis-

lación pertinente en esta materia, asegurando una aplicación directa en campo en los momentos más adecuados y con las mejores técnicas disponibles, disminuyendo el riesgo de pérdida de material hacia el entorno.

El análisis de las alternativas de tratamiento y gestión de subproductos ganaderos a nivel comarcal dan como resultado una serie de requerimientos tecnológicos y económicos que deben ser asumidos colectivamente para llevarse a cabo de forma viable. Como, por ejemplo, la implantación de plantas de tratamiento de gestión anaerobia y compostaje para los subproductos ganaderos, con la consiguiente producción de biogás y compost, productos de los cuales se obtenga una rentabilidad económica para el ganadero y para la comarca. Sin embargo, otras medidas deberán ser asumidas por los ganaderos individualmente como el sistema separador sólido/líquido y las cisternas flexibles. Estas nuevas técnicas ayudarán a priorizar la gestión y el tratamiento de la fracción líquida, aumentando la futura valorización de purín y estiércol por separado.

El estudio llevado a cabo en la comarca de Los Pedroches con el vacuno de leche podría ser extrapolado a otras regiones que tengan la misma problemática ambiental con su cabaña ganadera y, a su vez, contribuir positivamente a la economía de la zona a través del tratamiento de los subproductos. Por último, este estudio podría sentar las bases para una colaboración estrecha entre ganaderos, agricultores y las administraciones para trabajar con objetivos comunes: mejora de la calidad ambiental, mejora socioeconómica de los actores de la comarca de Los Pedroches y revalorización de subproductos ganaderos aplicando las mejores técnicas disponibles.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado como parte del proyecto del Grupo Operativo SUBPGAN (Mejora del Manejo, Valorización y Comercialización de Subproductos Ganaderos a través de Innovación), incluido a su vez en el marco del Programa de Desarrollo Rural de Andalucía 2014-2020 (submedida 16.1, operaciones 16.1.1, 16.1.2. y 16.1.3.), al amparo de la Orden de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, de 28 de julio de 2016.

Material complementario

El material complementario de este artículo se puede consultar en la URL:
https://doi.org/10.12706/itea.2021.017

Referencias bibliográficas

Arellano C (2015). Obtención biotenol a partir de materiales lignocelolósicos. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas, Universisdad Veracruzana, Orizaba.

Berbel J, Martin-Ortega J, Mesa P (2011). A cost-effectiveness analysis of water-saving measures for the water framework directive: the case of the Guadalquivir River Basin in Southern Spain. Water Resources Management 25(2): 623-640. https://doi.org/10.1007/s11269-010-9717-6.

BOE (1996). Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. Boletín Oficial del Estado, núm. 61, de 11 de marzo de 1996.

BOE (2003). Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. Boletín Oficial del Estado, núm. 45, de 21 de febrero de 2003.

BOE (2008). Orden ARM/2656/2008, de 10 de septiembre, por la que se aprueba la Instrucción de Planificación Hidrológica. Boletín Oficial del Estado, núm. 229, de 22 de septiembre de 2008, pp. 38472-38582.

BOE (2017). Real Decreto 980/2017, de 10 de noviembre, por el que se modifican los Reales De-

cretos 1075/2014, 1076/2014, 1077/2014 y 1078/2014, todos ellos de 19 de diciembre, dictados para la aplicación en España de la Política Agrícola Común. Boletín Oficial del Estado, núm. 274, de 11 de noviembre de 2017, pp. 108523-108542.

BOJA (2008). DECRETO 36/2008, de 5 de febrero, por el que se designan las zonas vulnerables y se establecen medidas contra la contaminación por nitratos de origen agrario. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía, núm. 36, de 20 de febrero de 2008, pp. 5-15.

BOJA (2015). Orden de 1 de junio de 2015, por la que se aprueba el programa de actuación aplicable en las zonas vulnerables a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias designadas en Andalucía. Boletín Oficial de la Junta de Andalucía, núm. 111, de 11 de junio de 2015, pp. 8-19.

Confederación Hidrográfica del Guadiana (CHG) (2016). Plan Hidrológico Guadiana 2015-2021. Confederación Hidrográfica del Guadiana. Disponible en: https://www.chguadiana.es/planificacion/plan-hidrologico-de-la-demarcacion/ciclo-de-planificacion-2015-2021-vigente/documentos-del-plan-hidrologico (Consultado: 04 abril 2021).

Confederación Hidrográfica del Guadiana (CHG) (2017). Segumiento del Plan Hidrólogico de la parte española de la Demarcación Hidrográfica del Guadiana (2015-2021). Informe resumen del año 2017. Disponible en: https://www.chguadiana.es/sites/default/files/2019-10/Informe_Seguimiento_Plan_Ano_2017.pdf (Consultado: 10 abril 2021).

Confederación Hidrográfica del Guadiana (CHG) (2018). Plan Hidrológico de la Demarcación Hidrográfica del Guadiana. Revisión de tercer ciclo (2021-2027), Documentos Iniciales. Programa, calendario, EGD y fórmulas de consulta. Memoria. Confederación Hidrográfica del Guadiana O.A. Disponible en: https://www.chguadiana.es/sites/default/files/2020-01/ES040_DDII_Memoria.pdf (Consultado: 04 abril 2021).

Consejería Medio Ambiente y Ordenación del Territorio de Andalucía (2017). Plan de trabajo de SUBPGAN: Mejora del Manejo, Valorización y Comercialización de Subproductos Ganaderos a través de Innovación. Junta de Andalucía.

DOCE (2000). Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, núm. 327, de 22 de diciembre de 2000, pp. 1-73.

Doole GJ, Marsh D, Ramilan T (2013). Evaluation of agri-environmental policies for reducing nitrate pollution from New Zealand dairy farms accounting for firm heterogeneity. Land Use Policy 30(1): 57-66. https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2012.02.007.

Dupas R, Delmas M, Dorioz J, Garnier J, Moatar F, Gascuel-Odoux C (2015). Assessing the impact of agricultural pressures on N and P loads and eutrophication risk. Ecological Indicators 48: 396-407. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.08.007.

European Environment Agency (EEA) (2005). EEA core set of indicators, Guide. EEA Technical report No 1/2005 - ISSN 1725-2237. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg. 38 pp.

European Commission (2003). Economics and the environment: the implementation challenge of the water framework directive. A Guidance Document (WATECO). Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg. 274 pp.

Farías Morán J (2017). Uso de biofiltros angostos como medida de mitigación de las pérdidas de nitrógeno en dos suelos de Chile central, cultivados con maíz: tercer año de evaluación. Tesis Pregrado. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Howard RL, Abotsi E, Jansen van Rensburg EL, Howard S (2003). Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. Review. African Journal of Biotechnology 2(12): 602-619. https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1115.

Koh DC, Mayer B, Lee KS, Ko KS (2010). Land-use controls on sources and fate of nitrate in shallow groundwater of an agricultural area revealed by multiple environmental tracers. Journal of Contaminant Hydrology 118: 62-78. https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2010.08.003.

Kristensen P (2004). The DPSIR framework. National Environmental Research Institute, Denmark. 10 pp.

Lobo A (2014). Puesta en funcionamiento de una explotación vermícola. Treball Final de Grau en Enginyeria Agroalimentària i del Medi Rural. Escola Superior de Tecnologia i Ciències Experimentals. Universitat Jaume I, Castellón de la Plana.

Martín-Ortega J, Gutiérrez-Martín C, Berbel J (2008). Caracterización de los usos del agua en la Demarcación del Guadalquivir en aplicación de la Directiva Marco de Aguas. Revista de Estudios Regionales 81: 45-76.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) (2015). Evaluación de técnicas de gestión de deyecciones en ganadería. Sectores de bovino, porcino, avicultura de carne y puesta.

Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) (2017). Guía de las Mejores Técnicas Disponibles para reducir el impacto ambiental de la ganadería. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid, España. 114 pp.

Ministerio para la Transparencia Ecológica (MITECO) (2017). Informe de seguimiento de los planes hidrológicos de cuenca y de los recursos hídricos en España año 2017. Madrid, España. 85-97 pp. Disponible en: https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/planificacion-hidrologica/memoria_infoseg_2017_tcm30-522559.pdf (Consultado: 04 abril 2021)-

Ockenden MC, Deasy C, Quinton JN, Bailey AP, Surridge B, Stoate C (2012). Evaluation of field wetlands for mitigation of diffuse pollution from agriculture: Sediment retention, cost and effectiveness. Environmental Science & Policy 24: 110-119. https://doi.org/10.1016/j.envsci.2012.06.003.

Quemada M, Branski M, Nobel-de Lange MNJ, Vallejo A, Cooper JM (2013). Meta-Análisis de las estrategias para el control de la lixiviación de nitratos en sistemas de regadío y su efecto en el rendimiento del cultivo. XI Jornadas de Investigación en la Zona No Saturada del Suelo, 6-8 Noviembre, Lugo, España, pp. 191-197.

Romero C (1993). Teoría de la decisión multicriterio: conceptos, técnicas y aplicaciones. Alianza Universidad Textos. Madrid. España. 195 pp.

Tchobanoglous G, Theisen H, Vigil S (1996). Gestión integral de residuos sólidos. McGraw-Hill.

Web Penergetic (2020). Disponible en: https://www.penergetic.com/en.penergetic.com/en (Consultado: 25 abril 2019).

Web proyecto SOLARPUR (2020). Disponible en: http://solarpur.ctm.com.es/ (Consultado: 06 mayo 2019).

Web Traco Iberia S.L. Disponible en: https://www.tracoiberia.com/ (Consultado: 30 abril 2019).

Windolf J, Blicher-Mathiesen G, Carstensen J, Kronvang B (2012). Changes in nitrogen loads to estuaries following implementation of governmental action plans in Denmark: A paired catchment and estuary approach for analysing regional responses. Environmental Science & Policy 24: 24-33. https://doi.org/10.1016/j.envsci.2012.08.009.

(Aceptado para publicación el 29 de abril de 2021)

Evaluación de la sostenibilidad de tres sistemas de cultivo de viña característicos de la Región de Murcia

Begoña García-Castellanos, Benjamín García-García y José García-García*

Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Calle Mayor s/n, 30150 La Alberca, Murcia

Resumen

En el presente trabajo se evalúa la sostenibilidad de tres sistemas de cultivo de viña característicos de la Región de Murcia: cultivo en vaso en secano, cultivo en espaldera en regadío para vinos v.c.p.r.d. (vino de calidad producido en una región determinada) y, por último, cultivo en regadío destinado a vino de mesa o a granel. Para ello se realizó el análisis descriptivo económico, social y ambiental de los sistemas mediante las metodologías de análisis financiero y análisis de ciclo de vida. En la situación actual, en la que el sistema de pago mayoritario de la uva para vino es por kilogrados, el sistema de regadío para vinos a granel es el más rentable y el más favorable socialmente, debido a la mayor producción. Sin embargo, considerando la competitividad en base a aspectos de calidad y medio ambientales, los sistemas de cultivo en secano y en regadío para vinos v.c.p.r.d. son los que debieran potenciarse. Ahora bien, para que sean sistemas sostenibles es necesario que la calidad de la uva juegue un papel importante en el sistema de pago, de tal manera que se alcancen unos valores óptimos de rentabilidad que permitan superar la vulnerabilidad económica actual de dichos sistemas.

Palabras clave: Costes, viabilidad, socioeconomía, análisis del ciclo de vida.

Sustainability assessment of three vine cropping systems in the Region of Murcia

Abstract

In this paper, the sustainability of three characteristic vineyard cropping systems in the Region of Murcia was evaluated. More specifically, we analysed vines in dry farming, irrigated trellis for quality wines produced in a specific region and irrigated trellis for table wines. Descriptive economic, social and environmental analyses of these systems were carried out using financial and life cycle analysis methodologies. Currently, where the major payment system for wine grapes is based on the kilogrades, the irrigation system for table wines is the most relevant one in terms of profitability and job creation. However, considering competitiveness, mainly based on quality and environmental aspects, dry farming and irrigated trellis for quality wines are the systems that should be enhanced. Nevertheless, the quality of the grape must play an important role in determining the payment system to achieve the optimal values of profitability. It would make also possible to overcome the current economic vulnerability of these systems.

Keywords: Costs, viability, socioeconomics, life cycle assessment.

* Autor para correspondencia: jose.garcia21@carm.es

Cita del artículo: García-Castellanos B, García-García B, García-García J (2022). Evaluación de la sostenibilidad de tres sistemas de cultivo de viña característicos de la Región de Murcia. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 118(1): 137-157. https://doi.org/10.12706/itea.2021.020

Introducción

La viticultura europea es la primera del mundo en superficie, producción y consumo. No obstante, este liderazgo se ha reducido en los últimos años, tanto por la aparición de nuevos países productores como por las políticas de ajuste promovidas por la UE. España es uno de los grandes productores de vino a nivel mundial, estando a la cabeza en el ranking por superficie plantada (921.642 ha), por delante de Italia y Francia, aunque tercero en términos de producción y en el valor de la misma (OIV, 2019). Esto indica el camino que queda por recorrer tanto en tecnología como en la calidad de los vinos, con la finalidad de elevar los rendimientos y el valor de la producción. El sector vitícola tiene una gran importancia económica a nivel nacional ya que aporta casi el 4,8 % de la Producción de la Rama Agraria (MAPA, 2020). Pero además de este notable peso económico, también posee un significativo valor social y ambiental, debido a la población que fija al territorio rural, así como al papel que desempeña en la preservación del medio ambiente (Ferrer *et al.*, 2020).

El cultivo de viña en la Región de Murcia está localizado en las zonas del Altiplano, Valle del Guadalentín y Noroeste, y queda configurado en tres Denominaciones de Origen (DO): Jumilla, Bullas y Yecla. La superficie de viñedo en 2017 era de 23.313 ha, mientras que en 2009 fue de 35.437 ha (CARM, 2019). Es decir, en 8 años ha habido una reducción de superficie del 34,22 % (12.124 ha), como resultado principalmente del acusado descenso de la superficie destinada a secano (–35,2 %). En el caso del regadío la superficie ha disminuido ligeramente como consecuencia de limitación en la disponibilidad y elevado precio del agua. En cualquier caso, esta situación es resultado principalmente del bajo precio de la uva, que ha supuesto que muchas explotaciones no sean viables (García García, 2016). El principal factor para que esto sea así es el empleo del sistema tradicional de pago por kilogrados, que favorece a las viñas en regadío que tienen una mayor producción, y perjudica a los sistemas de secano que son económicamente más vulnerables, pero, también, a los de riego deficitario controlado (RDC) (Romero Azorín y García García, 2020). El RDC consiste en la reducción de aportes hídricos de forma controlada en aquellos períodos fenológicos en los que un déficit hídrico moderado no afecta sensiblemente a la producción y calidad de la cosecha. Ante esta situación los viticultores han tratado de aumentar los rendimientos, reducir costes y a su vez han ido aumentando el tamaño de las explotaciones con el fin de alcanzar la viabilidad. Este aumento ha tenido lugar de manera progresiva y ha supuesto que la explotación media de viña en Murcia sea la de mayor superficie a nivel nacional (MAPA, 2018).

En otro orden de cosas, el sector agroalimentario se enfrenta a un mercado con una creciente demanda de productos procedentes de sistemas productivos sostenibles. La preocupación de los consumidores respecto a la seguridad alimentaria y al medioambiente ha provocado que por una parte la UE exija unas normas de calidad a los productos y el cumplimiento de unas prácticas respetuosas con el medio (DOUE, 2012). Y por otra, ha estimulado el interés de muchas empresas que están utilizando características socioeconómicas y ambientales como un instrumento para la diferenciación comercial de sus productos. En la senda del desarrollo sostenible deben cambiar los modelos operacionales actuales, disminuyendo el consumo de materias primas y energía, así como minimizando los impactos ambientales. El sector agroalimentario se encuentra entre los sectores económicos más contaminantes (Beccali *et al*., 2009), produciendo alrededor del 10 % de las emisiones europeas de gases de efecto invernadero (EEA, 2012), aproximadamente del 90 % de las emisiones de contaminantes aci-

dificantes y agotando casi el 34 % de los recursos de agua dulce (EEA, 2014). Por este motivo la reducción de los impactos representa el desafío más ambicioso para los países productores y ha sido fuertemente apoyado por la UE (COM, 2019). Ahora bien, dentro de las distintas actividades económicas es probablemente el sector agrícola el que ha experimentado un mayor avance en el campo de la sostenibilidad (Kajikawa *et al*., 2014). El sector vitivinícola nacional y regional está experimentando una evolución significativa frente a los desafíos de la competencia en los mercados internacionales y debe responder a los compromisos de mejorar la sostenibilidad. La Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) en su definición de la vitivinicultura sostenible entiende que se trata de una estrategia global que tiene en cuenta, en todas sus fases productivas, la sostenibilidad económica de un territorio que genera productos de calidad, así como los riesgos medioambientales, la seguridad de los productos y la salud de los consumidores, así como otros aspectos sociales (OIV, 2008).

El objetivo del presente trabajo es analizar la sostenibilidad de tres sistemas de cultivo de viña característicos de la Región de Murcia: a) secano con formación en vaso; b) regadío con formación en espaldera para vinos de calidad producidos en regiones determinadas (v.c.p.r.d); y c) regadío en espaldera para vino granel o de mesa. Para ello, primero se establecieron las tres explotaciones tipo, y segundo se realizó el análisis descriptivo económico, social y ambiental de los sistemas mediante las metodologías de análisis financiero y análisis de ciclo de vida.

Material y métodos

Las zonas de cultivo de uva para vinificación en la Región de Murcia presentan un clima mediterráneo continental. Las precipitaciones son escasas y se caracterizan por su irregularidad, produciéndose mayormente en primavera y otoño. La precipitación media anual en los últimos 20 años, calculada a partir de datos del Sistema de Información Agraria de Murcia (SIAM, 2020), es de 297 mm. Al ser zonas de interior no reciben la influencia del mar, presentando temperaturas más extremas. La estación estival supera con frecuencia los 30 °C, alcanzándose más de 35 °C. Los inviernos son fríos llegando a temperaturas bajo cero. Los suelos son calizos, con baja materia orgánica y con texturas franco-arcillosas y franco-arcillo-arenosas (Romero *et al.,* 2015 y 2018). En la Región, el 96 % de la producción de uva corresponde a variedades tintas, siendo la más extendida la Monastrell que representa el 81 % del total (CARM, 2019). En el sureste español se concentra el 99 % de la superficie nacional de la Monastrell; se trata de una variedad muy localizada y adaptada a las condiciones limitantes edafoclimáticas de este territorio.

Recopilación de datos

Los datos de las explotaciones y los procesos productivos se obtuvieron de varias fuentes. Se realizaron 30 encuestas, efectuadas *in situ* a viticultores de las tres DO, con la colaboración con COAG (Coordinadora de Organizaciones de Agricultores y Ganaderos). Los tamaños de las fincas encuestadas y sus producciones medias son representativas de las explotaciones vitícolas profesionales de la Región (regadío: 5-15 hectáreas y producción media de 7.000-14.000 kg/ha; secano: 12-40 hectáreas y producción media entre 3.000-4.000 kg/ha). También se obtuvieron datos a través de técnicos del sector que trabajan en las Oficinas Comarcales Agrarias y de los Centros Integrados de Capacitación y Experiencias Agrarias. Asimismo, se consultaron datos en la bibliografía relacionada (CE, 2006; MARM, 2010; Fernández Alcázar, 2011; García García *et al*., 2012; García García, 2016; Romero *et al*., 2018; Romero Azorín y García García, 2020).

Explotaciones tipo

De las distintas alternativas productivas de uva para vinificación se seleccionaron tres sistemas de cultivo: a) secano con formación en vaso; b) regadío con formación en espaldera para vinos de calidad producidos en regiones determinadas (v.c.p.r.d); y c) regadío en espaldera para vino granel o de mesa. Las características de las parcelas tipo de cada sistema se muestran en la Tabla 1. La vida útil estimada de la viña de secano es de 30 años, con 2 años de formación e improductivos, y un tercer año de entrada en producción, en el que se considera que la producción es del 50 %. Los 27 años restantes se consideran productivos. En viña de regadío, tanto para vinos v.c.p.r.d. como para vinos a granel, la vida útil coincide en ambos sistemas y es de 25 años, con 1 año de formación e improductivo. El segundo año, la vid entra en producción y se considera que la producción es del 50 %. Los 23 años restantes se consideran totalmente productivos.

Tabla 1. Características generales de los tres sistemas de cultivo de uva para vino.
Table 1. General characteristics of the three vine grape cropping systems.

	Secano en vaso	Regadío en espaldera	
		v.c.p.r.d.	Granel
Vida útil (años)	30	25	25
Parcela tipo (ha)	30	10	10
Maco de plantación (m×m)	2,5×2,5	3,0×1,2	3,0×1,2
Número de cepas/ha	1.600	2.780	2.780
Riego (m^3/ha·año)	–	1.219	2.273
Producción (kg/ha·año)	3.200	8.000	12.000

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

Inversiones

Las inversiones en la viña en secano con formación en vaso comprenden una nave de aperos, las operaciones de la plantación y el material auxiliar (tijeras, aperos, capazos,…). La preparación y plantación del terreno incluye arranque con vertedera de las anteriores cepas, recogida de las mismas, despedregado, refino y nivelación, marcado y plantación de barbados (Tabla 2). Con los barbados ya enraizados se realiza el injertado.

En ambos sistemas de viña en regadío se realizan las mismas inversiones puesto que tanto la dimensión de la explotación como el marco y los activos son muy similares. Corresponden a la nave de aperos y del cabezal, plantación, material auxiliar, cabezal de riego, red de riego, y embalse regulador. Para la preparación del terreno y plantación se llevan a cabo labores de arranque con vertedera de cepas y recogida de las mismas, despedregado, refino y nivelación, marcado y plantación de la viña ya injertada y colocación de espaldera. La espaldera está constituida por un alambre de formación y tres de vegetación. Los postes, tensores, y anclajes son en acero galvanizado, y los alambres son

Tabla 2. Consumo de factores asociados a la inversión (ha) y al ciclo anual de producción (ha y año).
Table 2. Consumption of factors associated with investment (ha) and the annual production cycle (per ha and year).

	Secano en vaso	Regadío en espaldera	
		v.c.p.r.d.	Granel
		Inversión	
Nave de aperos (m^2)	50,00	80,00	80,00
Preparación y plantación			
Maquinaria (h)	27,50	29,50	29,50
Diésel (L)	485,48	514,86	514,86
Embalse de riego (m^3)	–	504,72	977,10
Cabezal de riego (m^3/h)	–	50,00	50,00
Red de riego (tubería PBD, m)	–	3.400	3.400
Espaldera (metales, kg)	–	2.213	2.213
Estiércol (kg)	3.000	–	–
		Medios de producción	
Labores			
Maquinaria (h)	–	11,25	12,25
Diésel (L)	86,90	165,26	179,95
Agua y energía			
Agua de Riego (m^3)	–	1.219	2.273
Electricidad (Kw x h)	–	156,56	300,90
Fertilizantes			
Unidades de fertilización (Uf)	19-9-21-11-28	40-20-60-16-0	60-30-90-24-0
Estiércol (kg)	3.000,00	–	–
Nitrato de magnesio (kg)	–	100,00	150,30
Nitrato de potasio (kg)	–	130,40	185,6
Nitrato amónico (kg)	–	35,80	53,9
Ácido fosforito (kg)	–	24,00	36,1
Quelato de hierro (kg)	–	2,80	4,20
Ácidos húmicos y fúlvicos (kg)	–	5,60	8,30
Fitosanitarios			
Azufre (kg)	80,50	16,00	16,00
Bacillus thuringiensis (kg)	0,75	–	–
Aceite parafínico (kg)	–	10,00	10,00
Oxicloruro de cobre (kg)	–	8,00	8,00
Clorpirifos (kg)	–	2,00	2,00
Abamectina (kg)	–	1,00	1,00
Insecticida (kg)	–	2,00	2,00
Glifosato (L)	–	4,00	4,00

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

de zinc-aluminio. El cabezal de riego se dimensiona en función del caudal requerido por los emisores y del tamaño de la explotación. La red de riego se dimensiona del mismo modo con tuberías de polietileno de baja densidad (PE BD) y goteros autocompensantes de caudal 4 l/h. El embalse se dimensiona teniendo en cuenta el mes de máxima demanda hídrica y con capacidad para almacenar la mitad del agua de ese mes (Tabla 2).

Medios necesarios para cada ciclo anual de producción

- Seguro de la producción: El coste del seguro es una prima sobre la producción estimada, con la cobertura más común (pedrisco 0,024 €/kg).
- Poda: El rendimiento de poda varía los primeros años hasta establecerse un rendimiento constante a partir del tercer año por entrada en producción y poda anual regular. En los sistemas de regadío además de la poda invernal también se realiza una poda en verde. Tras la poda, se realiza un triturado de la leña en las calles.
- Maquinaria: En secano, ésta es utilizada en labores de arado, tratamientos fitosanitarios, fertilización orgánica (cada 4 años), el triturado y el apoyo a la recolección. En regadío, las labores que requieren de maquinaria son la siega de calles y la aplicación de herbicida en las filas, los tratamientos fitosanitarios, el triturado y el apoyo a la recolección. El abonado se lleva a cabo mediante fertirrigación.
- Fertilizantes: Los programas de fertilización se han desarrollado en base a datos extraídos de las encuestas, que se contrastan con recomendaciones realizadas por MARM (2010). En el cultivo en secano es usual aplicar cada 4 años 12.000 kg/ha de estiércol de ovino/caprino, con un equilibrio 19-9-21-11-28. En regadío se realiza fertirrigación con abonos minerales, quelato de hierro, ácidos húmicos y fúlvicos. En regadío v.c.p.r.d. el equilibrio es 40-20-60-16-0, y en regadío granel el equilibrio es 60-30-90-24-0 (Tabla 2).
- Fitosanitarios: Tanto en cultivo de secano como en regadío se aplican cuatro tratamientos anuales. El gasto medio de caldo en tratamientos de secano es de 800-900 l/ha, mientras que en espaldera en regadío es de 1.000-1.200 l/ha (Tabla 2).
- Herbicidas: En secano las malas hierbas se eliminan mediante laboreo. En regadío se realizan dos tratamientos al año durante el periodo vegetativo (Mayo-Septiembre).
- Recolección: Se realiza manualmente y se dispone de tractor con remolque para el transporte de la uva a la bodega. Se incluye la mano de obra y los medios mecánicos auxiliares.
- Mantenimiento: Se establece como porcentaje (1,50 %) sobre el coste del inmovilizado susceptible de mantenimiento (nave de aperos, cabezal y red de riego).
- Personal fijo: Lo más habitual es que el propietario de la tierra trabaje en ella, en tareas asociadas a programación del riego, adquisición de factores de producción, control del trabajo contratado externo... Esto es lo que se considera como personal fijo. A partir de la información base se repercuten 1 jornal/ha año en secano y 2 jornales/ha año en regadío.
- Agua de riego: El riego se estableció mediante datos de tres estaciones agrometeorológicas pertenecientes al SIAM (2020). Las dotaciones se calcularon a partir de la demanda hídrica de un año medio, calculando la evapotranspiración de referencia mensual aplicando el método de Penman-Monteith. Se toma la media de los datos recogidos por las tres estaciones en un periodo de 5 años (2014-2018). En el sistema de regadío destinado a v.c.p.r.d. se aplica

una estrategia RDC y en el caso del sistema de regadío para granel se aplica una estrategia de Riego Deficitario Sostenido (RDS) (Romero Azorín y García García, 2020).

– Energía eléctrica: El consumo de energía eléctrica vinculada al riego se calcula en función de las horas de riego y la potencia requerida (Tabla 2).

Metodología de análisis

Análisis económico

Se aplicó el análisis financiero en la vertiente de análisis o contabilidad de costes (Ballestero, 2000; García García, 2014). Para establecer la estructura de costes (Tabla 3), estos se clasificaron en costes fijos (CF) y costes variables (CV). Para el cálculo del coste de oportunidad (CO) se tiene en cuenta el uso alternativo del dinero en cuentas bancarias de ahorro sin riesgo (tipo de interés 1,5 %); este valor se suma a cada coste fijo y variable. Se consideran costes fijos a los debidos a la amortización de la inversión (preparación y plantación, nave de aperos y material auxiliar). En el caso de regadío se incluirían los costes del cabezal de riego, la red de riego y el embalse. Los costes de amortización se calculan mediante el método lineal o de cuotas constantes. Por su parte, se consideran costes variables todos aquellos que varían en función del ciclo de producción, como costes de las labores agrarias, costes de abonos, costes de fertilizantes, etc. La maquinaria se considera un coste variable por servicio contratado a agricultores externos. El precio medio del agua en el periodo 2012-2018 es de 0,20 €/m^3. En cuanto a los ingresos totales (I) (Tabla 4), estos se calcularon a partir de la producción y del precio medio de venta anual de uva variedad Monastrell en el periodo 2012-2017 (CARM, 2019). Los ingresos medios se calcularon a partir de la producción y de los precios pagados en € por kg y °Beaumé.

Se utilizaron los siguientes indicadores económicos: el margen neto (MN) (MAPA, 1999; García García *et al*., 2012; García García y García Brunton, 2013; Romero Azorín y García García, 2020), que se calcula como la diferencia entre los ingresos y costes totales, a partir de la siguiente fórmula: MN = I (CF + CV + CO); MN/coste variable (MN/c) que indica la rentabilidad del capital invertido a corto plazo; MN/inversión (MN/K_0) es un indicador de rentabilidad del capital a largo plazo; MN/coste total (MN/C) muestra la rentabilidad global de la actividad; umbral de viabilidad (UV) identifica el precio mínimo de la uva en el que la actividad es viable; y punto muerto (PM) señala la producción mínima para el precio de venta del mercado para que la actividad sea viable.

Análisis social

Se aplicaron tres indicadores. UTA/ha que es un indicador de generación de empleo ligado al medio rural (Romero Azorín y García García, 2020); para establecer el empleo generado se calculó la mano de obra necesaria para realizar las labores agrarias, y una unidad de trabajo anual (UTA) corresponde al trabajo realizado por una persona ocupada en una explotación agrícola a tiempo completo (MAPA, 1999), siendo de un total de 1.800 horas. CER (contribución a la economía regional) es un indicador sobre el impacto económico de la actividad agrícola sobre la población rural, y se calcula como ingreso unitario (€/ha); tiene relevancia social puesto que mide la productividad bruta económica y la repercusión sobre el medio y la población rural (García García, 2019). Y umbral de superficie, o punto muerto, que es un indicador social vinculado al territorio (CE, 2006; García García, 2016), establece la superficie mínima (ha) para que la explotación sea viable económicamente.

Tabla 3. Estructura de costes de los tres sistemas de producción de uva para vino.
Table 3. Cost accounting of the three vine grape cropping systems.

	Secano		Regadío v.c.p.r.d		Regadío granel	
	Coste (€/ha año)	%/CT	Coste (€/ha año)	%/CT	Coste (€/ha año)	%/CT
			Costes fijos			
Nave de aperos	8	0,61	37	1,16	37	0,94
Preparación del terreno	98	7,93	340	10,78	340	8,82
Material auxiliar	3	0,27	10	0,32	10	0,26
Cabezal de riego	–	–	67	2,11	67	1,71
Red de riego	–	–	189	5,99	189	4,84
Embalse	–	–	17	0,53	43	1,10
Costes fijos totales	109	8,82	659	20,89	685	17,56
			Costes variables			
Seguro producción	78	6,29	195	6,17	292	7,49
Poda	244	19,65	457	14,49	457	11,72
Maquinaria	306	24,69	417	13,22	417	10,69
Fertilizantes	107	8,60	214	6,77	321	8,22
Fitosanitarios	51	4,09	123	3,89	123	3,15
Herbicidas	–	–	26	0,82	26	0,67
Recolección	280	22,59	613	19,40	879	22,53
Mantenimiento	5	0,37	44	1,38	44	1,11
Personal fijo	61	4,91	122	3,86	122	3,12
Agua (riego)	–	–	272	8,62	508	13
Energía (riego)	–	–	15	0,49	29	0,74
Costes variables totales	1.131	91,18	2.497	79,11	3.217	82,44
			Costes totales			
Costes totales	1.240	100	3.156	100	3902	100

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

%/CT: este valor es el porcentaje de cada coste sobre el Coste Total.

Cada coste, tanto fijo como variable, incluye el correspondiente coste de oportunidad.

Tabla 4. Calculo de los ingresos totales anuales de los tres sistemas de cultivo.
Table 4. Total annual income of the three cropping systems.

	Secano	Regadío v.c.p.r.d	Regadío granel
Producción bruta (kg/ha)	3.200	8.000	12.000
Grados Beaumé (°)	14,25	13,75	12,75
Precio (€/kg°)	0,0315	0,0315	0,0315
Ingresos totales (€/ha·año)	1.436	3.465	4.820

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

Análisis ambiental

Se aplicó el análisis de ciclo de vida (ACV) que es una herramienta de evaluación ambiental estandarizada por un conjunto de normas ISO 14040-14044 (ISO, 2006a,b). Es una herramienta científica que permite establecer alternativas dirigidas a reducir los potenciales impactos ambientales asociados a un producto, con objeto de garantizar un desarrollo sostenible. El método consta de cuatro fases interrelacionadas: definición de objetivo y alcance, análisis de inventario del ciclo de vida, análisis de impacto e interpretación de los resultados.

El objetivo, además de contribuir a la presente evaluación de sostenibilidad, es aportar datos para el conocimiento científico de los impactos potenciales debidos al cultivo de la uva en el sureste ibérico. La unidad funcional (UF) es 1 kg de uva cosechada en el campo. El alcance del ACV, por tanto, se centra únicamente en la fase de cultivo de la uva para vinificación. Como el sistema sólo produce uva se trató como un sistema monofuncional, por lo que no se aplicaron procedimientos de asignación de cargas ambientales. Los componentes del sistema a tener en cuenta en las explotaciones tipo fueron:

– Cultivo de viña en secano. Inversión: contempla el combustible consumido y sus emisiones en las labores de preparación del terreno y plantación, y el abonado inicial con estiércol (Tabla 2). Labores: el combustible consumido y sus emisiones durante las labores agrarias del ciclo de producción. Fertilización: el estiércol utilizado para la fertilización del suelo, así como sus emisiones a la atmósfera. Fitosanitarios: los tratamientos fitosanitarios aplicados.
– Cultivos de viña en regadío (v.c.p.r.d. y granel). Inversión: el combustible y sus emisiones consumidos en las labores de preparación del terreno; y las infraestructuras que incluyen el embalse de riego, el cabezal de riego, la red de riego y los elementos que conforman la espaldera (Tabla 2). Labores: el combustible y lubricante consumido durante el ciclo productivo en las labores agrícolas, y sus correspondientes emisiones a la atmósfera. Riego: la energía consumida durante el riego. Fertilizantes: los abonos inorgánicos aplicados mediante fertirrigación y sus emisiones a la atmósfera. Fitosanitarios: los tratamientos fitosanitarios y los herbicidas usados.

Para llevar a cabo el ACV se utiliza el software SimaPro 9.1. Los datos de segundo plano (energía, combustible, materiales, productos, etc.) se obtuvieron de la base de datos Ecoinvent 3.6. Las emisiones del diésel consumido por los vehículos agrícolas se estima-

ron a partir de los factores de emisión establecidos por EEA (2019). Las emisiones a la atmósfera de NH_4 y N_2O debidas a la aplicación de los abonos nitrogenados (orgánicos e inorgánicos) se estimaron según Nemecek *et al*. (2014) y Cayuela *et al*. (2017).

La metodología utilizada para la caracterización de los potenciales impactos ambientales fue CML-IA Baseline 4.7 (disponible en SimaPro) que es la más utilizada en los estudios sobre productos agroalimentarios (Beccali *et al*., 2009; Gazulla *et al*., 2010; Bosco *et al*., 2011; Villanueva-Rey *et al*., 2014; De Luca *et al*., 2015; Falcone *et al*., 2016) incluido la pesca y la acuicultura (García García *et al*., 2016 y 2019). Las categorías de impacto fueron: disminución de recursos abióticos (DA); disminución de los recursos abióticos combustibles fósiles (DACF); calentamiento global (CG); disminución de la capa de ozono (DCO); toxicidad humana (TH); ecotoxicidad acuática de aguas continentales (TAC); ecotoxicidad acuática de agua marina (TAM); ecotoxicidad terrestre (ET); oxidación fotoquímica (OF); acidificación (A); y eutrofización (E). La interpretación de los resultados se realizó mediante el análisis de contribución que calcula el porcentaje en el que contribuyen los diferentes componentes del sistema a cada categoría de impacto. También se utilizó la contribución global que indica como cada componente contribuye globalmente a todas las categorías de impacto (García García *et al*., 2016 y 2019).

Resultados y discusión

Estructura de costes

En la Tabla 3 se muestra la estructura de costes de los tres sistemas de cultivo de uva y en la Tabla 4 se presentan los ingresos totales. Los costes fijos difieren sustancialmente entre el secano y el regadío, independientemente del destino a vino v.c.p.r.d o granel (García García, 2019). La diferencia se debe principalmente a las infraestructuras del sistema de riego (cabezal, red de riego y embalse), que supone el coste más relevante en relación al coste fijo total (hasta casi el 44 % en vino granel), lo que está en consonancia con Fernández Alcázar (2011). Entre los sistemas de regadío, la diferencia entre los costes fijos es poco relevante, y es debida al tamaño del embalse puesto que para el vino a granel el volumen necesario de regulación es aproximadamente el doble que para v.c.p.r.d. (Tabla 2).

Los costes variables en secano son la mitad de los del regadío v.c.p.r.d y un tercio de los del regadío granel. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la producción en secano es menos de la mitad que en v.c.p.r.d y casi un cuarto de la producción granel. También es destacable que los costes variables de mayor importancia son los ligados a labores manuales (poda, recolección, personal fijo), que suponen un 47 % del coste total en secano y un 38 % y 37 % de los costes totales en regadío. Estos valores indican que el cultivo de viña, con independencia del sistema, tiene un importante efecto sobre el empleo (García García y García García, 2018). Sin embargo, los costes fijos suponen un bajo porcentaje del coste total, especialmente en secano (9 %); el mayor coste fijo relativo representa sólo el 21 % (regadío v.c.p.r.d.). Los ingresos (Tabla 4), y dado que el precio es el mismo para la uva en los tres sistemas, están en relación directa con la producción, variando, por consiguiente, ampliamente entre 1.436 €/ha·año en secano y 4.820 €/ha·año en regadío a granel.

Análisis económico

El MN/Inversión (Tabla 5) indica la rentabilidad a largo plazo y en este caso el sistema más rentable es el regadío para vinos granel, pese a ser el sistema que requiere mayor inversión. El sistema secano es el segundo en

Tabla 5. Valores de los indicadores socioeconómicos para los tres sistemas de cultivo.
Table 5. Socioeconomic indicators for the three cropping systems.

	Secano	Regadío v.c.p.r.d	Regadío granel
		Indicadores económicos	
MN/Inversión (%)	3,9	1,7	5,8
MN/Coste variable (%)	11,7	9,6	26,8
MN/Coste total (%)	10,6	7,5	21,9
Umbral viabilidad (€/kg)	0,37	0,38	0,31
Punto muerto (kg/ha)	2.652	6.993	9.250
		Indicadores sociales	
UTA/ha	0,044	0,089	0,108
Contribución a la economía regional (€/ha)	1.317	3.257	4.530
Umbral de superficie (ha)	24,87	8,74	7,71

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

cuanto a rentabilidad a largo plazo lo que es resultado principalmente a su reducida inversión (Tabla 5). El sistema regadío para v.c.p.r.d es el menos rentable a largo plazo y además se sitúa cercano al umbral de rentabilidad, lo cual se debe a que su margen neto es muy bajo, similar al del secano y además tiene una importante inversión, prácticamente idéntica a la del regadío granel. Aún en el caso más favorable, es decir, regadío granel, el MN/Inversión es bajo (5,8 %) en relación a otros cultivos del sureste bajo fertirrigación. Así por ejemplo, en limonero 'Fino' alcanza el 26 % y en limonero 'Verna' el 30 % (García García, 2014); por su parte, en melocotonero este indicador es del 19,9 % (García García y García Brunton, 2013). A corto plazo sucede algo similar. El MN/Coste total, o rentabilidad global, confirma que la actividad más rentable es el sistema de regadío para granel, debido fundamentalmente a la alta productividad (kg/ha). A continuación está el sistema secano (10,6 %) y por último el regadío para v.c.p.r.d que presenta una rentabilidad baja (7,5 %). Es por tanto, este último sistema, el más desfavorable en las circunstancias actuales en las que no existen mecanismos de pago de la uva por criterios de calidad, que diferencien esta uva de la de vino granel.

En la Tabla 5 se muestra el umbral de viabilidad o indicador del precio por kg de uva que se ha de pagar para que la explotación sea viable. En este caso los precios son 0,38 €/kg para v.c.p.r.d; 0,37 €/kg para secano y 0,31 €/kg para granel. Los precios de mercado son 0,433 €/kg; 0,449 €/kg y 0,402 €/kg respectivamente. Es decir, tanto v.c.p.r.d como secano están muy próximos al umbral de viabilidad y, por consiguiente, son actividades vulnerables, especialmente el sistema v.c.p.r.d. Todos estos resultados muestran que al primar la producción de kg° y no la calidad de la uva, la actividad más rentable es el sistema de regadío para vinos granel. Sin embargo, existen trabajos sobre ensayos de varios años en uva Monastrell que con-

cluyen que la productividad y vigor ligados a estrategias de riego es inversamente proporcional a la calidad de la uva medida mediante parámetros como antocianos y compuestos polifenólicos (Romero *et al*., 2015 y 2018). Afortunadamente en los últimos años existe la inquietud en el mercado de la uva acerca de la necesidad de establecer protocolos y métodos para clasificar diferentes calidades de uva que vayan destinadas a elaborar vinos de calidad (Poni *et al*., 2018). Evidentemente es necesario incorporar otros parámetros al sistema de pago de la uva, además de los kg°, de tal forma que se diferencie y valore la uva destinada a vino por atributos de calidad en función del contenido polifenólico, colorimetría, etc. (Bautista-Ortín *et al*., 2006; Romero *et al*., 2015). En este sentido, se ha confirmado que la calidad de las uvas de secano o de regadíos con RDC es superior a la de regadíos más dotados (Romero *et al*., 2015 y 2016).

El punto muerto (Tabla 5) indica que se deben producir 2.652 kg/ha, 6.993 kg/ha y 9.250 kg/ha en secano, v.c.p.r.d y granel, respectivamente, para alcanzar la viabilidad. Mientras que la producción de las parcelas tipo en el mismo orden es: 3.200 kg/ha, 8.000 kg/ha y 12.000 kg/ha (Tabla 1). Estos datos confirman que tanto secano como v.c.p.r.d están próximas a los umbrales (7.500-9.000 kg/ha). Tanto el sistema secano como el v.c.p.r.d tienen los umbrales dentro de los límites de productividad marcados por las DO de la Región de Murcia, mientras que el sistema regadío granel excede estas limitaciones y por tanto, en ningún caso podría destinar sus uvas a vinos amparados en dichas DO. Así pues, los sistemas en secano o en RDC destinados a v.c.p.r.d son viables en territorios áridos que además, no pueden competir con otras zonas con mayor disponibilidad de agua en cantidad y a un menor precio.

Análisis social

Desde el punto de vista de generación de empleo, destaca el regadío sobre el secano, y concretamente el destinado a vino granel es el que más empleo genera (Tabla 5). El regadío y el secano son sistemas muy diferentes en relación a sus procesos y sus consecuentes costes y labores manuales. Esto se debe principalmente a que el número de horas de trabajo manual es mayor cuanto mayor es la producción. El indicador UTA/ha refleja la importancia social de esta actividad en el medio rural, especialmente en territorios de secano, en relación al sostenimiento de población, terrenos y paisaje. Tal como indican García García y García García (2018), los valores obtenidos en secano están cercanos a la media registrada en el conjunto de las explotaciones agrarias de Europa (0,05 UTA/ha) (CE, 2006). Además, en otras localizaciones el cultivo en espaldera muestra valores cercanos; por ejemplo, Bajusová *et al*. (2016) obtiene 0,13 UTA/ha. Algo similar ocurre con la contribución de la actividad a la economía regional, los sistemas con más producción por unidad de superficie tienen mayores ingresos, lo que repercute positivamente sobre el medio y la población rural (Tabla 5). Respecto al tamaño de la explotación para que sea viable ha de ser como mínimo de 24,87 ha en secano; 8,74 ha en v.c.p.r.d y 7,71 ha en granel. Esto confirma que las explotaciones vitícolas de la Región de Murcia sean las de mayor tamaño a nivel nacional (MAPA, 2018), ya que para poder ser viables necesitan una elevada superficie, especialmente las de secano.

Análisis ambiental

En el cultivo de secano en vaso el componente del sistema que globalmente contribuye más a los impactos ambientales (Figura 1) son

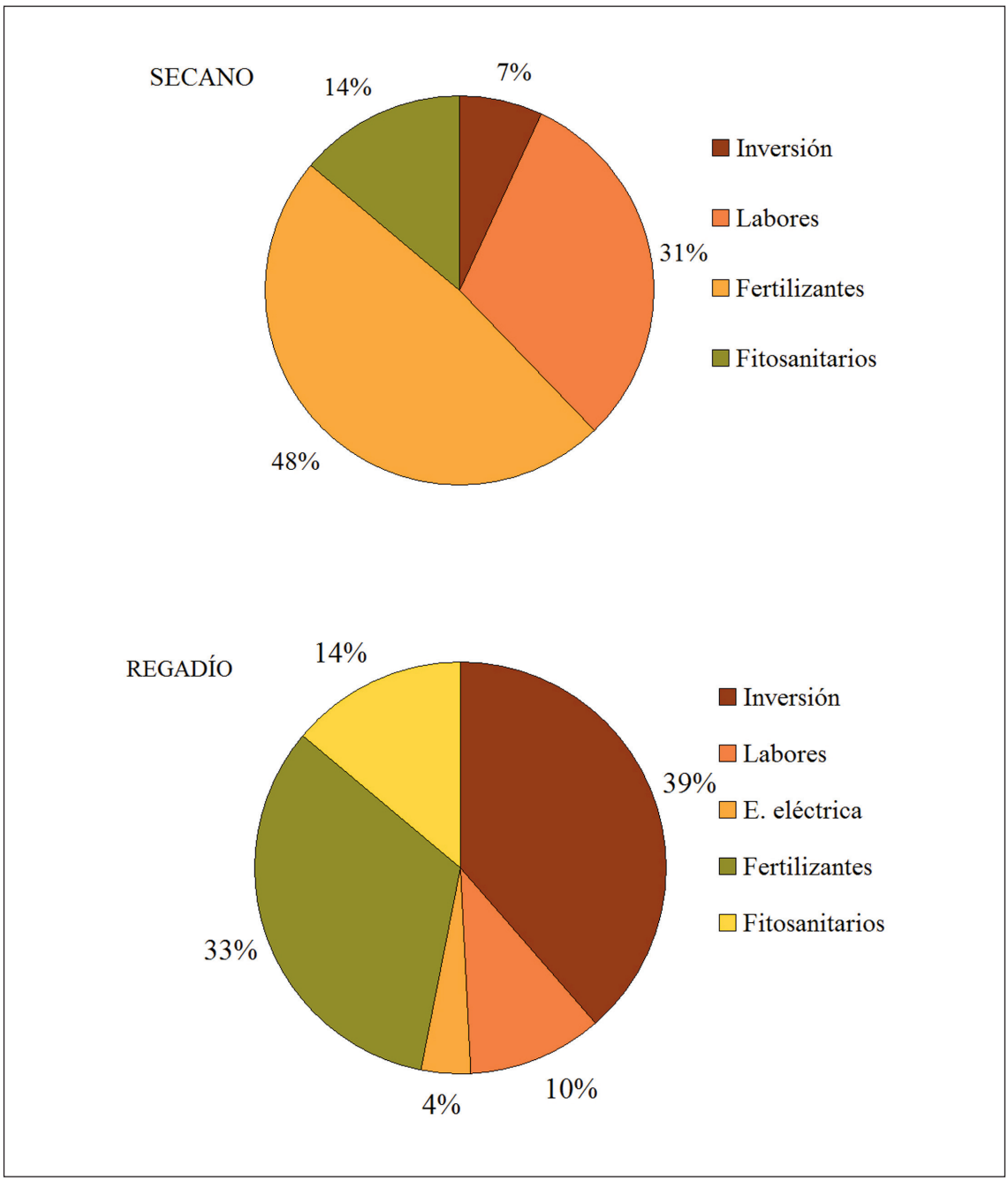


Figura 1. Contribución global de los componentes de los sistemas secano y regadío (vino de calidad producido en una región determinada (v.c.p.r.d.) y granel) a los potenciales impactos ambientales.
Figure 1. Global contribution of the components of the dryland and irrigated systems to the potential environmental impacts.

los fertilizantes (48 %), que aquí se reducen al estiércol. Después le sigue las labores de la maquinaria agraria (31 %) que refleja el consumo de diésel y sus emisiones; y los fitosanitarios que sólo contribuyen en un 14 %. La inversión en secano tiene una contribución muy poco relevante (7 %) puesto que se prescinde de infraestructuras. En la Figura 2 se muestra como los componentes del sistema contribuyen a los distintos impactos ambientales. Las labores contribuyen especialmente a DCO (76 %), DACF (64 %), CG (60 %), OF (38 %) y TH (33 %), mientras que los fertilizantes a E (92 %), ET (91 %), A (88 %), y TAC (62 %). En término de CG, las labores contribuyen en un 60 %, los fertilizantes en un 26 %, inversión con el 11 %, y finalmente fitosanitarios con el 3 %.

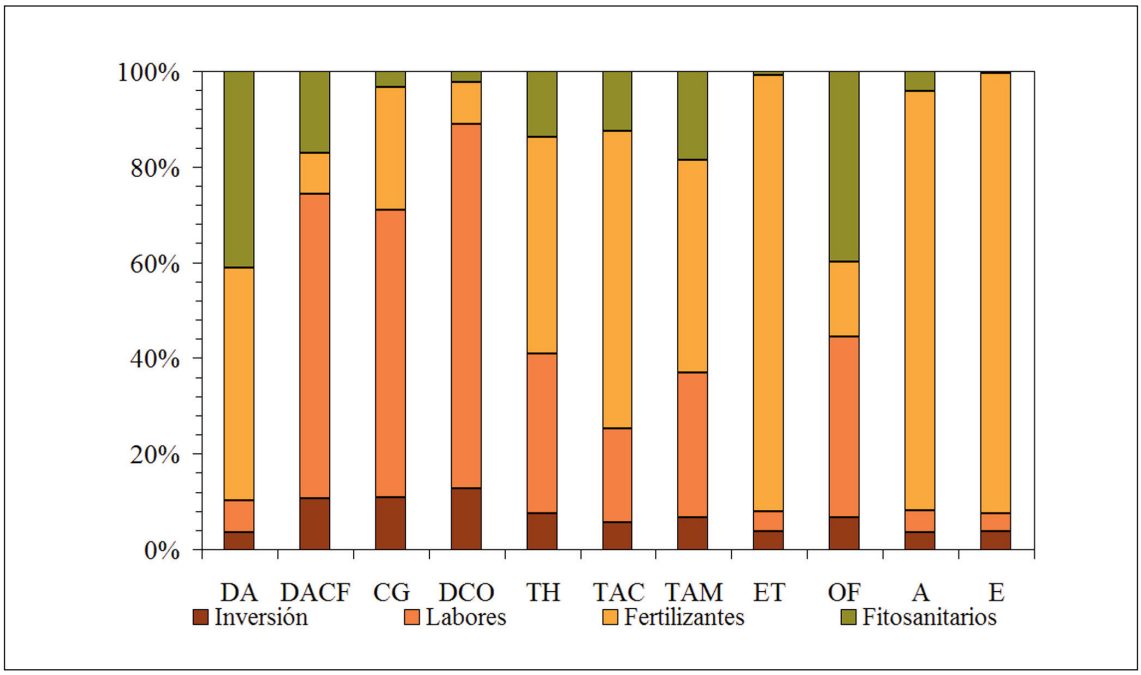


Figura 2. Contribución de los componentes del cultivo de uva en secano a las distintas categorías de impacto potencial.
Figure 2. Contribution of dryland vine grape cultivation components to potential impact categories.

En los dos cultivos de regadío en espaldera, v.c.p.r.d. y granel (Figura 1 y Figura 3), las contribuciones de los distintos compones del sistema a los impactos son similares. Esto es debido a que si en el cultivo para granel la producción es mayor (Tabla 1), también lo son algunos factores asociados a la inversión y a los medios de producción (Tabla 2). En los sistemas de regadío aunque los fertilizantes contribuyen significativamente a los impactos ambientales (33 %), es la inversión el componente que mayor repercusión tiene (39 %). El peso de la inversión es tan relevante debido a los distintos elementos que lo componen. De estos son los materiales metálicos de la espaldera los que más contribuyen suponiendo en relación sólo a la inversión una contribución global del 79 %,

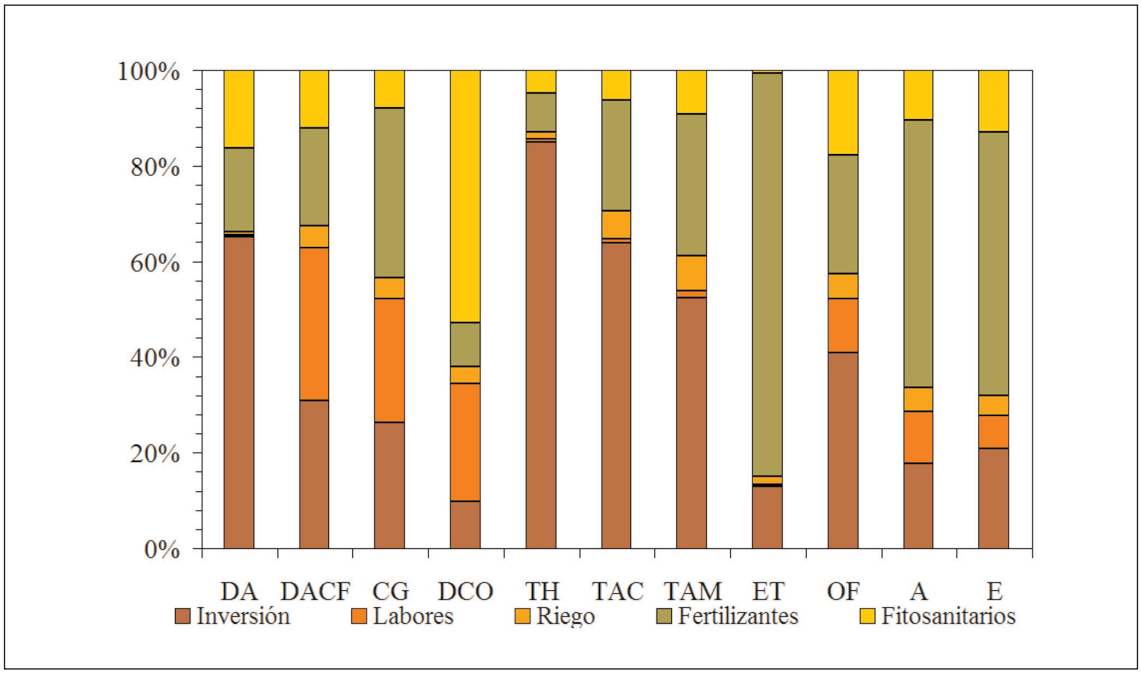


Figura 3. Contribución de los componentes del cultivo en regadío (vino de calidad producido en una región determinada (v.c.p.r.d.) y granel) a las distintas categorías de impacto potencial.
Figure 3. Contribution of irrigated cropping components to potential impact categories.

después siguen la red de riego (9 %), plantación (5 %), balsa de riego (5 %) y cabezal de riego (2 %). En cuanto a los otros tres componentes (Figura 1) destacan los fitosanitarios (14 %); las labores agrarias tienen una repercusión baja (10 %); y la energía eléctrica del riego es aún más baja (4 %).

Ferrara y De Feo (2018) en una extensa revisión bibliográfica sobre la aplicación del ACV en el sector vitivinícola, señalan que todos los trabajos utilizaron CG (o huella de carbono), y sólo unos pocos, y más recientemente, DA, A y E. Los resultados obtenidos en el presente trabajo (Tabla 6) en estas cuatro categorías y para los tres sistemas, se encuentran dentro de los rangos de variación observados por Ferrara y De Feo (2018). En términos de CG los valores obtenidos en el presente estudio (Tabla 6) fuero bajos en relación a dicho estudio, concretamente de 0,180 kg CO_2-eq (secano); 0,246 kg CO_2-eq (v.c.p.r.d.) y 0,192 kg CO_2-eq (granel). Sin embargo, son acordes con los registrados en distintos trabajos sobre uvas tintas en el área Mediterránea (Rinaldi *et al*., 2016; Gazulla *et al*., 2010; Bosco *et al*., 2011; Falcone *et al*., 2016). En estos los valores de CG se encuentra entre 0,12 kg CO_2-eq y 0,50 kg CO_2-eq, estando nuestros resultados más próximo a aquellos que utilizan una menor fertilización (Bosco *et al*., 2011). Como señalan Ferrara y De Feo (2018), los dos factores que en general más contribuyen al CG son la aplicación de fertilizantes y el consumo de combustible en las operaciones agrarias.

De los tres sistemas de cultivo analizados, es el cultivo en vaso en secano en el que la mayoría de las categorías de impacto registran los valores más bajos (Tabla 6 y Figura 4), a

Tabla 6. Valores de los potenciales impactos ambientales (PIA) para los tres sistemas de cultivo de uva. Unidad funcional: 1 kg de uva.
Table 6. Potential environmental impacts for the three grape cropping systems. Functional unit: 1 kg of grapes.

	Secano	Regadío v.c.p.r.d	Regadío granel
DA (kg Sb-eq)	1,29E-06	2,06E-05	1,47E-05
DACF (MJ)	2,41E+00	3,00E+00	2,21E+00
CG (kg CO_2-eq)	1,80E-01	2,46E-01	1,92E-01
DCO (CFC-11-eq)	2,59E-08	5,23E-08	3,70E-08
TH (kg 1,4-DB-eq)	2,51E-02	8,25E-01	5,70E-01
TAC (kg 1,4-DB-eq)	1,40E-02	2,17E-01	1,62E-01
TAM (kg 1,4-DB-eq)	2,54E+01	3,12E+02	2,39E+02
ET (kg 1,4-DB-eq)	8,03E-04	5,54E-03	5,20E-03
OF (kg C_2H_4-eq)	3,06E-05	6,30E-05	4,72E-05
A (SO_2-eq)	6,78E-03	1,54E-03	1,30E-03
E (PO_4-eq)	1,48E-03	4,49E-04	3,76E-04

DA: disminución de recursos abióticos; DACF: disminución de los recursos abióticos combustibles fósiles; CG: calentamiento global; DCO: disminución de la capa de ozono; TH: toxicidad humana; TAC: ecotoxicidad acuática de aguas continentales; TAM: ecotoxicidad acuática de agua marina; ET: ecotoxicidad terrestre; OF: oxidación fotoquímica; A: acidificación; y E: eutrofización.

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

pesar de que la producción de uva es muy inferior (Tabla 1), pero, sin embargo, en regadío hay una mayor utilización de los factores de producción (Tabla 2). En cuanto a las diferencias de los impactos destacan DA, y las categorías de toxicidad (TH, TAC, TAM y ET) que son debidos fundamentalmente a las infraestructuras, especialmente espaldera y red de riego. En términos de CG, el valor en secano (0,180 kg CO_2-eq) es bajo en relación a otros estudios (Ferrara y De Feo, 2018) debido especialmente a la baja fertilización, aunque es un resultado superior al registrado en cultivos biodinámicos (0,084-0,118 kg CO_2-eq; Villanueva-Rey *et al*., 2014).

Como muestra la estructura de costes (Tabla 2) los fertilizantes en los tres sistemas tienen una contribución baja en relación a los costes totales de producción (entre 6,77 % y 8,60 %; Tabla 2), de igual forma que ocurre en otros cultivos leñosos, como almendro u olivo, en los que la fertilización supone un 8,93 % y un 9,20 % del coste total, respectivamente (García García, 2019). En términos generales, probablemente se estén aplicando fertilizantes en exceso en cuanto que su repercusión sobre los costes y, por tanto, sobre el margen neto es poco relevante. Sin embargo, su contribución a los potenciales impactos ambientales es muy significativo, tanto en este estudio (Figura 1) como en otros (Ferrara y De Feo, 2018), por lo que este puede ser un argumento muy útil para la utilización más racional de los mismos, contribuyendo así a la sostenibilidad de la actividad productiva.

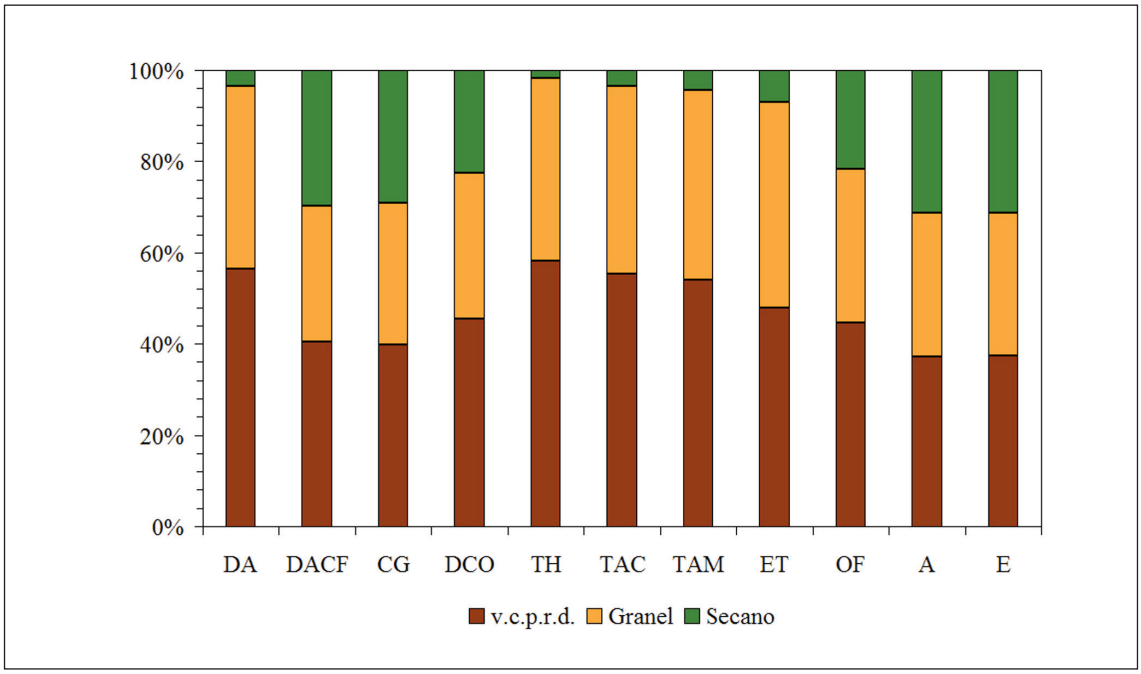


Figura 4. Comparación de los potenciales impactos ambientales entre el cultivo de uva en secano y los sistemas de regadío en espaldera. (v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada).
Figure 4. Comparison of potential environmental impacts between dryland cultivation and trellis irrigation systems. (v.c.p.r.d.: quality wines produced in a specific region).

Quizás a la hora de comparar los tres sistemas hay dos factores más que también se tendrían que tener en cuenta, dadas las características edafoclimáticas del área de estudio: la utilización de suelo y el uso del agua. La utilización de suelo en una región semiárida en claro proceso de desertización (Fraga *et al*., 2013; Resco *et al*., 2016) podría considerarse un impacto ambiental positivo, en cuanto que puede ser una forma de frenar el avance de las áreas desérticas en el sureste de la Península Ibérica. Esto afectaría a los tres sistemas de cultivo, pero se podría considerar más relevante en el caso de secano, en cuanto la superficie mínima de cultivo para que sea económicamente viable es muy superior (Tabla 5). Además, en relación al umbral de superficie es el secano donde las emisiones totales de CO_2-eq son menores (Tabla 7). Concretamente el sistema v.c.p.r.d. presenta unas emisiones 1,20 veces superior al secano, y granel 1,24 veces.

Por otro lado, en una zona donde los recursos hídricos son altamente limitantes, como es también el caso del área de estudio (Arcas Lario y Alcón Provencio, 2007; Soto García *et al*., 2014), aquellos sistemas que no utilizan riego, o este es de consumo bajo, debieran de priorizarse. Así pues, parece que el sistema de secano podría ser una alternativa de gran interés, ya que además, como se ha señalado, el secano es el sistema que menos recursos emplea; y para la mayoría de los impactos los valores son los más bajos, incluido CG. No obstante, en v.c.p.r.d. las emisiones de CO_2-eq en relación al umbral de superficie (Tabla 7) también son inferiores a granel, así como la

Tabla 7. Emisiones de CO_2-eq para el umbral de superficie de cultivo en los tres sistemas de cultivo de uva.
Table 7. CO_2-eq emissions for the cultivation surface threshold in the three vine grape cropping systems.

	Secano	Regadío v.c.p.r.d	Regadío granel
Umbral de superficie (ha)	24,87	8,74	7,71
Producción de uva (kg)	79.584	69.920	92.520
Emisiones de CO_2-eq (kg)	14.325	17.200	17.764

v.c.p.r.d.: vino de calidad producido en una región determinada.

dotación de riego, por lo que también puede considerarse de interés. Además, no hay que olvidar que estos dos sistemas garantizan la producción de vinos de calidad.

Conclusiones

En la situación actual en la Región de Murcia, donde el sistema de pago mayoritario de la uva para vino es por kilogrados, el sistema de regadío para vinos a granel es el más rentable y el más favorable socialmente, debido a la mayor producción. Desde el punto de vista de los impactos ambientales es similar al sistema de regadío v.c.p.r.d. y superior al cultivo en secano. No obstante, los impactos ambientales en los tres sistemas son relativamente bajos en relación a otras zonas productoras de uva para vino, debido a la baja utilización de inputs y, por tanto, a la alta eficiencia en el uso de los mismos. Sin embargo, este sistema no puede competir con otras zonas vitivinícolas nacionales que disponen de más agua de riego a menor precio y que, por tanto, pueden producir más cantidad, y a menor coste, la uva para vinos de mesa o granel. Muy por el contrario, la competitividad de los vinos de la Región pasa en gran medida por las exportaciones a Europa y terceros países, donde son factores clave la calidad y los aspectos ambientales asociados a su producción. En este último sentido, no sólo son relevantes los valores de los potenciales impactos ambientales, sino también la contribución a la lucha contra la desertificación y el uso del agua. Así pues, es conveniente apostar por la diferenciación a través de vinos de calidad vinculados al territorio y a valores ambientales que permitan obtener un plus de valor añadido por estas contribuciones a la sociedad. En este sentido los sistemas de cultivo de uva en secano, pero también en regadío v.c.p.r.d., parecen las opciones más viables a largo plazo. Ahora bien, para que sean sistemas sostenibles es necesario que en el pago de la uva juegue un papel importante los aspectos de calidad, de tal manera que se alcancen unos valores óptimos de rentabilidad que permitan superar la vulnerabilidad económica actual de dichos sistemas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Grupo Operativo "Calidad y diferenciación como claves de la competitividad vitivinícola (QVALITAS) en el marco de la medida 16.1 del Programa de Desarrollo Rural de la Región de Murcia.

Referencias bibliográficas

Arcas Lario N, Alcón Provencio F (2007). Contribución de las entidades de "economía social" a la gestión eficiente del agua para uso agrícola: situación en la región de Murcia. Revista de Estudios Cooperativos 91: 7-33.

Ballestero E (2000). Economía de la empresa agraria y alimentaria. Mundi-Prensa, Madrid, España. 416 pp.

Bajusová Z, Svoradová L, Dobák D, Bajus P (2016). Evaluation of the impact of labour costs development on grapevine production in the Slovak republic through algorithms. En: International Scientific Days 2016. The Agri-Food Value Chain: Challenges for Natural Resources Management and Society (Eds. Horská E, Kapsdorferová Z, Hallová M), pp. 102-112. Slovak University of Agriculture in Nitra. http://dx.doi.org/10.15414/isd2016.s2.01.

Bautista-Ortín AB, Fernández-Fernández JI, López-Roca JM, Gómez-Plaza E (2006). The effect of grape ripening stage on red wine color. Journal international des sciences de la vigne et du vin 40(1): 15-24. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2006.40.1.879.

Beccali M, Cellura M, Iudicello M, Mistretta M (2009). Resource consumption and environmental impacts of the agrofood sector: life cycle assessment of Italian citrus-based products. Environmental Management 43(4): 707-724. https://doi.org/10.1007/s00267-008-9251-y.

Bosco S, Di Bene C, Galli M, Remorini D, Massai R, Bonari E (2011). Greenhouse gas emissions in the agricultural phase of wine production in the Maremma rural district in Tuscany, Italy. Italian Journal of Agronomy 6: 93-100. https://doi.org/10.4081/ija.2011.e15.

CARM (2019). Estadística Agraria de Murcia 2017/2018. Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca de la Región de Murcia, Murcia, España. 164 pp.

Cayuela ML, Aguilera E, Sanz-Cobena A, Adams DC, Abalos D, Barton L, Ryals R, Silver WL, Alfaro MA, Pappa VA, Smith P, Garnier J, Billen G, Bouwman L, Bondeau A, Lassaletta, L (2017) Direct nitrous oxide emissions in Mediterranean climate cropping systems: Emission factors based on a meta-analysis of available measurement data. Agriculture, Ecosystems and Environment 238: 25-35. https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.10.006.

CE (2006). Hacia un sector vitivinícola europeo sostenible. Comisión Europea, Dirección General de Agricultura y Desarrollo Rural, Bruselas, Bélgica. 27 pp.

COM (2019). El Pacto Verde. Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo. Bruselas. 28 pp.

De Luca AI, Falcone G, Iofrida N, Stillitano T, Strano A, Gulisano G (2015) Life cycle methodologies to improve agri-food systems sustainability. Rivista di Studi Sulla Sostenibilita 1: 135-150. https://doi.org/10.3280/RISS2015-001009.

DOUE (2012). Reglamento N.º 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de noviembre de 2012 sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios. Diario Oficial de la Unión Europea, núm 343, de 14 de diciembre de 2012, 29 pp.

EEA (2012). Environmental indicator report 2012: ecosystem resilience and resource efficiency in a green economy in Europe. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark. 156 pp.

EEA (2014). Annual European Union greenhouse gas inventory 2014. Submission to the UNFCCC Secretariat. European Environment Agency, Copenhagen, Denmark. 24 pp.

EEA (2019). EMEP/EEA air pollution emission inventory guidebook 2019. Technical guidance to prepare national emission inventories. EEA Report 21. Publications Office of the European Union, Luxemburgo. 26 pp.

Falcone G, De Luca AI, Stillitano T, Strano A, Romeo G, Gulisano G (2016). Assessment of environmental and economic impacts of vine-growing combining life cycle assessment, life cycle costing and multicriterial analysis. Sustainability 8: 793. https://doi.org/10.3390/su8080793.

Fernández Alcázar JI (2011). Costes de cultivo en viñedo. Cuaderno de Campo 46: 4-13.

Ferrara C, De Feo G (2018). Life cycle assessment application to the wine sector: a critical review. Sustainability 10: 395. https://doi.org/10.3390/su10020395.

Ferrer JR, Abella-Garcés S, Maza-Rubio MT (2020). Human resource practices and performance in small Spanish wineries, and their evolution with age and size. Ciência e Técnica Vitivinícola 35(2): 107-119. https://doi.org/10.1051/ctv/ctv20203502107.

Fraga H, Malheiro AC, Mountinho-Pereira J, Santos JA (2013). An overview of climate change impacts on European viticulture. Food and Energy Security 1: 94-110. https://doi.org/10.1002/fes3.14.

García García B, Rosique Jiménez C, Aguado-Giménez F, García García J (2016). Life cycle assessment of gilthead seabream (*Sparus aurata*) production in offshore fish farms. Sustainability 8: 1228. https://doi.org/10.3390/su8121228.

García García B, Rosique Jiménez C, Aguado-Giménez F, García García J (2019). Life cycle assessment of seabass (*Dicentrarchus labrax*) production in offshore fish farms: Variability and multiple regression analysis. Sustainability 11: 3523. https://doi.org/10.3390/su11133523.

García García J, Martínez-Cutillas A, Romero P (2012). Financial analysis of wine grape production using regulated deficit irrigation and partial-root zone drying strategies. Irrigation Science 30: 179-188. https://doi.org/10.1007/s00271-011-0274-4.

García García J, García Brunton J (2013). Economic evaluation of early peach (*Prunus persica* L. batsch) commercial orchard under different irrigation strategies. Open Journal of Accounting 2: 99-106. https://doi.org/10.4236/ojacct.2013.24014.

García García J (2014). Análisis del sector del limonero y evaluación económica de su cultivo. IMIDA y Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, Murcia, España. 142 pp.

García García J (2016). Actualización de la contabilidad de costes del cultivo de viña en la Región de Murcia. Enoviticultura 39: 14-23.

García García J, García García B (2018). Aspectos socioeconómicos y ambientales del cultivo de la uva Monastrell. En: El libro de la Monastrell. Murcia (Eds. Riquelme F, Martínez-Cutillas A), pp. 71-88. Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca de la Región de Murcia, Murcia, España.

García García J (2019). Estructura de costes de las orientaciones productivas agrícolas de la Región de Murcia: frutos secos, frutales de pepita, vid y olivo. Consejería de Agua, Agricultura, Ganadería y Pesca de la Región de Murcia, Murcia, España. 120 pp.

Gazulla C, Raugei M, Fullana-i-Palmer P (2010). Taking a life cycle look at crianza wine production in Spain: where are the bottlenecks?. The International Journal of Life Cycle Assessment 15: 330-337. https://doi.org/10.1007/s11367-010-0173-6.

ISO 14040 (2006). Environmental Management –Life Cycle Assessment– Principles and Framework; International Organization for Standardization (ISO): Geneva, Switzerland.

ISO 14044 (2006). Environmental Management –Life Cycle Assessment– Requirements and Guidelines; International Organization for Standardization (ISO): Geneva, Switzerland.

Kajikawa Y, Tacoa F, Yamaguchi K (2014). Sustainability science: The changing landscape of sustainability research. Sustainability Science 9: 431-438. https://doi.org/10.1007/s11625-014-0244-x.

MAPA (1999). Análisis de la economía de los sistemas de producción. Resultados técnico-económicos de explotaciones hortofrutícolas de la Comunidad Valenciana en 1998. Subsecretaría de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España. 165 pp.

MAPA (2018). Anuario de Estadística Agraria. Madrid. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, España. 850 pp.

MAPA (2020). Producciones agrícolas: vitivinicultura. Dimensión económica. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/vitivinicultura/#para5 (Consultado: 11/01/2021)

MARM (2010). Guía práctica de fertilización racional de los cultivos en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, España. 259 pp.

Nemecek T, Schnetzer J, Reinhard J (2014). Updated and harmonised greenhouse gas emissions for crop inventories. The International Journal of Life Cycle Assessment 21(9): 1361-1378. https://doi.org/10.1007/s11367-014-0712-7.

OIV (2008). Guía de la OIV para una vitivinicultura sostenible: producción, transformación y acondicionamiento de los productos. Resolución CST 1-2008. 13 pp.

OIV (2019). 2019 Statistical Report on World Vitiviniculture. 23 pp. Disponible en: http://www.oiv.int/es/normas-y-documentos-tecnicos/analisis-estadisticos/analisis-anual (Consultado: 11/01/2021).

Poni S, Gatti M, Palliotti A, Dai Z, Duchêne E, Truong TT, Ferrara G, Matarrese AMS, Gallotta A, Bellincontro A, Mencarelli F, Tombesi S (2018). Grapevine quality: a multiple choice issue. Scientia Horticulturae 234: 445-462. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.035.

Resco P, Iglesias A, Bardají I, Sotés V (2016). Exploring adaptation choices for grapevine regions in Spain. Regional Environmental Change 16: 979-993. https://doi.org/10.1007/s10113-015-0811-4.

Rinaldi S, Bonamente E., Scrucca F, Merico MC, Asdrubali F, Cotana F (2016). Water and carbon footprint of wine: methodology review and application to a case study. Sustainability 8: 621. https://doi.org/doi:10.3390/su8070621.

Romero P, Gil Muñoz R, Fernández-Fernández JI, Del Amor FM, Martínez-Cutillas A, García García J (2015). Improvement of yield and grape and wine composition in field-grown Monastrell grapevines by partial root zone irrigation, in comparison with regulated deficit irrigation. Agricultural Water Management 149: 55-73. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2014.10.018.

Romero P, García García J, Fernández-Fernández JI, Gil Muñoz R, del Amor Saavedra F, Martínez-Cutillas A (2016). Improving berry and wine quality attributes and vineyard economic efficiency by long-term deficit irrigation practices under semiarid conditions. Scientia Horticulturae 203: 69-85. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.013.

Romero P, Botía P, Navarro JM (2018). Selecting rootstocks to improve vine performance and vineyard sustainability in deficit irrigated Monastrell grapevines under semiarid conditions. Agricultural Water Management 209: 73-93. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.07.012.

Romero Azorín P, García García J (2020). The productive, economic, and social efficiency of vineyards using combined drought-tolerant rootstocks and efficient low water volume deficit irrigation techniques under Mediterranean semiarid conditions. Sustainability 12: 1930. https://doi.org/10.3390/su12051930.

SIAM (2020). Sistema de Información Agraria de Murcia. Disponible en: http://siam.imida.es/apex/f?p=101:1:3056830601098857 (Consultado: 16 diciembre 2020).

Soto García M, Martínez Álvarez V, Martín Górriz B (2014). El regadío en la Región de Murcia. Caracterización y análisis mediante indicadores de gestión. Sindicato Central de Regantes del Acueducto Tajo-Segura, Murcia, España. 267 pp.

Villanueva-Rey P, Vázquez-Rowe I, Moreira MT, Gumersindo F (2014). Comparative life cycle assessment in the wine sector: biodynamic *vs*. conventional viticulture activities in NW Spain. Journal of Cleaner Production 65: 330-341. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.08.026.

(Aceptado para publicación el 7 de junio de 2021)

aida-itea.org

itea
Información Técnica Económica Agraria

CONCESIÓN DEL PREMIO PRENSA AGRARIA 2021 DE AIDA

Presidenta
Clara Mª Marín Alcalá

Secretaria
Albina Sanz Pascua

Dª. Albina Sanz Pascua, Directora de la revista ITEA, en calidad de Secretaria del Jurado para la concesión del Premio Prensa Agraria 2021 de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA).

Notifica que, reunido online el Jurado para la concesión del Premio Prensa Agraria 2021 el día 28 de enero de 2022, desde las instalaciones del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), del que forman parte la Presidenta de AIDA que preside el Jurado, la Directora de la revista ITEA, el Director de Investigación del CITA del Gobierno de Aragón, el Director del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza y el Director de la Estación Experimental de Aula Dei, han decidido por unanimidad que el Premio Prensa Agraria 2021 ha recaído en **María José Fernández de la Cal, Ángel Ruiz Mantecón y Alfonso Moral** por su artículo publicado en la revista ITEA titulado **"Factores determinantes de la rentabilidad de las granjas de vacuno de leche en Castilla y León".**

Zaragoza 28 de enero de 2022

LA PRESIDENTA DE AIDA
Clara Mª Marín Alcalá

PREMIOS DE PRENSA AGRARIA 2022 DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO

La Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA) otorga un premio anual de Prensa Agraria para destacar aquel artículo de los publicados en ITEA en el año 2022 que reúna las mejores características técnicas, científicas y de valor divulgativo y de transferencia al sector, así como un impacto relevante de sus resultados. El artículo deberá reflejar 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 2022. 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) Presidencia de AIDA, que presidirá el jurado.
   b) Dirección de la revista ITEA, que actuará de Secretario.
   c) Dirección del CITA (Gobierno de Aragón).
   d) Dirección del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza.
   e) Dirección de la Estación Experimental de Aula Dei.
   f) Dirección 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.

Si desea Vd. pertenecer a la Asociación debe rellenar esta ficha de inscripción y la siguiente hoja sobre Protección de datos.

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 (Caixabank, Ag. Zuera (Zaragoza), España, nº ES70 2100 8687 2702 0001 2107) por el importe de la couta 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 (COUTA ANUAL: 50 EUROS)

	Cargo a cuenta corriente (rellenar la domiciliación bancaria)
	Transferencia a la cuenta de AIDA ES70 2100 8687 2702 0001 2107 (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__ Firmado:	Sello de la Entidad:

PROTECCIÓN DE DATOS

ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO, de ahora en adelante AIDA, le informa de que los datos facilitados durante su relación con la Asociación serán tratados para gestionar el alta de socio, así como para las gestiones administrativas de la Asociación. La base legal para el tratamiento de sus datos es la relación contractual y su consentimiento. Sus datos podrán ser cedidos a las entidades que sea necesarias para el cumplimiento de nuestras obligaciones legales, y si así lo autoriza, a las empresas colaboradoras de la Asociación. Tiene derecho a acceder, rectificar, suprimir, oponerse al tratamiento de sus datos, así como retirar el consentimiento prestado y pedir su portabilidad.

AUTORIZACIONES

- ❑ * – Autoriza a que AIDA le envíe información a través de medios postales y/o electrónicos (correo electrónico, SMS, etc.) sobre noticias de la asociación, así como información de servicios de sus patrocinadores y/o colaboradores.
- – Autoriza a que AIDA pueda facilitar sus datos de contacto a las empresas patrocinadoras o colaboradoras con fines comerciales. ❑ Sí ❑ No *

* Debe responder a estar cuestiones obligatoriamente.

Por último, en aras a dar cumplimiento al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos, y siguiendo las Recomendaciones e Instrucciones emitidas por la Agencia Española de Protección de Datos (A.E.P.D.),

SE INFORMA

- Los datos de carácter personal solicitados y facilitados por usted, son incorporados un fichero de titularidad privada cuyo responsable y único destinatario es AIDA, con domicilio en Avenida Montañana, no 930, 50059 - Zaragoza.
- Solo serán solicitados aquellos datos estrictamente necesarios para prestar adecuadamente los servicios solicitados, pudiendo ser necesario recoger datos de contacto de terceros, tales como representantes legales, tutores, o personas a cargo designadas por los mismos.
- Todos los datos recogidos cuentan con el compromiso de confidencialidad, con las medidas de seguridad establecidas legalmente, y bajo ningún concepto son cedidos o tratados por terceras personas, físicas o jurídicas, sin el previo consentimiento del socio, tutor o representante legal, salvo en aquellos casos en los que fuere imprescindible para la correcta prestación del servicio.
- Una vez finalizada la relación entre la Asociación y el socio, los datos seguirán archivados y conservados mientras sean necesarios para dar cumplimiento a las obligaciones legales o, en su defecto, serán devueltos íntegramente al socio (o autorizado legal) o suprimidos si así se solicita por su parte.
- Los datos que facilito serán incluidos en el Tratamiento denominado Socios de AIDA, con la finalidad de gestión del alta de socio, la gestión del servicio contratado, pago de cuotas, contacto, etc., y todas las gestiones relacionadas con los socios y manifiesto mi consentimiento.
- Tiene derecho a acceder a sus datos personales, a solicitar su rectificación, cancelación y oposición, indicándolo por escrito a AIDA con domicilio en Avenida Montañana, no 930, 50059 – Zaragoza, o al correo electrónico de la Asociación: administracion@aidaitea.org.
- Los datos personales serán cedidos por AIDA a las entidades que prestan servicios a la misma siempre que sea estrictamente necesario para llevar a cabo los servicios ofrecidos por la Asociación. Igualmente, sus datos serán cedidos si existe una obligación legal.

Nombre y apellidos del Socio:

DNI:

Representante legal (si lo hubiere):

DNI:

En _____ , a ___ de _____de 20___

FIRMA DEL SOCIO:

NORMAS PARA LOS AUTORES (actualizado marzo de 2021)

La revista ITEA es una publicación internacional indexada en las bases de datos de revistas científicas. La revista se publica en español. 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 y Economía Agroalimentaria. Se aceptan contribuciones en formato de nota técnica, artículo de revisión o artículo de investigación. El envío de un artículo implicará que el mismo no haya sido publicado o enviado para publicar en cualquier otro medio de difusión o idioma 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.

Desde marzo de 2019, para publicar un artículo en la revista ITEA es necesario que al menos uno de los autores sea socio de AIDA, o en su caso los autores del artículo deberán abonar la cantidad de 50 euros cuando el artículo sea aceptado para su publicación en la revista ITEA. Puede consultar cómo hacerse socio de AIDA en http://www.aida-itea.org/index.php/sobre-nosotros/hacerse-socio.

1. Envío de manuscritos y evaluación

Los manuscritos originales se escribirá en español. Se recomienda la revisión del manual "Cómo traducir y redactar textos científicos en español"(https://www.esteve.org/libros/cuaderno-traducir-textoscientificos/) Los manuscritos se enviarán a través de la plataforma OJS de la revita ITEA (http://recyt.fecyt.es/index.php/ITEA/user/register). Para ello, los autores deberán registrarse en la aplicación, incluir el nombre y apellidos de todos los autores de manuscrito en los metadatos del artículo, 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 en archivo independiente una carta de presentación en la que figure el título, los autores y un listado con 4 potenciales 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 como mínimo 2 revisores que conocerán la identidad de los autores, no así al contrario. 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, deberán modificar el artículo en el plazo de 1 mes desde su comunicación, antes de que sea aceptado definitivamente. 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 justificar al editor debidamente su opinión. 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 1 mes el artículo será rechazado.

2. Tipos de manuscritos

En la revista ITEA se contemplan tres tipos de manuscritos. Los autores deberán expresar qué tipo de formato han escogido:

– **Los artículos de investigación** tendrán una extensión máxima de 30 páginas con el formato indicado en el siguiente punto. Los apartados de los que constarán son: Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión (o bien, Resultados y Discusión de forma conjunta), Conclusiones y Referencias bibliográficas (ver especificaciones en los siguientes apartados), tablas y figuras.

Los artículos de investigación de la sección de Producción Vegetal deben contener suficientes resultados para que las conclusiones sean robustas. Para ello, como norma general, será necesario repetir el mismo ensayo dos veces en momentos o campañas diferentes. Se considerará aceptable realizar el mismo ensayo sobre dos variedades o en dos situaciones o localidades diferentes. En los ensayos de eficacia sobre malas hierbas, insectos, hongos u otros organismos, una posibilidad es obtener la dosis adecuada para el control del organismo en estudio en un ensayo de dosis-respuesta y que esta dosis sea probada de nuevo en otro ensayo, es decir, sin volver a repetir toda la batería de dosis ensayadas previamente. Los ensayos constarán de suficientes repeticiones (mínimo tres). Las condiciones ambientales deberán escribirse de manera que permitan llevar a cabo la repetición del ensayo. La mayoría de ensayos necesitarán un análisis estadístico que refuerce los resultados. En ese caso conviene que se indiquen los resultados de dicho análisis, o al menos la tabla de resultados del anova o del análisis estadístico que se realiza.

– **Las notas técnicas,** referidas a trabajos experimentales de extensión reducida, no excederán de 2000 palabras, incluidas Tablas y/o Figuras.

– **Las revisiones bibliográficas** serán una evaluación crítica de una temática que exponga los resultados de otros trabajos, el estado actual de los conocimientos en esa temática y tratará de identificar nuevas conclusiones y áreas de investigación futuras. La extensión máxima será de 35 páginas. Los apartados de los que constarán son: Introducción, seguida de los apartados que consideren oportunos los autores, Conclusiones y Bibliografía; tablas y figuras si los autores lo consideran oportuno. En caso de copia literal de una tabla o figura de otro artículo, es responsabilidad del autor del manuscrito tener el permiso expreso del autor de la tabla o figura.

3. Preparación del manuscrito

Todos los manuscritos se presentarán en hojas de tamaño DIN A4 con márgenes de 2,5 cm y numeración de líneas continua. Se utilizará interlineado doble, fuente Times New Roman tamaño 12 (también en tablas y figuras). Las referencias bibliográficas, tablas y figuras se presentarán al final del documento en hojas separadas (una hoja por tabla y/o figura).

Se tratará de usar lenguaje inclusivo en todo el manuscrito. Se recomienda la revisión de los documentos "Lenguaje Inclusivo con perspectiva de género" del Gobierno de Aragón (https://www.aida-itea.org/images/Files/MANUAL_LENGUAJE_INCLUSIVO.pdf); "Guías para el uso no sexista del lenguaje" del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (https://www.aida-itea.org/images/Files/Guiaslenguajenosexista_.pdf) y/o visitar la página web de las Naciones Unidas "lenguaje inclusivo en cuanto al género" (https://www.un.org/es/gender-inclusive-language/guidelines.shtml)

Todos los manuscritos incluirán, en la primera página:

Título: será lo más conciso posible. No incluirá fórmulas químicas (excepto símbolos químicos para indicar isótopos) y se evitarán las abreviaturas. El formato del título será en negrita y formato tipo oración.

Autores: nombre completo y apellido de los autores. Si un autor desea aparecer con dos apellidos, éstos deberán unirse con un guión. Los autores penúltimo y último irán separados por una "y". En caso de que pertenezcan a distintas instituciones, señalar a cada autor con números superíndices diferentes.

El/la autor/a para correspondencia irá indicado con un asterisco. En el caso de un artículo con varios autores, el/la autor/a para correspondencia garantizará que el resto de autores están de acuerdo con el contenido del artículo y el orden de autoría. En caso de que haya habido cambios en la autoría durante la evaluación del manuscrito, el/la autor/a para correspondencia garantizará que todos los autores implicados en alguna fase del proceso de evaluación están de acuerdo con la autoría final. Una vez que un manuscrito está aceptado no se podrán modificar los autores.

Dirección postal profesional de los autores. Si se desea indicar la dirección actual, deberá escribirse con una letra minúscula como superíndice.

Correo electrónico el/la autor/a a quien se va a dirigir la correspondencia.

Ejemplo:

Alternativas al penoxsulam para control de *Echinochloa* spp. y ciperáceas en cultivo de arroz en el nordeste de España

G. Pardo[1*], A. Marí[1], S. Fernández-Cavada[2], C. García-Floria[3], S. Hernández[4], C. Zaragoza[1] y A. Cirujeda[1]

*autor para correspondencia: gpardos@aragon.es

El manuscrito incluirá a continuación:

Resumen, que deberá tener un máximo de 250 palabras, e incluirá brevemente los objetivos del trabajo, la metodología empleada, 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

4. Apartados del manuscrito

El formato de títulos de los apartados será en negrita, el del primer sub-apartado en negrita y cursiva, y el siguiente nivel en cursiva.

- **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/muestras, valores medios y medidas de variabilidad iniciales.
- **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 disponer de información más detallada. Puede redactarse de forma conjunta con el apartado de discusión.
- **Discusión**: deberá interpretar los resultados obtenidos, teniendo en cuenta además otros trabajos publicados. Se recomienda utilizar un máximo de 4 referencias para apoyar una afirmación en la discusión, exceptuando en las revisiones.
- **Conclusiones**: a las que se han llegado, así como las posibles implicaciones prácticas que de ellas puedan derivarse (aproximadamente 200 palabras).
- **Agradecimientos**: deberá 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 40 citas en los artículos de investigación, y 60 en las revisiones bibliográficas. En el manuscrito, se mantendrá el orden cronológico en caso de citar varios autores. Las **citas 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)

  *mismos autores con varios trabajos (Martín *et al*., 1971 y 1979)

  *autores con trabajos del mismo año: Prache *et al*. (2009a,b)

  *Si la cita forma parte del texto: "como indicaban Gómez *et al*. (1969)"

  *Leyes y reglamentos: (BOE, 2005) o BOE(2005) si forma parte del texto

Los nombres de entidades u organismos que figuren como autores, por ejemplo Dirección General de la Producción Agraria (DGPA), deberán citarse completos en el texto la primera vez.

Al final del trabajo se referenciarán en orden alfabético, por autor, todas las citas utilizadas en el texto. En caso de más de una referencia de un mismo autor principal, se mantendrá el orden cronológico entre ellas. Se podrán citar trabajos "en prensa", siempre que hayan sido aceptados 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 **referencias bibliográficas**:

Artículo

Blanc F, Bocquier F, Agabriel J, D'Hour P, Chilliard Y(2006). Adaptative abilities of the females and sustainabilityof ruminant livestock systems. A review. AnimalResearch 55: 489-510. https://doi.org/10.1051/animres:2006040.

Capítulo de libro

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

Libro

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

Acta de congreso

Misztal I (2013). Present and future of genomic selection at the commercial level. Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of the EAAP, 20-30 de agosto, Nantes, Francia, pp. 100. https://doi.org/.3920/978-90-8686-782-0.

Fuente electrónica

FAOSTAT (2011). Food and Agriculture Organization statistical database. Disponible en:
http://faostat.fao.org/default.aspx
(Consultado: 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.

Leyes / Reglamentos

BOE (2005). Real Decreto 368/2005, de 8 de abril, por el que se regula el control oficial del rendimiento lechero para la evaluación genética en las especies bovina, ovina y caprina. Boletín Oficial del Estado, núm. 97, de 23 de abril de 2005, pp. 13918-13937

Indicar la URL del DOI, en las referencias que dispongan del mismo, al final del resto de datos de la referencia. Ejemplo: Albaladejo-García JA, Martínez-Paz JM, Colino J (2018). Evaluación financiera de la viabilidad del uso del agua desalada en la agricultura de invernadero del Campo de Níjar (Almería, España). ITEA-Información Técnica Económica Agraria 114(4): 398-414. https://doi.org/10.12706/itea.2018.024.

- **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. 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 sólo se usarán filas y columnas, no se usarán tabulaciones ni saltos de línea. 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 €/kg	Tipo de carne	Origen	Sistema
1	22	Lechal	Nacional	Convencional
2	22	Cebo	Extranjero	Ecológico
3	18	Lechal	CLM	Ecológico
4	18	Ternasco	Extranjero	Convencional

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 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 ppp (píxeles por pulgada).

5. 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 de hormonas o productos químicos comenzarán con minúsculas (sulfato de metilo, en vez de Sulfato de Metilo).
- Los símbolos de los genes se escribirán en mayúsculas y cursivas, y los símbolos de las proteínas que codifican estos genes en mayúsculas en texto plano (no cursiva). Igualmente, cuando aparezca el nombre del gen éste irá en cursiva, mientras que su proteína irá en texto plano.
- Las fórmulas químicas se nombrarán según las normas IUPAC (p. ej. H_2SO_4 en vez de SO_4H_2) y los nombres comerciales comenzarán con mayúscula (p.ej. Foligón). En el caso de iones, debe indicarse el signo (p. ej. NO_3^-, SO_4^{2-})
- Los nombres científicos de organismos vivos (botánicos, microbiológicos o zoológicos) deberán incluir en su primera cita la denominación completa de género, especie y del autor. En siguientes apariciones se abreviará el género con la inicial del mismo y se mantendrá el nombre de la especie. Ejemplo: *Papaver rhoeas* L. y posteriormente, *P. rhoeas*.
- Los nombres latinos de géneros, especies y variedades se indicarán en cursiva y los nombres de cultivares entre comillas simples (p. ej. 'Sugar Baby').
- 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 118
Número 1
Marzo 2022

itea

información técnica económica agraria

www.aida-itea.org

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO

