

**Formulación de un alimento balanceado
a base de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.
para conejos de engorde**



**Tesis Doctoral
de
Edgar Molina
2014**

TITULO: *Formulación de un alimento balanceado a base de Amaranthus dubius Mart.ex Thell. para conejos de engorde*

AUTOR: *Edgar Molina*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2014
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

TESIS DOCTORAL

Formulación de un alimento balanceado a base de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. para conejos de engorde

Formulation of balanced feeds with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. for growing rabbits

MSc. Edgar Alí Molina

CÓRDOBA, 2014



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGÍA
Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**Formulación de un alimento balanceado a base de
Amaranthus dubius Mart. ex Thell. para conejos de engorde**

Memoria presentada por el Magister Scientiarum Edgar Alí Molina para
optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba

Directores

Dra. Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta

Dr. Pedro González Redondo

Dr. Rafael Moreno Rojas

CÓRDOBA, 2014

Informe razonado



INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

La Tesis Doctoral "Formulación de un alimento balanceado a base de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. para conejos de engorde" del doctorando D. Edgar Alí Molina se ha desarrollado correctamente en tiempo y en forma bajo nuestra dirección y tutela y ha dado lugar a cinco artículos. El primer artículo ha sido publicado en la revista *Interciencia*, con índice de impacto de 0,308 y posición 126/134 (cuarto cuartil y tercer tercil) en la categoría "Ecology" del *Journal Citation Reports (Science Edition, año 2011)*. El segundo artículo ha sido enviado y se encuentra en revisión en la revista *Chilean Journal of Agricultural Research*, con índice de impacto de 0,553 y posición 33/57 (tercer cuartil y segundo tercil) de la categoría "Agriculture, Multidisciplinary" del *Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)*. El tercer artículo ha sido enviado y se encuentra en revisión en la revista *Word Rabbit Science*, con índice de impacto de 0,620 y posición 34/54 (tercer cuartil y segundo tercil) en la categoría "Agriculture, Dairy and Animal Science" del *Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)*. El cuarto artículo ha sido enviado y se encuentra en revisión en la revista *Spanish Journal of Agricultural Research*, con índice de impacto de 0,659 y posición 28/57 (segundo cuartil y segundo tercil) de la categoría "Agriculture, Multidisciplinary" del *Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)*. El quinto artículo ha sido enviado y se encuentra en revisión en la revista *Animal*, con índice de impacto de 1,648 y posición 9/54 (primer cuartil y primer tercil) en la categoría "Agriculture, Dairy and Animal Science" del *Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)*. No hay que destacar ninguna circunstancia desfavorable.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Maracaibo, Sevilla y Córdoba, 10 de mayo de 2014

Firma de los directores:

Dra. Adriana Sánchez Urdaneta
Universidad del Zulia-Venezuela

Dr. Pedro González Redondo
Universidad de Sevilla-España

Dr. Rafael Moreno Rojas
Universidad de Córdoba-España

*¡Salve, fecunda zona,
que al sol enamorado circunscribes
el vago curso, y cuanto ser se anima
en cada vario clima,
acariciada de su luz, concibes!
Tú tejes al verano su guirnalda
de granadas espigas; tú la uva
das a la hirviente cuba;
no de purpúrea fruta, o roja, o gualda,
a tus florestas bellas
falta matiz alguno; y bebe en ellas
aromas mil el viento;
y greyes van sin cuento
paciendo tu verdura, desde el llano
que tiene por lindero el horizonte,
hasta el erguido monte,
de inaccesible nieve siempre cano.
Tú das la caña hermosa,
de do la miel se acendra,
por quien desdeña el mundo los panales;
tú en urnas de coral cuajas la almendra
que en la espumante jícara rebosa;
bulle carmín viviente en tus nopales,
que afrenta fuera al márlice de Kro:
y de tu añil la tinta generosa
émula es de la lumbre del zafiro..."*

*Silva a la Agricultura de la Zona Torrida
Andrés Bello, 1826.*

para David Alejandro

AGRADECIMIENTOS

Estoy profundamente agradecido con Dios y con la vida por permitirme tener tantas experiencias personales y académicas en el largo, traumático y enriquecedor proceso de desarrollo de mi Tesis Doctoral. En realidad, debo confesar que esta Tesis no es sólo mía, es de todos vosotros, familia, amigos, colegas y tutores. Gracias por el apoyo y saben bien, que sin ustedes no estuviera en este momento escribiendo estas palabras.

A la Doctora Adriana Sánchez Urdaneta, usted no solamente es y será siempre mi Directora de Tesis, usted es una de las personas que más ha influido en mi formación como investigador y se lo agradeceré por siempre. Gracias por darme esa fuerza, ese apoyo, ese regaño, ese consejo y esa siempre amena conversación en su oficina de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia.

Al Doctor Pedro González Redondo, estoy seguro que usted es el mejor Director de Tesis del mundo, por ser súper estricto en sus correcciones, extremadamente comprensivo de mis limitaciones académicas, personales y de recursos para desarrollar esta investigación y especialmente por tener el don de gente, más allá de sus muy merecidos títulos y reconocimientos como docente y como investigador.

Al Doctor Rafael Moreno Rojas por demostrarme siempre que estaba listo para ayudarme en cada una de las consultas relacionadas con la investigación y con los procesos administrativos en la Universidad de Córdoba. Usted fue el primero que me dijo que el Proyecto de Tesis con

amaranto era factible e interesante y convirtió lo que en ese momento era un sueño en algo posible, para lo cual trabajé hasta hoy.

A la MSc. Keyla Montero Quintero, usted ha sido una excelente compañera de viaje en el sueño del amaranto, contigo he aprendido lo que es un equipo de trabajo y estoy seguro que nos unirá una amistad para toda la vida. Has sido mi fortaleza en los días en que ya no podía seguir y mucho de lo que hice es gracias a tu apoyo incondicional.

A mis queridos amigos y colegas Dra. Marínela Vega y Sr. Máximo Colina, del proyecto LOCTI en panadería de la Escuela de Nutrición, Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia. Su confianza y apoyo me han demostrado que una mejor Universidad es posible.

A la Dra. Rosa Nava ex Vicerectora Académica de la Universidad del Zulia, quien junto a su equipo de trabajo inició los Programas de Doctorados Conjuntos en los cuales muchos profesores hemos logrado obtener el título de Doctor en varias Universidades Europeas, gracias por el apoyo y por ser parte de todos estos triunfos.

A la Dra. Judith Aular de Durán actual Vicerectora Académica de la Universidad del Zulia, quien ha sido y es una defensora de los Programas de Doctorados Conjuntos como vía para lograr la formación del Personal Docente y de Investigación de la Universidad del Zulia. Muchas gracias, sabemos que nuestros éxitos forman parte importante de su gestión.

A mi querida esposa Nelly, por esperarme, esperarme y esperarme... ¡Amor he terminado la Tesis Doctoral, te dije hace 18 años que juntos podríamos con todo!

A todos mi más profundo y eterno agradecimiento...

Índices



ÍNDICE GENERAL

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS	III
AGRADECIMIENTOS	IX
ÍNDICE GENERAL.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS	XVII
ÍNDICE DE FIGURAS	XX
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XXII
ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL.....	1
RESUMEN	5
PALABRAS CLAVE	8
SUMMARY	9
KEY WORDS:.....	11
INTRODUCCIÓN	13
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
<i>Amaranthus dubius</i> , descripción botánica y características.....	17
Composición química del <i>Amaranthus dubius</i> y usos potenciales.....	20
Producción y características de la carne de conejos	24
Requerimientos nutricionales de los conejos.....	27
Rendimientos productivos en conejos de aptitud cárnica	32
OBJETIVOS	39
General.....	39
Específicos.....	39

ARTÍCULO I.	41
Resumen	41
Palabras clave	42
Summary.....	42
Introducción	42
Materiales y Métodos	45
Selección y procesamiento de las muestras.....	45
Métodos analíticos	46
Análisis estadístico.....	46
Resultados y Discusión	47
Contenido de metales en los órganos de la planta	47
Efecto de la interacción época de recolecta-órgano de la planta sobre el contenido de metales	51
Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales.....	53
Conclusiones.....	54
Agradecimientos.....	55
Referencias	55

ARTÍCULO II	65
Resumen.....	65
Palabras clave:.....	66
Summary	66
Key words:.....	67
Introduction	67
Materials and methods	70
Plant materials	70
Chemical reagents.....	71
Determination of moisture content.....	71
Determination of total oxalates.....	72
Determination of phytates.....	73
Determination of total phenols	74
Condensate tannins	75
Determination of hydrolysable tannins	75
Determination of cyanide	76
Statistical analysis	76
Results and discussion	77
Total oxalates	77
Phytates.....	77
Total phenols.....	79
Condensate tannins	80
Hydrolysable tannins.....	81
Cyanide.....	82
Conclusions	82
Acknowledgements.....	82
References.....	83

ARTÍCULO III	89
Resumen	89
Palabras clave:	90
Summary.....	90
Key words:	91
Introduction.....	92
Materials and methods	94
Experimental diets.....	94
Experimental <i>design, animals and housing conditions</i>	95
Analytical methods.....	97
Statistical analyses.....	97
Results and discussion	98
<i>Amaranthus dubius</i> composition and experimental feeds	98
Health status.....	100
Growth performance.....	101
Apparent digestibility and digestible protein of amaranth and diets...	103
Conclusions.....	105
References	105

ARTÍCULO IV	117
Resumen.....	117
Palabras clave:.....	118
Summary	118
Key words:.....	119
Introduction	120
Material and methods	123
Experimental diets	123
Animals and housing conditions in fattening and digestibility trials	124
Carcass characteristics	124
Determination of meat quality	126
Statistical analysis	127
Results	127
Carcass characteristics	127
Meat quality	128
Discussion.....	128
Carcass characteristics	128
Meat quality	134
Conclusions	136
Acknowledgements.....	136
References.....	137

ARTÍCULO V	149
Resumen	149
Palabras clave	151
Summary.....	151
Keywords	152
Implications	152
Introduction.....	153
Material and Methods.....	155
Feed formulation and manufacturing	155
Experimental design, animals and housing conditions	156
Health status and mortality.....	157
Collection and analysis of blood samples.....	157
Histopathological analysis	158
Statistical analysis.....	159
Results	159
Health status and mortality.....	159
Hematological parameters	160
Biochemical parameters.....	160
Histopathological analysis	161
DISCUSSION	162
Health status and mortality.....	162
Hematological parameters	163
Serum biochemical parameters	164
Histopathological analysis	166
CONCLUSION	167
ACKNOWLEDGEMENTS	168
REFERENCES.....	168
CONCLUSIONES	179
BIBLIOGRAFÍA	181
ANEXO 1	191

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Página
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA		
1	Composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell.	21
2	Composición química y energía de la carne de los cortes y la canal de conejos.	24
3	Composición química de la carne de conejos comparada con otras carnes de consumo habitual.	24
4	Requerimientos nutricionales de los conejos en cría intensiva (concentración·kg ⁻¹ ; transformados a materia seca de 900 g·kg ⁻¹).	26
5	Índices de conversión alimentaria de los principales cruces de conejos de aptitud cárnica relacionados con la edad (a 2200 g de peso).	31
6	Peso de sacrificio, peso de la canal y edad de conejos de líneas comerciales bajo condiciones Europeas.	31
7	Características de la canal de diferentes líneas sintéticas de conejos.	34
8	Características de la canal (g) de conejos comercializados en España.	35

CAPÍTULO I. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta

sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

- | | | |
|---|---|----|
| 1 | Contenido de metales ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de biomasa seca) en hojas, tallos y panículas de <i>Amaranthus dubius</i> en Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela, recolectadas en época lluviosa y seca. | 55 |
| 2 | Contenido de metales ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de biomasa seca) en hojas de diversas especies de amaranto. | 56 |

CAPÍTULO II. Toxic and antinutritional substances content of

***Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Effect of plant part and harvesting season**

- | | | |
|---|--|----|
| 1 | Contents of oxalate, nitrate, phytate, total phenols, and condensate tannins (mean \pm SD) in <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell. plant parts, harvested in the rainy and the dry seasons, in the State of Miranda, Venezuela | 83 |
|---|--|----|

CAPÍTULO III. Effects of diets with *Amaranthus dubius* mart. ex thell. on performance and 4 digestibility of growing rabbits

- | | | |
|---|--|-----|
| 1 | Chemical composition (% DM) of <i>Amaranthus dubius</i> flour. | 107 |
| 2 | Ingredients and chemical composition of the experimental diets. | 108 |
| 3 | Effect of <i>Amaranthus dubius</i> dietary inclusion level on mortality, morbidity and sanitary risk in growing rabbits from weaning (35 days) to slaughter (87 days). | 109 |
| 4 | Growth performance of rabbits fed the experimental diets with <i>Amaranthus</i> . | 110 |

5	Effect of <i>Amaranthus dubius</i> dietary inclusion level on coefficients of total tract apparent digestibility (CTTAD) and digestible protein of experimental diets (DPD) in growing rabbits between 42 and 46 d of age (12 rabbits/treatment).	111
---	---	-----

CAPÍTULO IV. Effect of dietary inclusion of *Amaranthus dubius* on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits.

1	Ingredient composition of the experimental diets.	141
2	Chemical composition of <i>Amaranthus dubius</i> (whole plant) and of the experimental diets.	142
3	Effect of experimental diets on carcass characteristics of rabbits at 87 days of age.	143
4	Effect of experimental diets on meat quality of rabbits at 87 days of age.	144

CAPÍTULO V. Evaluation of hematological, biochemical and histopathological parameters of rabbits fed *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

1	Ingredients and chemical composition of the experimental diets.	168
2	Effects of diet and sex on hematological parameters of growing rabbits fed <i>Amaranthus dubius</i> .	169
3	Effects of diets and sex on biochemical parameters of growing rabbits fed <i>Amaranthus dubius</i> .	170
4	Localization and severity of principal histopathological lesions of growing rabbits fed <i>Amaranthus dubius</i> .	171

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Página
Revisión Bibliográfica		
1	Fotografía mostrando una planta de <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Tell.	18
CAPÍTULO I. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell.		
1	Contenidos de Mg(a), Na(b), Fe(c) y Zn(d) en mg·100 g ⁻¹ de biomasa seca, en hojas, tallos y panículas de <i>Amaranthus dubius</i> .	57
2	Contenido de Al en mg·100 g ⁻¹ de biomasa seca de <i>Amaranthus dubius</i> en época lluviosa y seca.	58
3	Contenidos de Ca (a) y K (b) en mg·100 g ⁻¹ de biomasa seca, en hojas, tallos y panículas de <i>Amaranthus dubius</i> .	59
CAPÍTULO II. Toxic and antinutritional substances content of <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell. Effect of plant part and harvesting season.		
1	Interaction effect between the parts of the plant and the harvesting season on the content of total oxalates (A), phytates (B), total phenols (C) and condensate tannins (D) in <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell. harvested in the State of Miranda, Venezuela.	84

CAPÍTULO III. Effects of diets with *Amaranthus dubius* Mart. ex thell. on performance and 4 digestibility of growing rabbits.

- 1 Live weight (g) of rabbits feed diets with *Amaranthus dubius* during the fattening period (35-87 days). 112

CAPÍTULO V. Evaluation of hematological, biochemical and histopathological parameters of rabbits fed *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

- 1 Effect of interaction between diet x sex on triglyceride (TG) values ($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$) and very low-density lipoprotein (VLDL) values ($\text{mg} \cdot \text{dL}^{-1}$) of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*. 172
- 2 Photomicrographs of histological sections of the heart (A and B), liver (C and D), lung (E and F), and small intestine (G and H) of growing rabbits fed with *Amaranthus dubius* (HE, 200x). 173

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°		Página
1	Versión original de la publicación: Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de <i>Amaranthus dubius</i> Mart. ex Thell (capítulo I: indicio de calidad presentado)	188

Organización de la Tesis



ORGANIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

El presente trabajo de Tesis Doctoral está organizado en cinco capítulos, relacionados con el amaranto o bleado (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) y la determinación del efecto del consumo de alimentos balanceados elaborados con el material vegetativo de esta especie sobre conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos.

Antes de los capítulos que corresponden a los protocolos de investigación, se presenta el resumen, el abstract, la introducción general, la revisión de literatura y los objetivos de investigación desarrollados. En la introducción general, se describe en forma breve los aspectos más importantes de la investigación, lo cual permite generar una idea de la importancia del tema y la forma como ha sido abordada en otras investigaciones. En la revisión bibliográfica, se desarrollan brevemente los contenidos relacionados con el *A. dubius* y la cría de conejos de engorde.

La Tesis Doctoral incluye cinco (5) protocolos experimentales publicados o enviados para arbitraje a distintas revistas, por lo cual su contenido y estructura general corresponde a artículos científicos. Sin embargo, para facilitar la comprensión lectora y homogeneizar el contenido de la Tesis, todos los protocolos se insertaron en un formato común y además se realizó un resumen. En el caso del primer protocolo, que es el único que hasta ahora ha sido publicado (Capítulo I: indicio de calidad), se incluyó como anexo en su versión original.

El Capítulo I escrito en español, corresponde al protocolo de investigación titulado “Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex

Thell.”, publicado en la Revista Interciencia. En el mismo presenta la composición de metales de la hojas, tallos y panículas de *A. dubius* cultivado en época lluviosa y seca.

El Capítulo II escrito en inglés, corresponde al protocolo de investigación titulado “Toxic and antinutritional substances content of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Effect of plant part and harvesting season” enviado para arbitraje a la Revista Chilean Journal of Agricultural Research. En el mismo se presenta la composición de oxalatos, fitatos, fenoles totales y taninos condensados de las hojas, tallos y panículas de *A. dubius* cultivado en época lluviosa y seca.

El Capítulo III escrito en inglés, corresponde al protocolo de investigación titulado “Effects of diets with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. on performance and digestibility of growing rabbits”, enviado para arbitraje a la Revista World Rabbit Science. En el mismo se describen, entre otros aspectos, la composición química de *A. dubius*, de los alimentos balanceados formulados y el efecto del consumo de estos alimentos sobre la ingesta, ganancia en peso, conversión alimentaria y digestibilidad en conejos de engorde de la raza Nueva Zelanda Blancos.

El Capítulo IV escrito en inglés, corresponde al protocolo de investigación titulado “Effect of dietary inclusion of *Amaranthus dubius* on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits”, enviado para arbitraje a la Revista Spanish Journal of Agricultural Research. En el mismo se describen, entre otros aspectos; el efecto del consumo de alimentos balanceados formulados con niveles crecientes de *A. dubius* sobre el peso

vivo, peso de la canal, y porcentaje de órganos y partes comestibles en conejos de engorde de la raza Nueva Zelanda Blancos.

El Capítulo V escrito en inglés, corresponde al protocolo de investigación titulado “Evaluation of hematological, serum biochemical and histopathological parameters of growing rabbits fed with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.”, enviado para arbitraje a la Revista Animal. En el mismo se describe el efecto del consumo de alimentos balanceados formulados con niveles crecientes de *A. dubius* sobre el estado de salud de conejos de engorde de la raza Nueva Zelanda Blancos, con base en la evaluación de los parámetros hematológicos, bioquímicos y el análisis histopatológico de corazón, hígado, pulmones e intestino delgado.

El documento de Tesis Doctoral finaliza con las conclusiones generales derivadas de los protocolos de investigación, de acuerdo con los objetivos planteados, y con las referencias bibliográficas utilizadas en la introducción y en la revisión de literatura.

Resumen



RESUMEN

El presente trabajo de Tesis Doctoral se compone de dos áreas distintas pero complementarias de investigación, la primera se relacionó con la determinación de metales y sustancias tóxicas y antinutricionales en el amaranto o bleado (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) cultivado en Venezuela, como forma de determinar su potencial uso como materia prima en la alimentación humana y animal (Capítulos I y II). La segunda correspondió a un ensayo de alimentación de conejos de engorde para determinar el efecto del consumo de alimentos balanceados formulados con *A. dubius* sobre las características de crecimiento, digestibilidad, canal, calidad de la carne, parámetros hematológicos, bioquímica sanguínea y cambios histológicos en los órganos vitales, entre otros aspectos (Capítulos III, IV y V).

Amaranthus dubius cultivado en la población de Merecure, estado Miranda, Venezuela; presentó una alta concentración de metales considerados esenciales en la alimentación humana y animal, especialmente calcio, magnesio y hierro. Además, mostró bajas concentraciones o ausencia de metales pesados, con excepción del aluminio. Se demostró que la concentración de metales varió en los distintos órganos de la planta y de acuerdo a la época de recolecta; sin embargo, cada metal presentó un comportamiento distinto, lo cual podría estar influenciado por diversos factores, como las características del metal, la fisiología de la planta y la composición el suelo donde se desarrolló el cultivo. En general, se observó que las hojas y las panículas de *A. dubius* presentaron mayor concentración de metales que los tallos y

que las tres partes de la planta mostraron mayor concentración de metales en la época lluviosa con respecto a la época seca. Estos hallazgos deben ser considerados para el cultivo de la planta y su posible uso en la industria alimentaria.

Además, *A. dubius*, mostró una baja concentración de oxalatos, fitatos, fenoles totales y taninos condensados, así como ausencia de cianuro y taninos hidrolizables. Se determinó que las sustancias tóxicas o antinutricionales evaluadas en las hojas, tallos y panículas fueron menores en la época lluviosa que en la época seca y en todos los casos estuvieron por debajo de los límites considerados perjudiciales para el consumo humano. Se concluyó que debido a su bajo contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales, *A. dubius* podría convertirse en una materia prima potencial para ser utilizada en la industria agroalimentaria.

En el ensayo con conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos alimentados con 0, 16 y 32% de *A. dubius* se observó un peso promedio final de 1.883,24 g, el cual fue inferior al peso comercial reportado en condiciones europeas de cunicultura industrial, pero similar a lo observado en Venezuela. Este hecho, podría estar relacionado con las condiciones de estrés térmico bajo las cuales se llevó a cabo el ensayo. Sin embargo, la mortalidad, morbilidad e índice de riesgo sanitario fueron bajos e independientes de la dieta. Por otro lado, se observaron altos coeficientes de digestibilidad de nutrientes. Se concluyó que los conejos alimentados con *A. dubius* mostraron un crecimiento normal de acuerdo a las condiciones experimentales; por lo cual, esta planta podría convertirse

en una fuente alternativa de proteínas y fibra en alimentos balanceados para conejos en condiciones tropicales.

En la misma investigación, con conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos alimentados con 0, 16 y 32% de *A. dubius*, se demostró que las dietas no afectaron la mayoría de las características de la canal. En general, los resultados obtenidos fueron similares a los reportados en otras investigaciones con dietas que incluyeron ingredientes alternativos en la alimentación de conejos. Por otro lado, el contenido de proteínas totales y grasa de la carne se incrementaron con la adición de *A. dubius*, mientras que el pH y la capacidad de retención de agua no fueron afectados. Se concluyó que de acuerdo a las características de la canal y la calidad de la carne, el *A. dubius* podría ser considerado una materia prima alternativa para la alimentación de conejos en condiciones tropicales y subtropicales.

La evaluación de los parámetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos de conejos Nueva Zelanda Blancos alimentados con *A. dubius* demostró que el consumo de este vegetal no afectó el estado de salud de los animales. Los valores de los parámetros hematológicos y bioquímicos generalmente se encontraron dentro de los rangos reportados para conejos sanos; con excepción de los correspondientes a la enzima fosfatasa alcalina, la cual fue superior en los tres grupos experimentales. El análisis histopatológico de los órganos de algunos de los animales utilizados en el ensayo, mostró algunas lesiones focalizadas e independientes de la dieta, posiblemente relacionadas con las condiciones de estrés térmico bajo las cuales se llevó a cabo el ensayo o por factores

intrínsecos. Se concluyó que la inclusión de *A. dubius* hasta un 32% en dietas para conejos no causó efectos negativos en la salud de los conejos.

PALABRAS CLAVE

Bledo, amaranto, *Amaranthus dubius*, metales, sustancias tóxicas, sustancias antinutricionales, alimento balanceado, formulación, composición, conejo, engorde, rendimiento productivo, nutrición, digestibilidad, canal, carne, estatus sanitario, histopatología, hematología, bioquímica sanguínea.

Summary



SUMMARY

This Doctoral Thesis is composed of two distinct research areas; the first refers to the determination of metals and toxic and antinutritional substances in Amaranth or Bledo (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) cultivated in Venezuela, as a way to determine its potential use as raw material in food industry (Chapters I and II). The second corresponds to a feeding trial of growing rabbits to determine the effects of consumption of balanced feeds formulated with *A. dubius* on growth characteristics, digestibility, carcass traits, meat quality, haematological and blood biochemical parameters, and histological changes in the vital organs, among other aspects (Chapters III, IV and V).

Amaranthus dubius cultivated in the population Merecure, Miranda State, Venezuela; presented high concentration of metals essential in human and animal nutrition, especially calcium, magnesium and iron. Moreover, it showed low levels or absence of heavy metals, with the exception of aluminium. It was shown that the concentration of metals varied in different plant organs and according to the harvesting season; however, each metal showed a different behaviour, which may be influenced by several factors, as the characteristics of the metal, plant physiology and soil composition where cultivation was carried out. Overall, was observed that the leaves and panicles of *A. dubius* showed higher metal concentrations than stems and three parts of the plant showed metal concentrations higher in the rainy season compared to the dry season. These findings should be considered for the cultivation of the plant and its potential use in the food industry.

Amaranthus dubius showed low concentration of oxalates, phytates, total phenols and condensed tannins, in addition to the absence of cyanide and hydrolysable tannins. It was determined that toxic or anti-nutritional substances assessed in leaves, stems and panicles were lower in the rainy season than in the dry season, and in all cases were underneath the limits considered harmful for human consumption. It was concluded that due to its low content of toxic and antinutritional substances, *A. dubius* could become a potential raw material for use in the food industry.

In the trial with rabbits of the New Zealand White breed fed balanced feeds with 0, 16 and 32% of *A. dubius*, it was observed an average final live weight of 1,883.24 g, which was below the commercial weight reported in European industrial farming conditions, but that was similar to the one observed in Venezuela. This fact could be related to heat stress conditions under which the trial was performed. However, mortality, morbidity and sanitary risk index were low and independent of the diet. Furthermore, high digestibility coefficients of nutrients were observed. It was concluded that rabbits fed *A. dubius* showed normal growth according to the experimental conditions; therefore, this plant could become an alternative source of protein and fibre in balanced feeds for rabbits under tropical conditions.

In the same research, with rabbits of the New Zealand White breed fed balanced diets with 0, 16 and 32% of *A. dubius* showed that the diets did not affect most of the carcass characteristics. In general, the results obtained were similar to those reported in other studies with diets that

included alternative ingredients for feeding rabbits. Moreover, total protein and fat content of the meat were increased with the addition of *A. dubius*, while the pH and the water retention capacity were not affected. It was concluded that according to the carcass characteristics and meat quality, the *A. dubius* could be considered an alternative for feeding rabbits in tropical and subtropical conditions.

The evaluation of haematological, biochemical and histopathological parameters of rabbits of the New Zealand White breed fed balanced diets with *A. dubius* demonstrated that this plant did not affect the health status of animals. The values of haematological and blood biochemical parameters were generally within the ranges reported for healthy rabbits; except those corresponding to the alkaline phosphatase enzyme, which were higher in all three experimental groups. Histopathological analysis of organs of some of the animals used in the research, showed some targeted lesions independent of diet, possibly related to heat stress conditions under which the trial was performed or intrinsic factors. It is concluded that inclusion of up to 32% *A. dubius* in rabbit diets did not cause negative effects on the health of growing rabbits.

KEY WORDS:

Bledo, Amaranth, *Amaranthus dubius*, metals, toxics substances, antinutritional substances, balanced feed, formulation, composition, rabbit, fattening, performance, nutrition, digestibility, carcass, meat, health status, histopathology, hematology, blood biochemistry.

Introducción



INTRODUCCIÓN

Amaranthus dubius, conocida en Venezuela como pira o bledo, es una planta anual de hábitos herbáceos, la cual presenta un alto rendimiento de materia verde, además de un excelente contenido de nutrientes y fibras (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009; Montero-Quintero *et al.*, 2011), lo cual lo convierte en materia prima potencial para su uso en la alimentación humana y animal (Montero-Quintero *et al.*, 2011). Esta planta, al igual que muchas amarantáceas, es muy resistente debido a que se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente altas temperaturas y suelos secos (Nama-Medoua y Oldewage-Theron, 2001; Tejeda *et al.*, 2004; Omami *et al.*, 2006).

En Venezuela, *A. dubius* es una planta silvestre localizada en la mayoría de las regiones de producción agropecuaria, y ha sido descrita como un arvense de muchos cultivos, principalmente maíz, sorgo y leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999). Por otro lado, por sus características agronómicas y cualidades nutricionales desde el año 2005 fue incluida en el programa de rescate de alimentos ancestrales y se considera una especie potencialmente cultivable (Acevedo *et al.*, 2007).

El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es un animal de granja que produce carne de excelentes cualidades organolépticas y nutritivas (Dalle Zotte, 2004; Combes y Dalle Zotte, 2005; Hernández y Gondret, 2006). La carne de conejos es un alimento de consumo habitual en Europa, especialmente en Malta, República Checa, Bélgica, Luxemburgo, Alemania, Portugal, Italia, España y Francia (FAOSTAT, 2010). Por otro lado, existe un

mercado importante en algunos países del norte de África como Egipto y Argelia, en China (mayor productor a nivel mundial) y en algunos países Latinoamericanos, especialmente en Argentina (Colin y Lebas, 1996; FAOSTAT, 2010; Giusti *et al.*, 2011). En Venezuela, la producción cunícola es una actividad pecuaria que ha sido muy poco tomada en cuenta y no se le ha dado el apoyo técnico y financiero requerido para su desarrollo; por lo tanto, solo existen granjas familiares de pequeños y medianos productores, dirigidas al autoconsumo o la venta de animales vivos a terceros, a través de lo cual generan algunos ingresos adicionales (Barrueta y Bautista, 2002; Osechas y Becerra-Sánchez, 2006).

La cría de conejos de engorde no solo es importante como actividad económica de los países productores (FAOSTAT, 2010; Giusti *et al.*, 2011), sino que también se presenta como una alternativa viable para la obtención de ingresos en las familias de escasos recursos de países en desarrollo, lo cual podría servir de base para la disminución de la pobreza (Amin *et al.*, 2011). Las diversas ventajas del conejo respecto a otras especies cárnicas (Carabaño *et al.*, 2008; Ghosh *et al.*, 2008) han hecho posible que hoy en día en muchas ciudades y pueblos de los cinco continentes existan familias que desarrollan la cunicultura como actividad económica y como forma de acceder a proteína animal de excelente calidad (García-López *et al.*, 2006; Ahamefule *et al.*, 2008; Amin *et al.*, 2011; Giusti *et al.*, 2011).

El principal factor limitante para la cría de conejos a pequeña o gran escala, es el costo de la alimentación cuando esta se realiza exclusivamente con alimentos balanceados comerciales, que llegan a

representar aproximadamente el 70% de los gastos en la producción cunícula (Moura *et al.*, 1997). Esta situación es determinante especialmente en los países pobres o en desarrollo con climas tropicales o subtropicales, debido a que los piensos son elaborados generalmente con materias primas importadas y por ello escasas y costosas, como la alfalfa o los subproductos del trigo (Al-Dobaib *et al.*, 2007; Nieves *et al.*, 2008, Capra *et al.*, 2013); incluso se utilizan productos como maíz y soya, importantes en la alimentación humana (Onifade y Tewe, 1993; Kadi *et al.*, 2011).

En estas regiones las investigaciones en el área cunícula están enfocadas hacia la formulación de nuevos productos de alta calidad nutricional, con materias primas nativas no convencionales y tecnologías propias, lo que permitiría un aumento significativo en la producción y disminución de los costos (Nouel *et al.*, 2003; Nieves *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2006; Nieves *et al.*, 2008; Guemour *et al.*, 2010). Debido a esto, en los últimos años se ha incentivado la investigación para incluir ingredientes alternativos en dietas para conejos, que incluyen plantas (Kadi *et al.*, 2011; Nieves *et al.*, 2011; Volek y Marounek, 2011), subproductos agroindustriales (Tres *et al.*, 2012, Dal Bosco *et al.*, 2012), semillas (Njidda e Isidahomen, 2011; Peiretti *et al.*, 2011b; Volek *et al.*, 2013) y algas (Mordenti *et al.*, 2010; Dal Bosco *et al.*, 2014). Al respecto, Nieves *et al.* (2011) plantearon que el uso de ingredientes alternativos en la alimentación de conejos, no solo podría contribuir a mejorar las estrategias de alimentación de esta especie, sino que además sería una actividad sostenible desde el punto de vista económico y ambiental.

Amaranthus dubius posee excelentes cualidades nutricionales; además en Venezuela existen las condiciones agroclimáticas para su explotación como cultivo a gran escala, por lo cual esta especie podría convertirse en materia prima alternativa, fuente de proteínas y fibra para la cría de conejos de engorde, en sustitución de las materias primas importadas, lo cual fortalecería la producción de este rubro, con una disminución significativa de los costos; además, permitiría la utilización de un producto vegetal considerado un arvense como materia prima de utilidad agroindustrial.

En este contexto, el presente trabajo de Tesis Doctoral evaluó la caracterización y formulación de alimentos balanceados para conejos con la inclusión de *A. dubius* y el estudio de los efectos sobre su crecimiento, digestibilidad, características de la canal, calidad de carne y el estado de salud.

Revisión Bibliográfica



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

AMARANTHUS DUBIUS, DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CARACTERÍSTICAS

El amaranto es una planta perteneciente a la familia Amaranthaceae, la cual presenta 70 géneros y más de 850 especies. El género *Amaranthus* presenta más de 60 especies herbáceas anuales o perennes, distribuidas en las zonas tropicales y subtropicales (Marccone *et al.*, 2003, Olivares y Peña, 2009), siendo las más estudiadas *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* y *A. hybridus* (Marccone *et al.*, 2003; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). Se conocen con diferentes nombres vulgares según las regiones de origen, tales como Kiwicha, Achita, Coyo o Achis en Perú; Coimi, Millmi, Inca pachaqui en Bolivia; Sangorache, Ataco o Quinoa de Castilla en Ecuador; Alegría o Huanthi en México; Rejgira, Ramdana o Eerai en India; Bledo, Yerba Caracas o Pira en Venezuela (Tapia, 1997; Olivares y Peña, 2009). Su clasificación botánica se presenta a continuación: Reino Plantae, División Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Caryophyllales, Familia Amaranthaceae, Género *Amaranthus*, Especie *A. dubius* Mart. ex Thell.

El amaranto es una planta con metabolismo fotosintético tipo C₄, con amplia diversidad genética, alta productividad, y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas temperaturas (Nama-Medoua and Oldewage-Theron, 2001; Tejeda *et al.*, 2004; Omami *et al.*, 2006), por lo cual resiste las condiciones adversas y presenta ventajas respecto a los cereales y otros cultivos

convencionales (Hernández y Herrerías, 1998; Brenner *et al.*, 2000; Rana *et al.*, 2007).

La planta de amaranto posee características que le permiten predominar sobre otras especies vegetales, su tallo posee un gran volumen de tejidos parenquimáticos, por lo cual tiene la capacidad de almacenar una cantidad importante de agua y de alimento, lo cual está favorecido por el hecho que posee un sistema radical que le permite obtener agua de las capas más profundas del suelo, por lo que puede retoñar, reproducirse y sostenerse durante todo el año con bajo suministro de agua (Tapia, 1997). Además, la planta produce gran cantidad de semillas, las cuales maduran y se dispersan rápidamente, posee un crecimiento, florecimiento y fructificación rápido, características que le permite tener un elevado potencial reproductivo, por lo cual es una planta muy agresiva en los procesos de sucesión ecológica (Grubben y Denton, 2004).

El amaranto es una planta que fue utilizada como alimento por las poblaciones precolombinas; posteriormente, su consumo decreció y fue abandonado como cultivo durante la conquista (Paredes-López, 1994). Actualmente, algunas especies son cultivadas a gran escala en China, EE.UU., India, México, Perú y algunos países europeos, donde son muy apreciadas por la excelente calidad de sus semillas, comparables nutricionalmente con los cereales (Tejeda *et al.*, 2004; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009).

Las especies más apreciadas debido a la calidad nutricional y la presencia de sustancias bioactivas en sus semillas son *A. cruentus*, *A.*

caudatus y *A. hypochondriacus* (Tejeda *et al.*, 2004; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009; Álvarez-Jubete *et al.*, 2010). Por otro lado, en los últimos años ha aumentado el interés en el estudio de especies productoras de hojas, como *A. dubius* (Arellano *et al.*, 2004; De Troiani y Ferramola, 2005; Acevedo *et al.*, 2007; Montero-Quintero *et al.*, 2011), *A. tricolor* (Kala y Prakash, 2004), *A. viridis* (Pandhare *et al.*, 2012) y *A. spinosus* (Hussain *et al.*, 2009).

En Venezuela se encuentran distribuidas unas 12 especies de amaranto, siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009). Son plantas que crecen en forma silvestre; se conocen como pira o bleado y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como maíz, sorgo y leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999; Carmona, 2007).

Amaranthus dubius, especie localizada en todas las regiones de Venezuela; es una planta anual de hábitos herbáceos que puede llegar a medir hasta 2 m de altura en condiciones favorables; su tallo ramificado es cilíndrico y anguloso con gruesas estrías longitudinales, la raíz es pivotante con abundantes ramificaciones y múltiples raicillas delgadas. Las hojas son abundantes, ligeramente pecioladas y sus flores son verdes o blancuzcas, agrupadas en espigas terminales de 10 a 25 cm (Morros *et al.*, 1990; Tapia, 1997; figura 1). Las inflorescencias son completamente laxas de cimas distantes y hojas caulinares subyacentes o con la parte superior terminal compacta y espiciforme; las semillas son de color negro, pequeñas (0,9-1 mm de diámetro), lisas y lenticulares (Correa *et al.*, 2004). La planta presenta una alta producción de material vegetativo y un excelente

contenido proteínas, minerales y fibra (Olivares y Peña, 2009; Montero-Quintero *et al.*, 2011). Sin embargo, no ha sido utilizado como cultivo.



Figura 1. Fotografía mostrando una planta de *Amaranthus dubius* Mart. ex Tell.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL *AMARANTHUS DUBIUS* Y USOS POTENCIALES

En los últimos años distintas especies de amaranto han sido ampliamente estudiadas y actualmente se siembran y utilizan en países como Ecuador, Perú, Bolivia, Argentina, México, Guatemala, Estados Unidos, Australia, China, India y algunos unos países del continente africano y del continente europeo (Bavec y MLakar, 2002; Tosi y Ré, 2003; Odhav *et al.*, 2007). Una de las razones del renovado interés es su excelente perfil de nutrientes en semillas y hojas; comparable con los

cereales (Barba de la Rosa *et al.*, 2009). Investigaciones recientes demuestran que las semillas de amaranto tienen un alto valor nutricional, asociado con la cantidad y calidad de sus proteínas, grasas, fibras, minerales y vitaminas. Además, posee compuestos bioactivos tales como saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Gorinstein *et al.*, 2007; Paško *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Álvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Amaranthus dubius presenta un alto rendimiento de materia verde, además de un excelente contenido de sustancias nutritivas (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007). En Venezuela existen las condiciones agroclimáticas para su explotación como cultivo y debido a su características nutricionales y agronómicas desde el año 2005 fue incluida en el programa de rescate de alimentos ancestrales y considerada una especie potencialmente cultivable (Acevedo *et al.*, 2007).

Arellano *et al.* (2004) reportaron que las muestras de *A. dubius* recolectadas en Argentina, presentaron un alto contenido en fibra insoluble y proteína, por lo cual consideraron que la especie posee un alto valor nutracético. En Venezuela, Acevedo *et al.* (2007) reportaron una alta concentración de proteínas (18%) y bajo contenido de fibra cruda en las hojas, tallos e inflorescencias de plantas de *A. dubius* silvestres recolectadas en el municipio Morán, estado Lara. Igualmente, Olivares y Peña (2009) encontraron una alta concentración de minerales, especialmente N, P, K, Ca, Mg, Fe y Zn en muestras de *A. dubius* recolectadas en varias zonas del estado Miranda. Sin embargo, los autores reportaron la presencia de metales tóxicos como Cd, Al, Cr y Pb. Por otro

lado, Montero-Quintero *et al.* (2011), estudiaron la composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de *A. dubius* cultivado en Merecure, estado Miranda, Venezuela (tabla 1). Los autores reportaron un excelente contenido de nutrientes y fibra, además de una baja concentración de sustancias tóxicas y antinutricionales.

Las cualidades nutricionales y características agronómicas de las distintas especies de amaranto las convierten en plantas de potencial interés para ser utilizadas en la industria agroalimentaria; además de ser totalmente aprovechables, en sus regiones de origen las semillas se consumen como cereal y sus hojas y tallos como verdura (Ortega, 1992; Barba de la Rosa *et al.*, 2009) o como infusiones medicinales (Saunders y Becker, 1984; Delascio-Chitty, 1985). Además se emplea como planta forrajera en la alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos, entre otros (Matteucci *et al.*, 1999; Piloto *et al.*, 2004; De Troiani y Ferramola, 2005).

La alimentación de conejos con *A. dubius* ha sido poco explorada; sin embargo, existen suficientes evidencias científicas que permiten indicar que este vegetal posee las características nutricionales ideales para ser utilizado como forraje verde o como materia prima para la elaboración de alimentos balanceados para conejos (Bautista y Barrueta, 2000; Ty *et al.*, 2013); especialmente podría ser incluida como fuente de proteínas, fibras y minerales, lo cual está potenciado por su bajos niveles de sustancias antinutricionales (Montero-Quintero *et al.*, 2011).

Tabla 1. Composición proximal, contenido mineral y de sustancias tóxicas y antinutricionales en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Variables	Partes de la planta		
	Hojas	Tallos	Panículas
Análisis proximal (%)			
Materia Seca	89,90 ^b	91,76 ^a	91,15 ^b
Cenizas	20,18 ^a	17,35 ^b	13,52 ^c
Proteína cruda	26,34 ^a	6,41 ^c	20,53 ^b
Fibra cruda	9,24 ^c	33,28 ^a	23,02 ^b
Extracto etéreo	1,04 ^b	0,62 ^c	1,83 ^a
ELN	43,22 ^a	42,38 ^{ab}	41,12 ^b
NDT ¹	62,68 ^c	64,28 ^b	67,75 ^a
Tóxicos y antinutricionales			
Fenoles totales (mg·100 g ⁻¹)	1,15 ^a	0,55 ^b	1,24 ^a
Fitatos (mg fitato·g ⁻¹)	2,29 ^b	1,14 ^c	6,99 ^a
Oxalato (mg oxalato·100 g ⁻¹)	29,24 ^a	20,98 ^b	17,62 ^c
Nitratos (mg NO ₃ ⁻¹ ·kg ⁻¹)	135,40 ^b	255,88 ^a	220,70 ^a
Minerales (mg·100 g⁻¹)			
Na	72,09 ^a	54,42 ^{ab}	38,58 ^b
K	2898,10 ^b	4184,50 ^a	2744,40 ^b
Mg	673,84 ^a	455,04 ^a	518,22 ^a
Ca	3088,20 ^a	1294,50 ^b	1559,50 ^b
Fe	73,08 ^a	41,75 ^b	60,71 ^{ab}
Zn	12,05 ^a	4,34 ^b	5,57 ^b
Cu	1,90 ^a	1,41 ^b	1,65 ^{ab}
Al	195,18 ^a	215,86 ^a	199,30 ^a
Hg	0,38 ^a	0,34 ^a	0,24 ^a

Fuente: Montero-Quintero *et al.* (2011).

Los valores con letras diferentes en la misma fila presentaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$). Nd: no se detectó la presencia de Pb y Cd. ¹NDT: Nutrientes digeribles totales.

PRODUCCIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA CARNE DE CONEJOS

Los conejos (*O. cuniculus*) presentan diversas ventajas como especie productora de carne en comparación con otros animales de granja; como lo son su rápida tasa de crecimiento, alta eficiencia reproductiva, requerimiento de poco espacio para su cría, facilidad de manejo y la posibilidad de incluir en su dieta, además de alimentos balanceados, verduras, frutas, follajes y diversos subproductos agroindustriales (Carabaño *et al.*, 2008; Ghosh *et al.*, 2008).

La carne de conejos es un producto muy apreciado en muchas regiones del mundo; sin embargo, los mayores niveles de consumo *per cápita* se reportan en el área del Mediterráneo, especialmente en Francia, Italia y España (FAOSTAT, 2004). De acuerdo con FAOSTAT (2010), la producción mundial de carne de conejo ha ido en aumento en los últimos 50 años, ubicándose en 1,6 millones de toneladas en 2009; liderada por China (700.000 ton·año⁻¹), Italia (230.000 ton·año⁻¹), España (74.161 ton·año⁻¹) y Francia (51.400 ton·año⁻¹).

La cría de conejos se considera una alternativa viable como estrategia para la disminución de la pobreza en los países en desarrollo; pequeñas explotaciones cunícolas podrían permitir que familias de escasos recursos reciban ingresos adicionales por la comercialización de la carne y los subproductos, además de tener acceso a proteína animal de excelente calidad (García-López *et al.*, 2006; Ahamefule *et al.*, 2008; Amin *et al.*, 2011). En Venezuela, la cría de conejos de engorde es una actividad marginal que se realiza en pequeñas granjas artesanales o en la propia vivienda, y la carne generalmente es para consumo familiar; en algunas

zonas se llega a alcanzar una producción suficiente para la comercialización a pequeña escala (Barrueta y Bautista, 2002; Osechas y Becerra-Sánchez, 2006). Por otro lado, existen estudios que demuestran que una parte importante de la población estaría dispuesta a consumir carne de conejos si tuviera acceso a ella (Muñoz y Osechas, 2000; Linares, 2004), por lo tanto, se necesitan mayores esfuerzos de investigación, asesoría e inversión para desarrollar la cunicultura en Venezuela.

La carne de conejos no solo es deliciosa, tierna y jugosa (McLean-Meynsse *et al.*, 1994; Dalle Zotte, 2002); sino que además es una rica fuente de proteínas, energía, minerales y vitaminas (tabla 2). Además, posee un bajo contenido de grasa (con mayor proporción de ácidos grasos polinsaturados), sodio y colesterol (Lebas y Matheron, 1982; Fielding, 1991; Dalle Zote, 2002; Peiretti *et al.*, 2011a). Por su composición nutricional la carne de conejos se considera de mejor calidad nutricional que otras carnes de consumo habitual (Fielding, 1991; tabla 3).

La evaluación sensorial de las carnes de 15 especies animales comerciales realizada por Rødbotten *et al.* (2004) demostró que la carne de conejos fue la de menor color, olor, intensidad sabor y sensación de sabor graso. Además se ubicó entre las más tiernas, con una jugosidad medio-baja y con poco grosor.

Tabla 2. Composición química y energía de la carne de los cortes y la canal conejos¹.

Composición	Patás	Lomo	Patás	Canal
	delanteras		traseras	
Humedad (%)	69,5±1,3	74,6±1,4	73,8±0,8	69,7±2,6
Proteína (%)	18,6±0,4	22,4±1,3	21,7±0,7	20,3±1,6
Lípidos (%)	8,8±2,5	1,8±1,5	3,4±1,1	8,4±2,3
Cenizas (%)	-	1,2±0,1	1,2±0,05	1,8±1,3
Energía (KJ·100 g ⁻¹)	899±47	603±0,0	658±17	789±11

Fuente: Dalle Zotte y Szendrő (2011).

¹Valores expresados como el promedio±desviación estándar de los valores reportados en varios estudios.

Tabla 3. Composición química de la carne de conejos comparada con otras carnes de consumo habitual.

Composición	Carnes				
	Conejo	Pollo	Res	Cordero	Cerdo
Materia seca (%)	20-23	20-23	40-50	40-50	50-55
Proteína (%)	20-22	19-21	15-17	14-18	10-12
Grasas (%)	10-12	11-13	27-29	26-30	42-48
Energía (MJ·kg ⁻¹)	7-8	7-8	11-14	11-14	17-20

Fuente: Fielding (1991).

La calidad nutricional y sensorial de la carne de conejos puede ser afectada por la alimentación, la edad, el peso de sacrificio (Ouhayoun, 1989), así como el sexo (Pla *et al.*, 1998; Lebas *et al.*, 2000).

Las excelentes propiedades nutritivas y dietéticas de la carne de conejo (Dalle Zotte, 2004; Combes, 2004; Combes y Dalle Zotte, 2005; Hernández y Gondret, 2006) han llevado a que se considere un alimento funcional (Dalle Zotte y Szendrő, 2011).

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LOS CONEJOS

La eficiencia productiva de los conejos está influenciada fundamentalmente por la genética, las condiciones de alojamiento y la alimentación (Carabaño *et al.*, 2008; Ghosh *et al.*, 2008; Gidenne *et al.*, 2010b; Szendrő y Dalle Zotte, 2011). Los conejos son animales estrictamente herbívoros; por lo cual, en su dieta pueden incluirse piensos, forrajes y subproductos agroindustriales (Carabaño *et al.*, 2008; Ghosh *et al.*, 2008); sin embargo, como todos los animales, necesitan un balance en el contenido de energía, proteínas, fibras, minerales y vitaminas (De Blas y Mateos, 2010; tabla 4). Además de la composición de nutrientes de los piensos, debe tomarse en cuenta su calidad microbiológica, sus características físicas y la composición de las materias primas utilizadas en su elaboración (De Blas y Mateos, 2010).

Tabla 4. Requerimientos nutricionales de los conejos de engorde en cría intensiva (concentración·kg⁻¹; corregidos a materia seca de 900 g·kg⁻¹)^a.

Nutriente	Unidad	Valor
Energía digestible	MJ	10,5
Energía metabolizable	MJ	10,0
Fibra neutro detergente ^a	g	33,5
Fibra ácido detergente	g	17,5 (16,0-18,5) ^b
Fibra cruda	g	14,5 (13,5-15,0) ^b
Lignina ácido detergente	g	5,5
Extracto etéreo	g	Libre
Proteína cruda	g	15,3 (14,5-16,2) ^b
Proteína digestible	g	10,7 (10,2-11,3) ^b
Lisina ^c	g	7,5
Aminoácidos azufrados ^c	g	5,4
Treonina ^c	g	6,4
Calcio	g	6,0
Fósforo	g	4,0
Sodio	g	2,2
Cloro	g	2,8

Fuente: De Blas y Mateos (2010).

^aLa proporción de partículas de fibras largas (> 0,3 mm) debe ser superior a 0,25.

^bLos valores entre paréntesis indican el rango mínimo y máximo recomendado.

^cLos requerimientos totales de aminoácidos están calculados para un aporte de aminoácidos sintéticos de 0,15.

La energía contenida en los alimentos, aportada principalmente por los carbohidratos y las grasas y en menor proporción por las proteínas, es un factor importante a considerar en la alimentación de conejos, debido a que estos ajustan su consumo de pienso en función de la concentración de energía alimentaria (Partridge, 1989). Por otro lado, los requerimientos nutricionales de los conejos están influenciados por factores como la función productiva (crecimiento, lactancia, mantenimiento, entre otros), edad, sexo, tamaño del cuerpo y las condiciones ambientales (Kellems y Church, 2002). Los requerimientos de energía digestible y energía metabolizable en conejos de engorde son 10 y 10,5 MJ·kg⁻¹ de alimento, respectivamente (De Blas y Mateos, 2010, tabla 4).

Las proteínas y fundamentalmente los aminoácidos que las componen, son un nutriente esencial para los conejos y representan el principal factor limitante para su crecimiento (Fielding, 1991; Trocino *et al.*, 2013b). En los piensos para conejos, es frecuente encontrar niveles de proteínas o de aminoácidos esenciales como lisina y metionina, menores a los requerimientos del animal (Gillespie, 1998), debido a que las materias primas más comunes utilizadas en su elaboración, tales como granos, cereales y tubérculos, son bajas en proteínas; por otro lado, aquellos ingredientes que aportan buena calidad y cantidad de este nutriente suelen ser escasos y costosos (Al-Dobaib *et al.*, 2007; Nieves *et al.*, 2008; Capra *et al.*, 2013). Los requerimientos de proteínas para conejos de engorde son en promedio 15,3 g·kg⁻¹ de alimento (De Blas y Mateos, 2010; tabla 4); sin embargo, en este parámetro es indispensable considerar la proporción proteína/energía; lográndose los mayores rendimientos en

dietas con una proporción $10 \text{ g} \cdot \text{MJ}^{-1}$ (De Blas *et al.*, 1981; Fraga *et al.*, 1983).

En la alimentación de conejos, la fibra insoluble (hemicelulosas, celulosa y lignina; Mertens, 2003) y la fracciones fibrosas menos lignificadas, no se consideran nutrientes en los conejos, debido a que se digieren en proporciones menores al 20% (Maertens, 1992; Trocino *et al.*, 2013a); sin embargo, influyen en la velocidad del tránsito intestinal y son el sustrato para los microorganismos, y por lo tanto afectan y regulan el crecimiento y la salud digestiva de los conejos (Gidenne *et al.*, 2010a; Gidenne *et al.*, 2010b). Los efectos de aumentar el nivel de fibra soluble en la alimentación del conejo y de las interacciones entre la fibra soluble y otros nutrientes de la dieta no han sido completamente aclarados (Trocino *et al.*, 2013b); sin embargo, se ha planteado que la fibra soluble puede reemplazar el almidón en dietas para conejos, sin efectos negativos sobre la utilización de la dieta y el comportamiento del crecimiento cuando se mantiene el nivel de fibra insoluble constante (Trocino *et al.*, 2011), ya que contribuye a aumentar el valor energético (García *et al.*, 1993; De Blas y Carabaño, 1996; Pérez *et al.*, 2000). Los requerimientos de fibra cruda, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y lignina ácido detergente en conejos de engorde son, en promedio, 14,5; 33,5; 17,5 y 5,5 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectivamente (De Blas y Mateos, 2010; tabla 4).

Los minerales y las vitaminas son micronutrientes que deben ser incluidos en los piensos para conejos para garantizar su desarrollo normal; generalmente se incluyen premezclas que garantizan los requerimientos del animal (Mendez *et al.*, 2010).

En los países tropicales y subtropicales el costo de los alimentos balanceados que garanticen los requerimientos nutritivos de los conejos es muy alto, debido a que se elaboran con materias primas importadas, escasas y costosas, lo cual limita el desarrollo de la cunicultura en estas regiones (Al-Dobaib *et al.*, 2007; Nieves *et al.*, 2008, Capra *et al.*, 2013). En este contexto, se hace necesario la búsqueda de materias primas alternativas para la elaboración de los piensos, especialmente fuentes de proteínas y fibras, para sustituir alfalfa (*Medicago sativa*), soja (*Glycine max*), cebada (*Hordeum vulgare*), entre otras materias primas usadas en los países desarrollados en la formulación de piensos para conejos (Guemour *et al.*, 2010; Kadi *et al.*, 2011; Volek *et al.*, 2013). En estas regiones existen diversas especies vegetales con alto potencial alimenticio para animales herbívoros, las cuales pueden competir en condiciones ventajosas con las materias primas convencionales utilizadas como fuentes de proteínas, tales como cereales y la soja (Nieves *et al.*, 2002; Nieves *et al.*, 2008). Como fue indicado anteriormente y basado en el estudio realizado por Montero-Quintero *et al.* (2011), *A. dubius* posee una composición nutricional que la convierte en una materia prima potencial para la elaboración de piensos para conejos, especialmente como fuente de minerales, proteínas y fibra (tabla 1).

RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN CONEJOS DE APTITUD CÁRNICA

Las razas cunículas se clasifican, según su peso corporal adulto, en enanas (alrededor de 1 kg), ligeras (2,5 a 3 kg), medianas (3,5 a 5 kg) y pesadas (mayor a 5 kg). Las razas Nueva Zelanda Blanca y la Californiana (medianas) han sido las más utilizadas a nivel mundial para la producción de carne (González-Redondo y Caravaca-Rodríguez, 2007); sin embargo, en las explotaciones a gran escala actualmente se utilizan híbridos comerciales obtenidos por cruces a tres vías utilizando diversos criterios, lo que garantiza la obtención de mayores rendimientos (Lebas *et al.*, 1996; Hernández *et al.*, 2006b). La tabla 5 muestra los principales cruces de conejos de aptitud carnica utilizados en explotaciones comerciales.

La genética, el manejo y las condiciones medioambientales y de alojamiento, determinan la edad de sacrificio de los conejos hasta alcanzar un peso óptimo (Vostrý *et al.*, 2008), el cual es fijado por el mercado (Pla *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 2004; Lebas *et al.*, 2009; tabla 6). El periodo de engorde se inicia con el destete (30-35 días) y puede prolongarse hasta 80 y 100 días; sin embargo, el punto de inflexión en el crecimiento se ubica generalmente entre los 50 y 70 días de edad (Vostrý *et al.*, 2008). En las mejores condiciones, los pesos de sacrificio con conejos de líneas comerciales varían entre 2500-3000 g, con una ganancia en peso de 20-40 g·d⁻¹ (Dědková *et al.*, 1999) y consumo de alimento de 100-150 g·d⁻¹ (Lebas *et al.*, 1996).

Tabla 5. Índices de conversión alimentaria de los principales cruces de conejos de aptitud cárnica relacionados con la edad (a 2200 g de peso).

Cruzamientos	Índice conversión	Edad en días
Gigante Bouscat x Neozelandés	2,99	67
Neozelandés x California	3,04	78
Neozelandés x Neozelandés	3,18	72
Plateado de Champagne x California	3,20	78
Gigante Bouscat x California	3,16	77
California x Neozelandés	3,25	74
Leonardo de Borgoña x Neozelandés	3,29	75
Neozelandés x Pequeño Ruso	3,52	78
California x California	3,58	78

Fuente: MAGRAMA (2014).

Tabla 6. Peso de sacrificio, peso de la canal y edad de conejos de líneas comerciales bajo condiciones Europeas.

País	Peso vivo (g)	Peso de la canal (g)	Edad de sacrificio (días)
Francia	2400 - 2500	1400 - 1500	67 - 77
España	2000 - 2200	1000 - 1100	60 - 67
Norte de Italia	2700 - 2800	1600 - 1800	85 - 90

Fuente: Lebas *et al.* (2009).

En las regiones donde la cunicultura no ha alcanzado gran desarrollo como África o América Latina, se observan menores rendimientos debido a que además de aspectos genéticos, se presentan problemas de manejo y el efecto de las condiciones medioambientales, por lo cual los pesos comerciales de sacrificio tienden a ser menores a 2 kg o bien la edad de sacrificio es superior a los 90 días (Dalle Zotte, 2002; Zeferino *et al.*, 2013).

Las características y calidad de la canal se evalúan a través de la determinación de muchos parámetros; entre los más importantes se encuentra el peso de las canales (fría, caliente y de referencia), el peso o porcentaje de los órganos (corazón, hígado, pulmones, riñón), el peso o porcentaje de los cortes obtenidos mediante el despiece tecnológico (lomo, caja torácica, patas traseras, patas delanteras), la grasa disecable, el pH y la capacidad de retención de agua, entre otras (Blasco y Ouhayoun, 1996; Hernández *et al.*, 2004). En general las características de la canal varían con diferentes edades y pesos de sacrificio (Ouhayoun y Delmas, 1989), razas (Pla *et al.*, 1998), sexo o grado de madurez (Piles *et al.*, 2000), por lo cual las comparaciones resultan difíciles; además, los autores suelen usar distintas fórmulas para calcular algunos parámetros o los expresan en distintas unidades (Hernández *et al.*, 2006; Hassan *et al.*, 2011; Bovera *et al.*, 2012; El-Adawy *et al.*, 2012).

La edad de sacrificio de los conejos afecta marcadamente las características y calidad de la canal; a mayor edad se observa un mayor peso de sacrificio y por ello un mayor peso de la canal fría y la canal de referencia (Pla *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 2004), lo cual determina a su vez el valor comercial del conejo (Dalle Zotte, 2002; Liu *et al.*, 2012). Por el

contrario, la proporción entre el peso de la canal y el peso de los órganos es mayor en los animales con menor grado de madurez, al igual que el peso de piezas como la caja torácica, las patas delanteras y las patas traseras (Hernández *et al.*, 2004). Las tablas 7 y 8 muestran algunas características de la canal de conejos de ensayos con líneas sintéticas diferentes y de comercializados en España, respectivamente.

Por otro lado, los rendimientos productivos de los conejos pueden ser afectados por la incidencia de enfermedades, las cuales afectan la producción en granja, debido a que aumentan la mortalidad o disminuyen el crecimiento (Dewrée *et al.*, 2007; Licois *et al.*, 2005). Las causas predominantes de mortalidad y morbilidad siguen siendo las enfermedades entéricas, seguidas por las mixomatosis, la enfermedad hemorrágica vírica, los problemas reproductivos, los problemas respiratorios y las estafilococcias (Villafuerte *et al.*, 1995; Carabaño *et al.*, 2008; Rosell *et al.*, 2009). Pascual *et al.* (2012) reportaron que los valores de mortalidad entre el nacimiento y el sacrificio en explotaciones cunícolas españolas entre los años 2008 y 2011 se ubicaron en el rango de 17,8-21,5%.

Tabla 7. Características de la canal de diferentes líneas sintéticas de conejos.

Características de la canal	I	II
Peso de sacrificio (g)	2.000	2.181
Canal fría (g)	1.232	1.205
Canal de referencia (g)	994	948
Conjunto de órganos torácicos (timo, tráquea, esófago, pulmones y corazón)	2,53	2,66
Cabeza (%)	8,51	8,76
Hígado (%)	7,14	7,49
Riñones (%)	1,20	1,26
Patas traseras (%)	37,27	30,00
Patas delanteras (%)	16,55	13,10
Caja torácica (%)	11,95	9,43
Lomo (%)	37,27	23,8
Grasa disectible (%)	3,29	3,22
Ratio carne/hueso	5,03	5,43
pH	5,70 ¹	5,54 ²
Capacidad de retención de agua (%)	33,83	30,7

I. Se utilizó una línea sintética de conejos con base en la raza California (Universidad Politécnica de Valencia, España), destetados y sacrificados a los 28 y 63 días, respectivamente (Piles y Pla, 2000).

II. Se utilizaron tres líneas de conejos sintéticos con base en la raza nueva Zelanda Blancos, California e híbridos comerciales (Universidad Politécnica de Valencia, España), destetados y sacrificados a los 28 y 63 días, respectivamente (Hernández *et al.*, 2006a).¹Determinado en el músculo *Longissimus dorsi*. ²Determinado en el músculo *Longissimus lumborum*.

Tabla 8. Características de la canal (g) de conejos comercializados en España.

Características de la canal	Promedio	Rango
Canal fría (g)	1031	836-1413
Canal de referencia (g)	842	664-1194
Cabeza (g)	93	83-107
Hígado (g)	60	29-103
Riñones (g)	12,3	9,0-19,5
Vísceras torácicas (g)	20,2	19,0-35,0
Patas delanteras (g)	141	111-185
Caja torácica (g)	97	76-138
Lomo (g)	259	199-388
Patas traseras (g)	321	263-435
Grasa disecable (g) ¹	20,2	-

Fuente: Pla *et al.* (2004).

¹Calculado por la sumatoria de la grasa inguinal, escapular y perirenal.

Objetivos



OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar el efecto del consumo de alimentos balanceados formulados con niveles crecientes de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. en conejos de engorde de la raza Nueva Zelanda Blancos.

ESPECÍFICOS

- Determinar la composición de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. cultivado en época lluviosa y seca.
- Determinar la composición de sustancias tóxicas y antinutricionales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. cultivado en época lluviosa y seca.
- Determinar el efecto del consumo de dietas con la inclusión de niveles crecientes de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. sobre el crecimiento y digestibilidad de conejos de engorde de raza Nueva Zelanda Blancos.
- Determinar el efecto del consumo alimentos balanceados elaborados con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. sobre las características de la canal y calidad de la carne de conejos de engorde de raza Nueva Zelanda Blancos.
- Evaluar el efecto del consumo de dietas formuladas con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. sobre el estado de salud de conejos de engorde de raza Nueva Zelanda Blancos, con base en la evaluación de los parámetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos.

Artículo I

**Efecto de la época de recolecta y
órgano de la planta sobre el contenido
de metales de *Amaranthus dubius*
Mart. ex Thell.**



ARTÍCULO I.

Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Publicado en la revista *Interciencia* 36(5): 386-391, 2011.

Índice de Impacto de 0,308 y posición 126/134 (cuarto cuartil y tercer tercil) en la categoría "Ecology" del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2011).

Edgar Molina, Pedro González-Redondo, Keyla Montero, Rosa Ferrer, Rafael Moreno-Rojas, Adriana Sánchez-Urdaneta

RESUMEN

El amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) es utilizado como planta forrajera en la alimentación de ovinos, caprinos, porcinos y bovinos, además, de ser reportada como arvense en diversos cultivos comerciales. Se evaluó el contenido de metales en hojas, tallos y panículas de amaranto recolectado en época lluviosa y seca. Las plantas fueron cultivadas en la población de Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela. Se determinó la concentración de Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Al, Cd, Pb y Hg por espectroscopia de absorción atómica y Na y K por fotometría de llama. Los valores encontrados fueron superiores a los reportados por otros investigadores en la misma y en otras especies de amaranto. Los metales mayoritarios fueron Ca, K, Al, Mg y Fe. Se detectó trazas de Hg y no se evidenció la presencia de Cd y Pb. La acumulación de metales fue heterogénea entre los órganos de la planta y estuvo influenciada por la época de recolecta.

PALABRAS CLAVE

Amaranthus dubius, época de recolecta, metales, órgano vegetal.

SUMMARY

Amaranth (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) is used as forage in the diet of sheep, goats, pigs and cattle, and is also reported as weed in various commercial crops. Its metal content was evaluated in leaves, stems and panicles of plants collected in the rainy and dry seasons. The plants were grown in the town of Merecure, Acevedo Municipality, Miranda State, Venezuela. The concentration of Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Al, Cd, Pb and Hg were evaluated by flame photometry. The values found were higher than those reported in other studies in the same as well as other species of amaranth. The major metals were Ca, K, Al, Mg and Fe. Traces of Hg were detected, while the presence of Cd and Pb was not detected. Metal accumulation differed among plant organs, and was influenced by the collection season when.

INTRODUCCIÓN

El amaranto, bleado o pira, es una planta perteneciente al género *Amaranthus* (familia Amarantaceae), el cual comprende más de 60 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales (Marccone *et al.*, 2003; Olivares y Peña, 2009). Es una planta con metabolismo fotosintético tipo C4, con amplia diversidad genética, alta productividad, y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas temperaturas (Omami *et al.*, 2006). Las especies más importantes a nivel mundial son *A. cruentus*, *A. caudatus* y *A. hypochondriacus*, las cuales son cultivadas en gran escala en China, Estados Unidos, India, México,

Perú y algunos países europeos, donde son muy apreciadas por la excelente calidad de sus semillas (Tejeda *et al.*, 2004; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009).

En Venezuela se encuentran alrededor de 12 especies, siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007; Olivares y Peña, 2009). Estas son plantas que crecen en forma silvestre y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como maíz, sorgo y algunas leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999).

Las cualidades nutricionales y características agronómicas de las distintas especies permiten reconocerlas como plantas de potencial interés para ser utilizadas en la industria agroalimentaria. En la alimentación humana se consumen sus semillas como cereal, sus hojas y tallos como verdura; además, se suelen preparar bebidas, tortas, infusiones medicinales, entre otros productos (Ortega, 1992; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). También se le emplea como planta forrajera en alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos y conejos, entre otros (Masoni y Ercali, 1994; Matteucci *et al.*, 1999; Troiani y Ferramola, 2005).

En los últimos años el amaranto ha sido ampliamente estudiado, siendo una de las razones del renovado interés por esta planta su composición y proporción de proteínas, comparable con los cereales. Estudios recientes muestran que las semillas del amaranto tienen un valor nutricional alto, asociado con la cantidad y calidad de sus proteínas, grasas, fibras, minerales y vitaminas; además, posee compuestos

bioactivos tales como saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Paško *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Álvarez-Jubete *et al.*, 2010). La composición mineral de los alimentos ayuda a predecir su efecto en los consumidores, por el aporte de minerales esenciales y por los efectos tóxicos que puedan generar (Islander y Davis, 1992). La composición mineral de diversas especies de amaranto (Odhav *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009) revela la presencia de macrominerales (Na, Ca, K, Mg y P), microminerales (Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Cr y Ni) y metales tóxicos (Pb, Cd, Hg y Al). Las concentraciones de estos minerales varían con la especie, madurez y órgano de la planta; así como las características del suelo y clima de desarrollo (Alfaro *et al.*, 1987; Olivares y Peña, 2009).

Por otro lado, los consumidores reconocen la necesidad de adquirir alimentos con mayor cantidad y calidad de nutrientes, debido a la frecuencia de enfermedades carenciales, especialmente entre los niños (Obiajunwa *et al.*, 2002), por lo cual buscan fuentes alimentarias de fácil acceso y calidad alta (Ozcan y Akbulut, 2009). Por su contenido de minerales y otros nutrientes, el amaranto podría convertirse en alimento alternativo; por ejemplo, su contenido alto de Fe puede disminuir la incidencia de anemias en niños (Hurrell, 1997) o los problemas de crecimiento causados por la deficiencia de Zn (Gibson y Ferguson, 1998). Además, aporta Ca, Mg, Na y K, elementos esenciales en la nutrición (Mahan y Escott-Stump, 2001).

Amaranthus dubius, presenta un rendimiento alto de biomasa (Arellano *et al.*, 2004; Acevedo *et al.*, 2007), y debido a sus características nutricionales y agronómicas fue incluido desde 2005 en el programa de

rescate de alimentos ancestrales y considerado especie potencialmente cultivable (Acevedo *et al.*, 2007).

En el presente estudio se evaluó el efecto de la época de recolecta (lluvia y sequía) y órgano de la planta (hojas, tallos y panículas) en el contenido de metales en *A. dubius*, los resultados evidencian su potencial para la alimentación humana y animal en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y procesamiento de las muestras

Las muestras de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. fueron obtenidas en una siembra experimental ubicada en la Hacienda El Néctar, en la población de Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" O). El suelo fue preparado con rastra y fertilizado con abono orgánico (capa vegetal y gallinaza), las semillas se sembraron en surcos, sin riego. Se recolectaron muestras en la época lluviosa (septiembre-noviembre 2007) y en la época seca (enero-abril 2008), aproximadamente 80 días después de la siembra. Se separaron hojas, tallos y panículas. Los órganos de la planta se deshidrataron en estufa (50-60 °C·40 h⁻¹) con rotación y aireación constante; luego fueron molidos, tamizados con partículas ≤0,5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27) y almacenados en envases de polietileno con tapa hermética, se cubrieron con un saco de tela y se guardaron en estantes de madera a temperaturas de ≤20 °C para su análisis posterior.

Métodos analíticos

La humedad fue determinada por el método de AOAC (1995). La concentración de metales en la harina se obtuvo por espectrofotometría de absorción atómica; con excepción de Na y K que se determinaron por fotometría de llama (AOAC, 1995). Las muestras fueron previamente digeridas mediante el uso de sistemas cerrados de alta presión tipo bombas Parr de 20 mL de capacidad. A la muestra húmeda (0,3 g) se le adicionaron 5 mL de HNO₃ concentrado y se mantuvo en digestión por 5 h a 105 °C. El residuo fue recolectado y aforado en un matraz de 25 mL (solución madre), a partir del cual se obtuvieron diluciones específicas para cada mineral (Okamoto y Fuwa, 1984). Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Ermer 3110, con condiciones específicas de preparación y análisis para cada metal.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos 2×3, con cuatro repeticiones y tres submuestras. Los factores estudiados fueron la época de recolecta (lluviosa y seca) y partes de la planta (hojas, tallos y panículas). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y subsecuente comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey para los efectos simples y LSMeans para las interacciones; para ello se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; 2002-2003, versión 9.1.3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de metales en los órganos de la planta

Ca, K, Al, Mg y Fe fueron los metales mayoritarios en todos los órganos de la planta evaluados (hojas, tallos y panículas) en ambas épocas de recolecta, seguidos por Na, Zn y Cu; mientras que el Hg se encontró en muy bajas concentraciones (trazas) y no se detectó la presencia de Cd y Pb.

Las concentraciones mayores de Ca y Mg se encontraron en las hojas en época seca y las menores en los tallos para la misma época. En el caso de Zn y Cu los mayores valores se encontraron en las hojas en época lluviosa y los menores en los tallos en época seca. En cuanto al contenido de Na y Al, éste fue mayor en los tallos en época lluviosa y menor en las panículas en la misma época, al igual que en las hojas en época seca, respectivamente. El K fue mayor en los tallos y menor en las hojas en época seca, mientras que el Fe fue mayor en las hojas y menor en los tallos en época lluviosa y el Hg fue mayor en las hojas en época lluviosa y menor en el mismo órgano en época seca (tabla 1).

Los contenidos de Ca, Mg y Na en las hojas fueron similares en ambas épocas de recolecta, con disminuciones >50% de la época lluviosa a la seca en Zn y Hg (62,29 y 59,26%, respectivamente) y disminuciones entre aproximadamente 20 y 50% para Cu, K, Al y Fe (23,72; 25,80; 33,83 y 47,98%, respectivamente). En los tallos se mantuvieron contenidos similares de Fe, Zn y Hg en ambas épocas de recolecta, con disminuciones en las concentraciones de Mg, Na, Ca, Al y Cu entre 60 y 12% de la época lluviosa a la seca (59,30; 52,92; 35,17; 25,50 y 12,67%, respectivamente).

En el caso de las panículas, fueron similares los contenidos de Cu y Hg tanto en la época lluviosa como en la seca; los contenidos de Na, Ca, Mg, Fe y K incrementaron de la recolecta en época lluviosa a la de época seca (141,91; 91,39; 62,90; 6,98 y 6,97%, respectivamente), mientras que los contenidos de Zn y Al disminuyeron en las panículas recolectadas durante la época seca (28,35 y 6,91%, respectivamente).

El contenido de Ca en la recolecta de la época lluviosa fue 1,92 y 2,82 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y panículas, respectivamente, y 1,47 veces mayor en las panículas que en los tallos. En la época seca fue 3,10 y 1,54 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y panículas, respectivamente, y 2,01 veces mayor en las panículas que en los tallos. El contenido de Mg en la época lluviosa fue similar para hojas y tallos, pero fue 1,68 y 1,64 veces mayor en las hojas y tallos respecto a las panículas; en la época seca fue 2,61 veces mayor en las hojas que en los tallos, similar entre las hojas y panículas, pero 2,44 veces mayor en las panículas con respecto a los tallos. Con respecto al contenido de Na, fue similar para hojas y tallos en época lluviosa y en las hojas fue 3,22 veces mayor que en las panículas; en la época seca fue 2,05 veces mayor en las hojas que en los tallos y 1,31 veces mayor en las hojas que en las panículas y 1,57 veces mayor en las panículas con respecto a los tallos.

El contenido de K fue 1,24 y 1,56 veces mayor en los tallos que en las hojas y panículas, respectivamente, para la época lluviosa y 1,25 veces mayor en las hojas al compararlas con las panículas; en la época seca fue 1,72 y 1,49 veces mayor en los tallos que en las hojas y panículas, respectivamente, pero fue similar entre las hojas y las panículas. El

contenido de Fe fue 2,32 y 1,61 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y panículas en el época lluviosa, mientras que en la época seca fue 1,19 mayor en las hojas; 1,28 y 1,52 veces mayor en las panículas con respecto a las hojas y tallos, respectivamente. El contenido de Zn fue mayor en las hojas tanto en la época lluviosa como seca siendo 4,78; 1,53; 3,29 y 1,39 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y panículas en época lluviosa y seca, respectivamente; las panículas tuvieron 1,45 veces más Zn que los tallos en la época lluviosa, con valores similares en época seca. Para las hojas, tallos y panículas los contenidos de Cu, Al y Hg fueron similares en época lluviosa y seca, con excepción del contenido de Cu y Hg que fueron superiores en las hojas en época lluviosa (tabla 1).

Esto demostró que los metales se acumularon en los órganos de la planta en ambas épocas de recolecta, sin mostrar una tendencia definida, lo cual podría estar influenciado por la naturaleza del metal, los elementos contenidos y su movilidad en el suelo, los mecanismos fisiológicos propios de la planta y las condiciones climáticas (Srikumar, 1993, Martin de Troiani *et al.*, 2005).

Los contenido de metales de *A. dubius* (tabla 1) obtenidos fueron superiores a la mayoría de los reportados por otros autores (tabla 2), inclusive de muestras de la misma especie recolectadas en Venezuela (Acevedo *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009). Por el contrario, fueron inferiores a los reportados para la misma especie recolectada en Sudáfrica y en las especies *A. spinosus* y *A. hipocondriacus* (tabla 2).

El contenido de Fe se encontró en mayor proporción que el Na en la mayoría de las muestras analizadas. Este hallazgo es relevante por la

importancia del Fe en la dieta diaria, cuyos requerimientos en un adulto han sido establecidos en $1 \text{ mg}\cdot\text{día}^{-1}$ (Bothwell *et al.*, 1989). Debido a su alta concentración, puede considerarse al *A. dubius* una buena fuente de Fe en la alimentación.

El bajo contenido de Hg y la ausencia de Cd y Pb podría ser un indicador importante de la baja toxicidad del vegetal, lo cual difirió de lo reportado por Olivares y Peña (2009) al demostrar la presencia de Cd y Pb en *A. dubius* y *A. hybridus* recolectadas en varias zonas de Venezuela; en ese caso las altas concentraciones fueron atribuidas al contenido de estos minerales en el suelo y a la absorción desde el aire; debido a que la recolección de las muestras se realizó en zonas agrícolas pobladas. Se ha reportado que las Amarantheceae actúan como fitoremediadores de suelos contaminados con metales pesados, debido a su capacidad de adaptarse y sobrevivir en estas condiciones (Del Río *et al.*, 2002; Chuilall *et al.*, 2005). Esta característica de la planta ha sido considerada beneficiosa desde el punto de vista ambiental, pero representa un peligro potencial para los consumidores. Chan y Corke (2002) y Nabulo *et al.* (2006) reportaron la presencia de Pb, Cd y Zn en *A. dubius* silvestre de varias localidades de Uganda; igualmente Del Río *et al.* (2002) reportaron la presencia de estos metales pesados en muestras de *A. blitoides*. En ambos casos, los valores fueron superiores a los encontrados en el presente estudio. Este hallazgo es de interés debido a que demuestra la necesidad de cultivar el amaranto en suelos adecuados para evitar la presencia de altos niveles metales pesados en sus tejidos, lo cual es perjudicial para los consumidores.

El contenido relativamente alto de Al en las muestras analizadas fue consistente con lo reportado por Olivares *et al.* (2002), quienes indicaron que los arvenses tendieron a acumular una mayor proporción de Zn, Fe y Al con respecto a las demás plantas y siguieron un patrón similar a las plantas hiperacumuladoras. Reeves y Baker (2000) y Peralta-Videa (2002) reportaron que el Al se encontró en vegetales en una mayor o menor proporción de acuerdo a las condiciones generales del suelo. El contenido de Al en alimentos es un dato de interés toxicológico, debido a su posible participación en la etiología de ciertas enfermedades neurodegenerativas (Pennington y Shoen, 1995).

Efecto de la interacción época de recolecta-órgano de la planta sobre el contenido de metales

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas ($P < 0,01$; $P < 0,0001$; $P < 0,003$ y $P < 0,002$, respectivamente) por efecto de la interacción entre la época de recolecta y los órganos de la planta sobre el contenido de Mg, Na, Fe y Zn (figura 1). El Mg se presentó en mayor concentración en las hojas en época seca sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) con los tallos para la misma época de recolecta y con las hojas y las panículas en la época lluviosa, pero disminuyó significativamente en los tallos de la época lluviosa respecto a la época seca y aumentó en las panículas en proporción comparable a las hojas en la época seca (figura 1a).

El Na (figura 1b), se presentó en mayor cantidad en los tallos en la época lluviosa sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) al compararlo con las hojas en ambas épocas de recolecta. El contenido de Na en las panículas

aumentó significativamente de la época lluviosa a la seca y en los tallos disminuyó en una proporción similar (figura 1b).

El Na y el Mg son minerales altamente solubles, al igual que otros minerales se concentran principalmente en las hojas durante la fase de crecimiento, y generalmente su acumulación es independiente de la disponibilidad de agua (Nilsen y Orcutt, 1996). Las diferencias que se observaron en la concentración de Na y Mg entre tallos y panículas podrían explicarse por la redistribución de estos minerales en estos órganos debido a su alta movilidad, lo que favoreció a las panículas por ser un órgano en crecimiento y maduración (Guardiola y García, 1990).

El Fe se presentó en mayor concentración en las hojas en la época lluviosa, seguidas por las panículas y los tallos, mientras que en la época seca los mayores valores correspondieron a las panículas, seguidas por las hojas y los tallos. El contenido de Fe en las hojas disminuyó significativamente ($P < 0,05$) de la época lluviosa a la seca; mientras que los tallos y las panículas no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en ambas épocas de recolecta (figura 1c). El Fe es un mineral que se acumuló en las hojas durante la época de crecimiento y su concentración tendió a incrementar a mayor disponibilidad de humedad; por lo tanto, se encontró en mayor proporción durante la época lluviosa. Esto a su vez pudo verse potenciado por su poca movilidad hacia otros órganos de la planta (Guardiola y García, 1990; Salibury *et al.*, 1994).

El Zn se presentó en mayor concentración en las hojas en época lluviosa, y disminuyó significativamente en la época seca. Las panículas y los tallos tuvieron contenido similar de Zn ($P > 0,05$) en ambas épocas de

recolecta (figura 1d), lo cual estuvo determinado por su movilidad intermedia entre órganos de la planta (Salisbury *et al.*, 1994; Nilsen y Orcutt, 1996).

Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales

El análisis estadístico evidenció diferencias ($P < 0,0002$) por efecto de la época de recolecta en el contenido de Al (figura 2) y diferencias ($P < 0,0001$) por efecto del órgano de la planta sobre el contenido de Ca y K (figuras 3a y 3b). El resto de los metales analizados no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$).

El contenido de Al fue 1,30 veces mayor en la época lluviosa que en la seca, lo que implicó una disminución de 22,77% (figura 2). La disponibilidad de agua favoreció la absorción del mineral debido a que incrementó su solubilidad en el suelo (Filho *et al.*, 1992; Nilsen y Orcutt, 1996).

La concentración del Ca fue 1,98 y 2,39 veces mayor en las hojas con respecto a los panículas y a los tallos, respectivamente, en los que no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$; figura 3a). Esto podría deberse a que el Ca, por formar parte de la pared celular, presentó una translocación muy baja desde las hojas maduras hacia otros órganos de la planta; por tanto los frutos, hojas jóvenes o partes terminales de las plantas suelen ser bajos en Ca (Underwood y Suttle, 1999).

La concentración del K fue 1,44 y 1,52 veces mayor en los tallos con respecto a hojas y panículas, respectivamente, en las que no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$; figura 3b). Se ha reportado

que debido a su alta solubilidad el K se transfiere fácilmente hacia los distintos órganos de la planta después que se alcanza la madurez fisiológica, por lo cual no suele acumularse en las hojas (Guardiola y García, 1990).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos confirman que el *Amaranthus dubius* cultivado representa una fuente de macro y microminerales que pudieran ser aprovechados para la alimentación humana y animal; lo cual está potenciado por su ausencia o baja concentración de metales pesados.

Los metales se acumularon en distintas concentraciones en los diversos órganos de la planta estudiados en ambas épocas de recolecta. Esto podría deberse a la propia naturaleza del metal, los elementos minerales y su movilidad en el suelo, los mecanismos fisiológicos propios de la planta y las condiciones edafoclimáticas en las cuales se desarrollo el cultivo. La concentración de Ca y K fue afectado únicamente por el órgano de la planta estudiada (hojas, tallos y panículas); además, el contenido de Al fue influenciado por la época de recolecta.

El contenido de microminerales (Mg, Fe, Na y Zn) en *A. dubius* difirió según el órgano de la planta y la apoca de recolecta.

En general, las hojas y panículas recolectadas durante el periodo lluvioso presentaron los mayores contenidos, lo cual sugiere que estas partes de la planta constituyen una fuente importante de minerales y su consumo podría contribuir a prevenir y mejorar enfermedades como la osteoporosis, osteomalacia y anemias ferropénicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia, Venezuela (CONDES) por el financiamiento de este estudio (proyectos CC-0800-08 y CC-0800-10) y a la Fundación para el Desarrollo Endógeno de Caracas, Venezuela (FUNDECA) por permitir la toma de muestras.

REFERENCIAS

- Acevedo I., García O., Acevedo I., Perdomo C., 2007. Valor nutritivo de bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. Revista Agrrollanía 4, 77-93.
- Aletor O., Oshodi A.A., Ipinmoroti K., 2002. Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. Food Chemistry 78, 63-68.
- Alfaro M.A., Martínez A., Ramirez R., Bressani R., 1987. Yield and chemical composition of the vegetal parts of the amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) at different physiology stages. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 37, 108-121.
- Álvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E., 2010. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chemistry 119, 770-778.
- AOAC, Official Methods of Analysis. Methods 925.09, 923.03. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, 1995, VA, EE. UU.
- Arellano M., Albarracín G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Phyton 1, 193-197.
- Barba de la Rosa A., Fomsgaard I., Laursen B., Mortensen A., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera C., González-Castañeda J., De León-Rodríguez A., 2009. Amaranth as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. Journal Cereal Science 49, 117-121.
- Bothwell T.H., Baynes R.D., MacFarland B.J., Macphail A.P., 1989. Nutritional requirement and food iron adsorption. Journal of internal Medicine 226, 357-365.
- Carmona W., 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 24, 190-195.
- Chan A.S.M., Corke H., 2002. Characterization of starch in 10 genotypes of three *Amaranthus* species. En: 2002 Annual Meeting and Food Expos. Anaheim, CA, EE.UU.

- Chunilall V., Kindness A., Jonnala S.B., 2005. Heavy metal uptake by two edible *Amaranthus* herbs grown on soils contaminated with lead, mercury, cadmium, and nickel. *Journal of Environmental Science and Health* 40, 375-384.
- Del Río M., Fonta R., Almela C., Velez D., Montoro R., De Haro A., 2002. A heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar river area after the toxic spill of the Aznalcòllar mine. *Journal of Biotechnology* 98, 125-137.
- Fasuyi A.O., 2007. Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (*Telfairia occidentalis*, *Amaranthus cruentus* and *Talinum triangulare*) as sole dietary protein sources in rat assay. *Food Chemistry* 103, 757-765.
- Filho-Sousa A.P., Dutra S., Serrao E.A., 1992. Productividade estacional e composicao química de *Brachiaria humidicola* e pastagem nativa de Campo Cerrado do Estado do Amapá, Brasil. *Pasturas Tropicales* 14, 11-16.
- Gibson R.S., Ferguson E.L., 1998. Nutrition intervention strategies to combat zinc deficiency in developing countries. *Nutrition Research Reviews* 11, 115-131.
- Guardiola J.L., García A., 1990. Fisiología vegetal I: Nutrición y transporte. Síntesis. Madrid, España. 440 pp.
- Guil J.L., Giménez J.J., Torija M.E., 1998. Mineral nutrient composition of edible wild plants. *Journal of Food Composition and Analysis* 11, 322-328.
- Gupta S.H., Lakshmi A., Manjunathb M., Prakash J., 2005. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *Food Science and Technology* 38, 339-345.
- Hurrell R.F., 1997. Bioavailability of iron. *European Journal of Clinical Nutrition* 51, 4-8.
- Iskander D.R., Davis B.A. 1992. Mineral and trace element content in bread. *Food Chemical* 45, 269-277.
- Mahan L.K., Escott-Stump S., 2001. Nutrición y dietoterapia de Krauser. 10ª Edition. Interamericana McGraw-Hill. Madrid, España. 1274 pp.
- Marcone M.F., Jahaniaval F., Aliee H., Kakuda Y., 2003. Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chemical* 81, 7-12.
- Martin de Troiani R., Sánchez T., Anton de Ferramola L. 2005. Incidencia de la fertilización en amaranto zona semiárida pampeana (Argentina). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo* 37, 65-71.
- Masoni A., Ercali L., 1994. Influencia de la época de cosecha sobre el rendimiento de concentrado de proteína foliar de amaranto. *El amaranto y su potencial* 1, 17-23.
- Matteucci S.D., Pla L., Colma A., 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 16, 356-370.
- Nabulo G., Oryem-Origab H., Diamondc M., 2006. Assessment of lead, cadmium, and zinc contamination of roadside soils, surface films, and vegetables in Kampala City, Uganda. *Environmental Research* 10, 42-52.
- Nilsen T., Orcutt D.M., 1996. Physiology of plants under stress. Abiotic factors. Wiley. Nueva York, EEUU. 689 pp.
- Obiajunwa E.L., Adebajo A.C., Omobuwajo O.R., 2002. Essential and trace element contents of some Nigerian medicinal plants. *Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 252, 473-476.

- Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H., 2007. Preliminary assessment of nutritional value traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 430-435.
- Okamoto K., Fuwa K., 1984. Low contamination digestion bomb method using teflon double vessel for biological materials. *Analytical Chemistry* 56, 1750-1760.
- Olivares E., Peña E., 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24, 604-611.
- Olivares E., Peña E., Aguiar G., 2002. Nutrición mineral y estrés oxidativo por metales en espinaca y lechuga, en comparación con dos malezas asociadas, en cultivos semi-urbanos. *Interciencia* 27, 454-464.
- Omami E.N., Hammes P.S., Robbertse P.J. 2006. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34, 11-22.
- Ortega L., 1992. Usos y valor nutritivo de los cultivos andinos. Programa de investigación de cultivos andinos. Perú. pp. 250-265.
- Ozcan M.M., Akbulut M., 2007. Estimation of minerals, nitrate and nitrite contents of medicinal and aromatic plants used as spices, condiments and herbal tea. *Food Chemistry* 106, 852-858.
- Paśko P., Barton H., Folta M., Gwizdz J., 2007. Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by products (flour, popping, cereal). *Roczniki Państwowego Zakładu Higien* 58, 35-40.
- Pennigton J.A.T., Shoen S.A., 1995. Estimates of dietary exposure to aluminium in foodstuffs. *Food additives and contaminants* 12, 119-128.
- Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresday J.L., Gómez E., Tiemann K.J., Parsons J.G., Carrillo G., 2002. Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfagrowth and heavy metal uptake. *Environmental Pollution* 119, 291-301.
- Reeves R.A., Baker J.M., 2000. Metal accumulating plants. En: *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*. Raskin I., Ensley B.D. (Eds.). Wiley. Nueva York, EE.UU. pp. 193-229.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Peña J., Kallio H., Salminen S., 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extrude kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal Cereal Science* 49, 219-224.
- Rezaei J., Rouzbehan Y., Fazaeli H., 2009. Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses. *Animal Feed Science and Technology* 151, 153-160.
- Salisbury F.B., Ross C.W., 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericano. México, DF. pp. 759.
- Srikumar T.S., 1993. The mineral and trace element composition of vegetables, pulses and cereals of southern India. *Food Chemistry* 46, 163-167.
- SAS, 2002-2003. *Statistical Analysis System*. Version 9.1. Institute Inc, Carym NC, EE.UU.
- Tejada S.O., Escalante E.A., Soto G.M., Rodríguez H., Vibrans G.M, Ramírez H.M., 2004. Inhibidores de la germinación en el residuo seco de tallo de amaranto

(*Amaranthus hypochondriacus*). Revista de la Sociedad Química de México 48, 118-123.

Troiani R.M., Ferramola L., 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario 9, 103-112.

Underwood J., Suttle F., 1999. The detection and correction of mineral imbalances. The mineral nutrition of livestock. 3^ª Edition. CABI. Wallingford, RU. 600 pp.

Tabla 1. Contenido de metales ($\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de biomasa seca) en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* en Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela, recolectadas en época lluviosa y seca.

	HOJA		TALLO		PANÍCULA	
	LLUVIOSA	SECA	LLUVIOSA	SECA	LLUVIOSA	SECA
Ca	3014,6±1534,28	3161,7±880,12	1570,7±371,31	1018,3±234,95	1070,4±204,96	2048,6±1676,17
Mg	661,45 ±295,80	686,22±196,19	646,83±407,73	263,24±56,66	394,24±78,07	642,21±444,29
Na	72,77±15,80	71,41±20,67	74,00±12,30	34,84±13,48	22,57±14,83	54,60±22,22
K	3327,3±864,54	2468,9±565,70	4131,9±603,77	4237,1±727,48	2651,9±509,61	2836,8±657,78
Fe	96,15±26,89	50,02±26,55	41,36±14,16	42,13±16,54	59,87±20,92	64,05±21,76
Zn	21,37±14,37	6,47±1,48	4,47±1,23	4,22±1,97	6,49±0,86	4,65±0,81
Cu	2,15±0,82	1,64±0,54	1,50±0,24	1,31±0,18	1,67±0,73	1,63±0,75
Al	234,92±47,25	155,44±54,90	247,40±16,88	184,32±53,47	206,43±15,27	192,16±56,35
Hg	0,54±0,44	0,22±0,33	0,35±0,15	0,30±0,29	0,22±0,34	0,25±0,44
Cd	Nd	Nd	Nd	Nd	nd	Nd
Pb	Nd	Nd	Nd	Nd	nd	Nd

Valores promedios de cuatro repeticiones ± desviación estándar. Nd: no se detectó la presencia de Pb y Cd.

Tabla 2. Contenido de metales ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de biomasa seca) en hojas de diversas especies de amaranto.

Especies	Ca	Mg	Na	K	Fe	Zn	Cu
<i>Amaranthus sp.</i> (1)	50	17	5,70	190	2,1	0,075	nd
<i>A. viridis</i> (2)	150	32	56	670	5,40	1,20	0,22
<i>A. hybridus</i> (3)	69,9	69,40	84,8	68,9	24,50	25,1	nd
<i>A. tricolor</i> (4)	239	253	84	433	15,01	0,60	0,09
<i>A. cruentus</i> (5)	200	250	380	370	40	90	-
<i>A. dubius</i> (6)	1686	806	347	-	25	56	3
<i>A. spinosus</i> (7)	3931	1166	393	-	32	15	3
<i>A. hipocondriacus</i> (8)	1900	590	90	5690	-	-	-

(1) Srikumar (1993) ; (2) Guil *et al.* (1998) ; (3) Aletor *et al.* (2002); (4) Gupta *et al.* (2005); (5) Fasuyi (2007); (6) y (7) Odhav *et al.* (2007); (8) Rezaei *et al.* (2009).

Los datos originales en 1, 2, 3, 5 y 8 fueron transformados para expresarlos en $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de biomasa seca.

nd: no detectado.

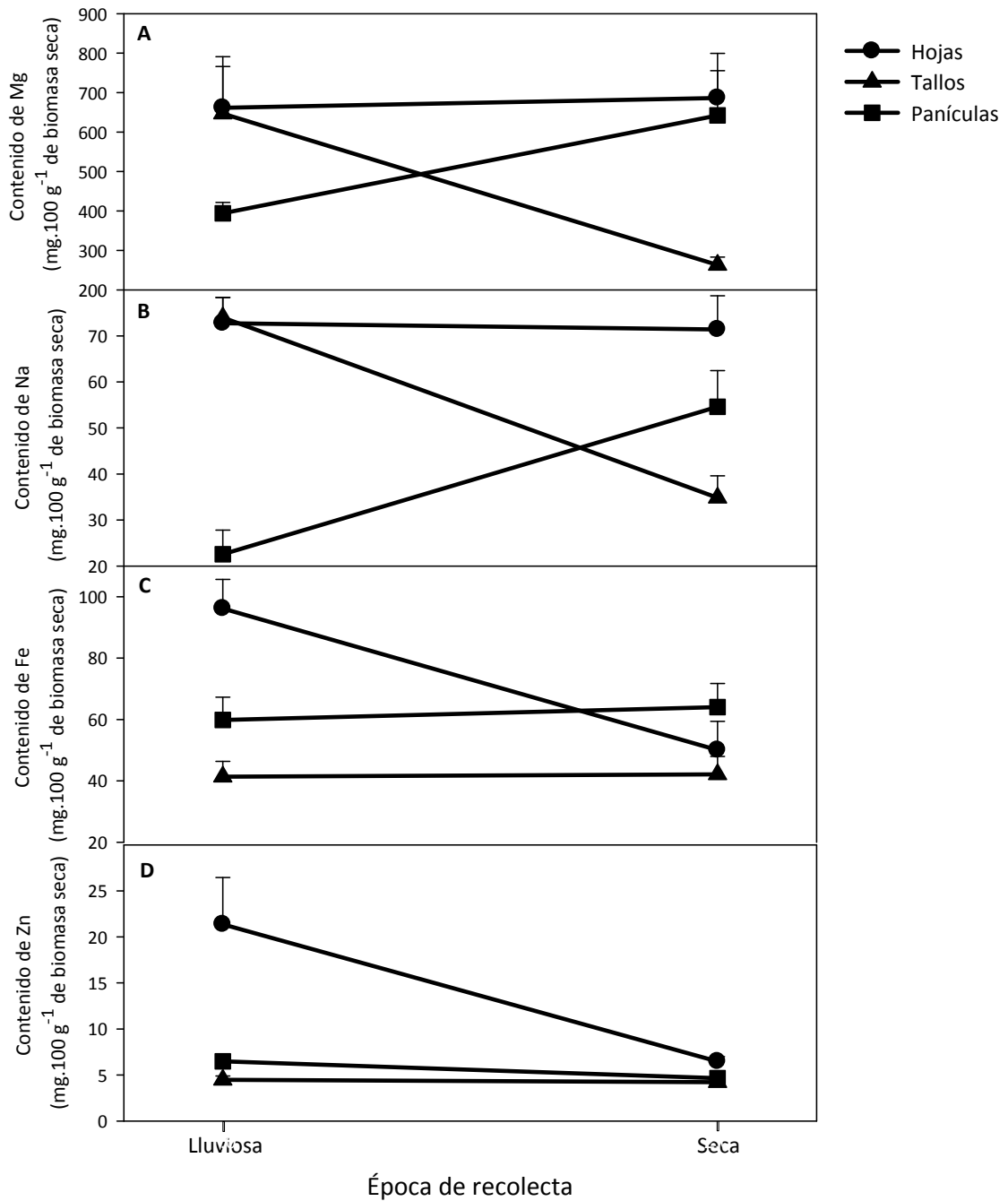
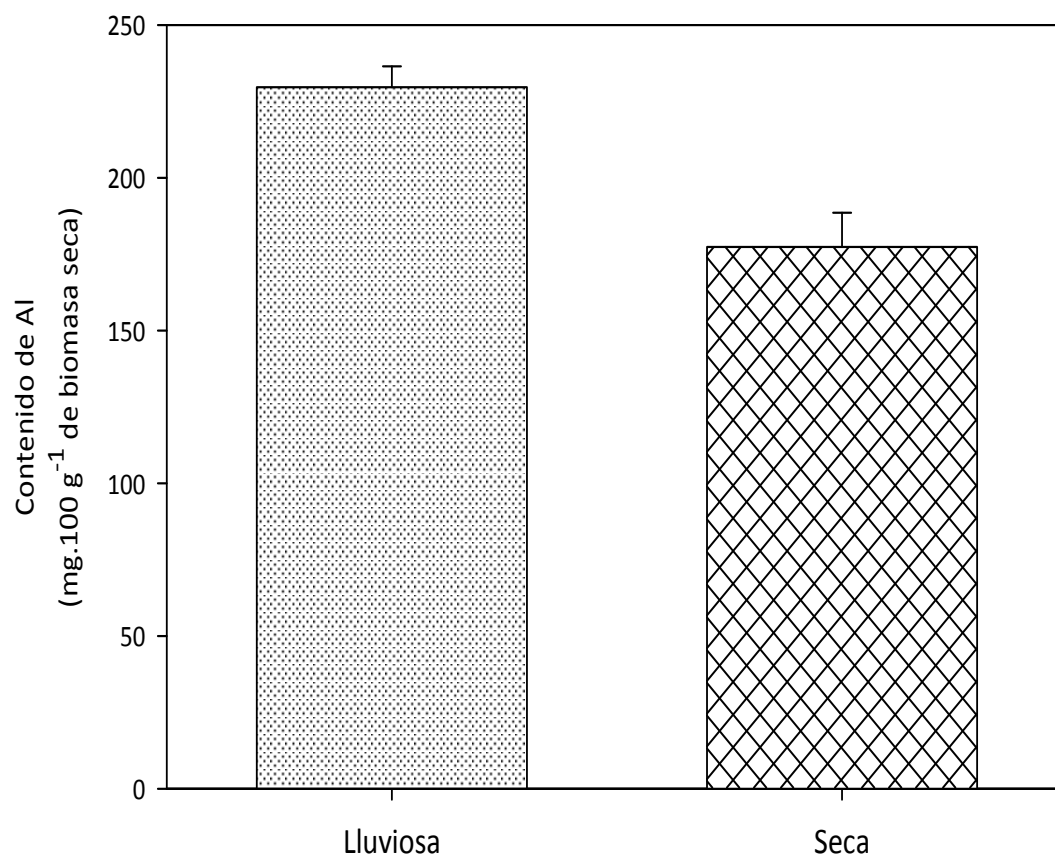


Figura 1. Contenidos de Mg(a), Na(b), Fe(c) y Zn(d) en $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de biomasa seca, en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius*.



Época de recolecta
Figura 2. Contenido de Al en mg·100 g⁻¹ de biomasa seca de *Amaranthus dubius* en época lluviosa y seca.

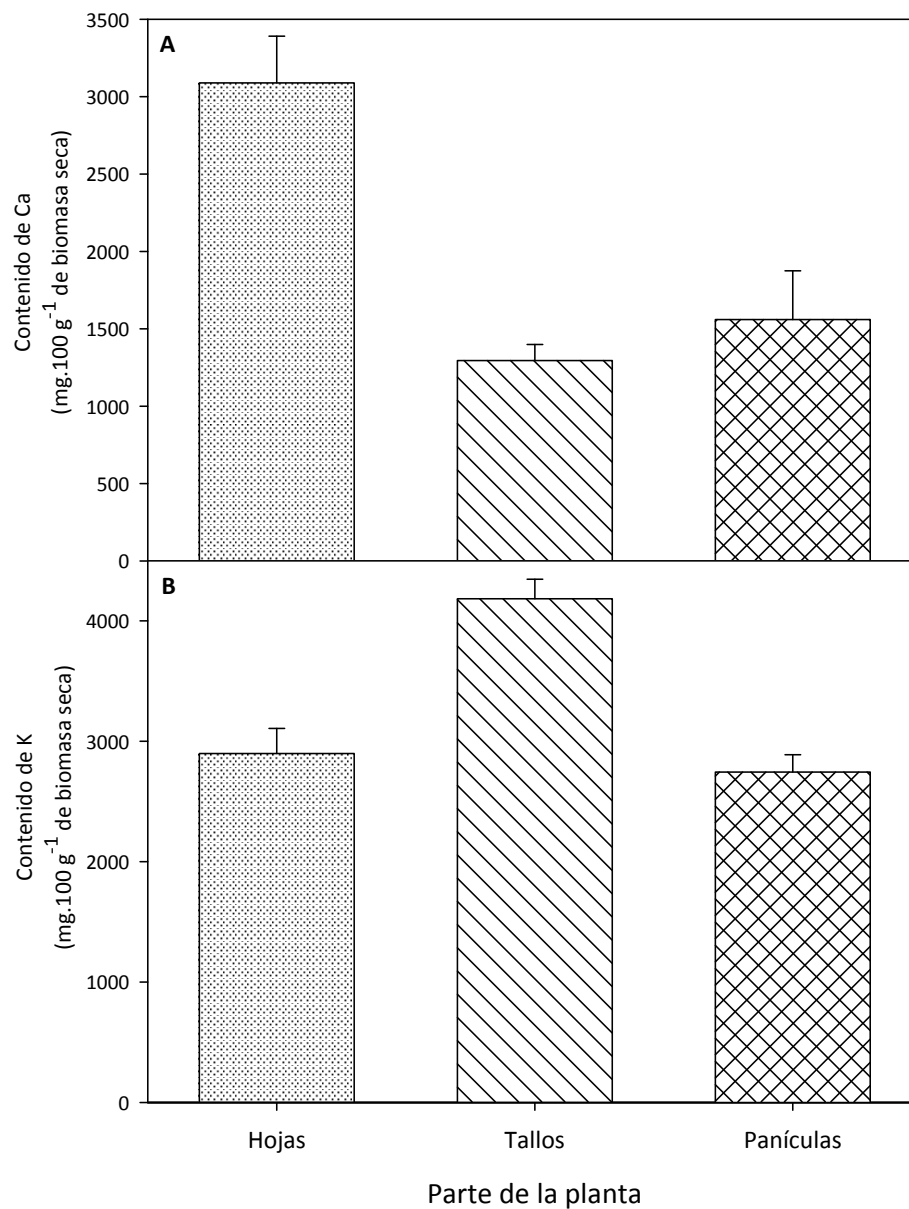


Figura 3. Contenidos de Ca (a) y K (b) en mg·100 g⁻¹ de biomasa seca, en hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius*.

Artículo II

**Toxic and antinutritional substances
content of *Amaranthus dubius*
Mart. ex Thell. Effect of plant part
and harvesting season**



ARTÍCULO II

Toxic and antinutritional substances content of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Effect of plant part and harvesting season

Enviado para arbitraje a la revista Chilean Journal of Agricultural Research.

Índice de Impacto de 0,553 y posición 33/57 (tercer cuartil y segundo tercil) de la categoría "Agriculture, Multidisciplinary" del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Edgar Molina, Pedro González-Redondo, Rafael Moreno-Rojas, Keyla Montero-Quintero, Rosa Ferrer, and Adriana Sánchez-Urdaneta

RESUMEN

Las especies de amaranto están ganando creciente interés para la nutrición humana y animal, aunque su uso es limitado debido a su contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales. El contenido de sustancias tóxicas y antinutrientes en las hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., no ha sido investigado, por ello se evaluaron en época lluviosa y seca. Las plantas fueron cultivadas en Merecure, Venezuela. La concentración de oxalatos, fitatos, fenoles totales, taninos condensados y taninos hidrolizables se determinaron mediante técnicas colorimétricas clásicas y el cianuro se determinó por valoración de nitrato de plata. El contenido de tóxicos y antinutrientes en *A. dubius* osciló entre 169,6-368,5 mg de oxalatos·kg⁻¹ muestra en base seca (MBS); 0,771-7,482 mg de fitatos·g⁻¹ MBS; 0,47-1,77 mg de fenoles totales·g⁻¹ MBS y 0,22-1,20 mg de taninos condensados·g⁻¹ MBS. No se detectó cianuro o taninos hidrolizables. Los valores de la mayoría de estas sustancias presentaron diferencias de acuerdo a la época de cosecha y partes de la

planta ($P < 0,001$), así como interacción entre ambos factores. El contenido de tóxicos y antinutrientes fue generalmente mayor en la época seca que en la época lluviosa para todas las partes de la planta. La época de cosecha y la parte de la planta afectaron el contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales de *A. dubius*; sin embargo, los valores estuvieron por debajo de los niveles máximos permitidos por los reguladores para el consumo humano. Por lo tanto, la materia prima no necesita ser procesada para garantizar su inocuidad.

PALABRAS CLAVE:

Amaranthus dubius, antinutrientes, época de cosecha, sustancias tóxicas.

SUMMARY

Amaranth species are gaining increasing interest for human and animal nutrition, although its use is limited due to their toxic and antinutrient substances contents. The contents of toxic and antinutrient substances in the leaves, stems, and panicles of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., not yet investigated, were evaluated in both rainy and dry seasons. The plants were cultivated in Merecure, Venezuela. The concentration of oxalates, phytates, total phenols, condensate and hydrolysable tannins were determined by classic colorimetric techniques, the cyanide being determined by silver nitrate titration. The content of toxic and antinutrients in *A. dubius* ranged from 169.6 to 368.5 mg of oxalates·kg⁻¹ dry matter (DM), 0.771 to 7.482 mg of phytates·g⁻¹ DM, 0.47 to 1.77 mg of total phenols·g⁻¹ DM, and 0.22 to 1.20 mg of condensate tannins·g⁻¹ DM. No cyanide or hydrolysable tannins were detected. The values of most of these substances presented differences according to harvesting seasons and plant part ($P < 0.001$), as well as an interaction between both factors. The content of toxic and antinutrients was generally higher in the dry than in

the rainy season for all parts of the plant. The harvesting season and the plant part affect the content of toxic and antinutritional substances in *A. dubius*, whose values were, however, below the maximum levels allowed by regulators for human consumption. Therefore, as raw materials do not need to be processed in order to guarantee its harmlessness.

KEY WORDS:

Amaranthus dubius, antinutrients, harvesting season, toxic substances.

INTRODUCTION

The amaranth is a plant belonging to the Amaranaceae family, genus *Amaranthus*, with more than 60 species distributed in tropical and subtropical regions. The most studied species are *A. cruentus*, *A. caudatus* and *A. hypochondriacus* (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009). This plant has a high genetic diversity, high productivity and adapts itself to different edaphoclimatic conditions, especially dry soils and high temperatures (Nama-Medoua and Oldewage-Theron, 2001).

Amaranth (*Amaranthus* spp.) is a plant that was used by pre-Spanish original populations of America. After the Spanish conquer, the consumption of this crop decreased (Paredes-Lopez, 1994). During the 1960s and 1970s, amaranth was considered as a food due to its high level of protein and its amino acid profile (Aguilar *et al.*, 2011).

Approximately 12 species are to be found in Venezuela, principally *A. dubius*, *A. spinosus* and *A. hybridus* (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007). These are plants that grow wild, commonly known as wild amaranth,

and are grown in fields sown with various subsistence crops, such as corn, sorghum, and several legumes.

The amaranth has been widely studied in recent years. One of the reasons for this renewed interest is its excellent nutrient profile, comparable to cereals. Recent investigations show that amaranth seeds have a high nutritional value, associated with the quantity and the quality of their proteins, fats, fibres, minerals, and vitamins (Capriles *et al.*, 2008; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Kaur *et al.*, 2010; Chlopicka *et al.*, 2012; Miranda *et al.*, 2012). In addition, they also contain bioactive compounds such as saponins, phytosterols, squalene, and polyphenols (Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Seed and sprouts consumption has become increasingly popular among people interested in improving and maintaining good health. Such sprouts and seeds are an excellent example of functional foods, since their components diminish the risk of contracting various diseases and provide beneficial effects upon health. However, the basic focus of the majority of recently-published research works is upon typical sprouts available on the market, such as alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), cabbage (*Brassica* spp.), soybean (*Glycine max* L.), beet (*Beta vulgaris* var. *vulgaris* L.), among others. Furthermore, in recent decades, not only there has been an increase in the use of *Amaranthus* seeds and sprouts as well as non-traditional vegetables, in the common diet, but they are also increasingly consumed by vegans, by vegetarians, by people who suffer from celiac disease and by those who are

allergic to certain commonly-consumed vegetables (Berti *et al.*, 2005; Paško *et al.*, 2009).

The use of amaranth in human and animal diets is limited due to its content of toxic and anti-nutrient substances which negatively interfere on the absorption of essential nutrients, such as minerals and amino acids. Furthermore, they may cause direct toxicity in sensitive people (Arellano *et al.*, 2004; Steffensen *et al.*, 2011). High oxalate and nitrate values have been reported in various species of amaranth, as well as a lesser proportion of saponins, phytic acid, lecithins, alkaloids, tannins, trypsin inhibiting enzymes and haemagglutinants, among others (Orech *et al.*, 2005; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010). These values varied according to the species, the plant's part, the crop's agroenvironmental conditions, and the impact of the different industrial or semi-industrial processing methods used (Cruz *et al.*, 2005).

The *A. dubius* is an underexploited species as a crop; however, collected in the wild is consumed as cereal seed and the leaves and stems as a vegetable (Matteucci *et al.*, 1999). There are several reports of its use as a forage plant for feeding pigs, sheep, goats, cattle, among others (Sleugh *et al.*, 2001; De Troiani and Ferramola, 2005; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). It is also used in their home regions as medicinal plant of interest (Matteucci *et al.*, 1999; Carmona, 2007).

Amaranthus dubius presents a high yield of green matter, as well as an excellent content of nutrients (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007). The agroclimatic conditions of Venezuela and other tropical and subtropical regions allow its development as a crop and, due to its nutritional and agronomic

characteristics; in 2005 it has been included in the ancestral foods rescue program and is regarded as a potentially cultivable crop species (Acevedo *et al.*, 2007).

The evaluation of the content of toxic and anti-nutrient substances present in leaves, stems and panicles of *A. dubius* in two harvesting season, will be useful to demonstrate the part of the plant with the greatest potential for use in human feeding or as a complementary fodder for animal, according to their composition, and will serve as an indicator to select the best season for sowing and harvesting of the species under study.

The objective of the present study was to evaluate the effect of the plant's part and harvesting season on the content of toxic and antinutrient substances in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. These results will be valuable in determining its potential use as a human and animal foodstuff and whether this raw material needs to be processed in order to guarantee its harmlessness.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

The samples were selected on an experimentally-sown field of *A. dubius*, located in El Néctar Hacienda, Merecure, in the borough of Acevedo, Miranda State, Venezuela (10°31'38" N, 66°33'16" W). Planting was done in the rainy season (September-December 2007 with 270.35 mm rainfall, 82.68% relative humidity and 27.08 °C temperature) and in the dry season (January-April 2008 with 69.73 mm precipitation, 82.35% relative humidity and temperature 26.08 °C temperature). In both cases, the soil was prepared with a harrow, fertilized and seeds were sown in furrows. It was subsequently irrigated until the stage

of plant emergence. Samples were recollected approximately 80 days after planting, and leaves were subsequently separated from stems and panicles. Each part of the plant was subjected to oven drying (between 50 and 60 °C, for 40 h), with constant rotation and aeration. The plant's parts were grounded and sifted at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1–27), placed in hermetically-closed plastic containers, covered with sackcloth, and stored in a cool environment until analysis.

Chemical reagents

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), trichloroacetic acid (TCA), ferric chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), phytic acid-dodecasodium salt, oxalate urinalysis diagnostic kit, methanol, oxalic acid dihydrate, Folin-Ciocalteu reagent, tannic acid monohydrate (1,3,6-Trigalloylglucose), vanillin (4-hydroxy-3 methoxybenzaldehyde), catechin, ferric chloride anhydrous (FeCl_3) and silver nitrate were obtained from SigmaTM Company, St Louis, MO, USA, and sulphuric acid (H_2SO_4), hydrochloric acid (HCl), ammonium molybdate, elemental mercury, diethyl ether, acetic acid, sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3), orthophosphoric acid, potassium iodide (KI), sodium hidroxide (NaOH) and acetone were purchased from MerckTM, Darmstadt, Germany. All reagents were of analytical grade.

Determination of moisture content

The moisture content of plant material was determined according to Association of Official Analytical Chemists method (AOAC, 1995). The grinded samples of plant material (1 g) were placed in porcelain crucibles and dried

before and after being dried in an oven ($105\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot 12\text{ h}^{-1}$). The moisture was determined by difference of biomass.

Determination of total oxalates

Total oxalates (OX) were determined by the enzymatic colorimetric method described by Ilarslan *et al.* (1997), using a test kit (Oxalate urinalysis diagnostic kit of Sigma: procedure No. 591).

A grinded sample of plant material (0.05 g) was stirred mechanically during 30 minutes with 5 mL of distilled water; then 5 mL of EDTA ($1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) were added and was subsequently filtered using Whatman No.1 filter paper. Filtering was placed into a sterile volumetric flask of 10 mL and was standardized to final volume with distilled water. Tubes were labelled for blank, control, standard, and sample. One mL of oxalate reagent A [DMAB (3-dimethylamino) benzoic acid 1 MBTH (3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone), pH 3.1] was added to each tube; 5 mL of sample were added to each sample tube; 5 mL deionized water were added to the blank and control tubes; 5 mL of oxalate standard were added to the standard tube; and 0.1 mL of oxalate reagent B (oxalate oxidase and peroxidase) was added to all tubes that were mixed by gentle inversion. All tubes were incubated ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 5 min), and then the absorbance was determined at 590 nm in a spectrophotometer (UNICO UV/VIS S1100TM, New Jersey, EUA). The corrected absorbances were determined by subtracting absorbance of the blank from absorbance readings of standard, control, and sample. Dihydrate oxalic acid was used as standard, according to a calibration curve (0.7-8.4 μg). The results were expressed as mg

of equivalent oxalic acid dihydrate (oxalates) per kilogram of plant material (mg oxalates·kg⁻¹ DM).

Determination of phytates

Phytates (PHY) were determined by the chromogenic solution modified method (Mohamed *et al.*, 1986). A grinded sample of plant material (0.5 g) was placed in a 125-mL Erlenmeyer flask and extracted with 25 mL of 3% TCA for 45 min in a shaker of moderate speed at room temperature. The slurry was centrifuged in fractions (3000 rpm for 15 min⁻¹). Three mL of 1% FeCl₃·6H₂O in HCl (1 mol·L⁻¹) were added to 10 mL of supernatant and heated in a boiling water bath for 45 min. It was cooled and centrifuged (3000 rpm for 10 min). The precipitated ferric phytate was suspended in 1 mL of HCl (0.5 mol·L⁻¹) and incubated at room temperature for 2 h. The precipitate was washed twice with HCl (0.5 mol·L⁻¹) allowing a 10 min incubation period between each washing. Three mL of NaOH (1.5 mol·L⁻¹) and 7 mL of distilled water were added to the precipitated ferric phytate and heated in a boiling water bath for 15 min. It was cooled and centrifuged (3000 rpm for 15 min). The supernatant was used for estimation of phytate.

For determination, the extracted phytate (0.5 mL) was mixed with 4 mL of distilled water and 0.5 mL of chromogenic solution and heated in a water bath (95 °C for 30 min). It was cooled, and then the absorbance was determined at 830 nm in a spectrophotometer (UNICO UV/VIS S1100TM, New Jersey, USA); a blank of 4.5 mL de distilled water + 0.5 mL of chromogenic solution was used. Phytic acid, dodecasodium salt was used as standard, according to a calibration curve (6.81-68.1 µg). The results were expressed as

mg of equivalent phytic acid, dodecasodium (phytate) per gram of plant material ($\text{mg phytate} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$).

The chromogenic solution was prepared as follows:

- Solution A: 16 g of ammonium molybdate + 120 mL of distilled water.
- Solution B: 80 mL of solution A + 40 mL of concentrated HCl + 10 mL of elemental mercury, shaken for 30 min and filtered using Whatman No. 1 filter paper.
- Solution C: The remainder of solution A + filtrate of solution B + 200 mL of concentrated H_2SO_4 .
- Chromogenic solution: 25 mL of methanol + 25 mL of solution C + 25 mL of distilled water.

Determination of total phenols

Total phenols (TPH) were determined colorimetrically using Folin-Ciocalteu reagent, as described by Velioglu *et al.* (1998).

The extraction was performed by combining the techniques proposed by Makkar *et al.* (1993) and Waterman and Mole (1994). A grinded sample of plant material (0.7 g) was macerated for 4 h in 70 mL a mixture acetone:water 70:30, at room temperature and mechanical agitation in darkness. The slurry was centrifuged in fractions ($3000 \text{ rpm} \cdot 30 \text{ min}^{-1}$), and the residue was subjected to a second extraction with 20 mL mixture acetone:water. The extracts were then blended, filtered, and the remaining pigments and fat with 20 mL of diethyl ether containing 1% (v/v) acetic acid were removed. The extract was placed in a 100 mL volumetric flask and was standardized to final volume with extractor mixture, was kept in cooling and covered in aluminium foil up to a maximum of 4 h.

The assay of TPH was conducted by mixing 5 mL of extract (acidified with acetic acid at pH 3.5-4.0), 5 mL the Folin-Ciocalteu reagent (diluted 1:10 with distilled water) and 4 mL of aqueous solution of Na_2CO_3 ($1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). The solutions were heated in a water bath ($45 \text{ }^\circ\text{C}$ for 15 min). The absorbance was determined at 725 nm in a spectrophotometer (UNICO UV/VIS S1100TM, New Jersey, USA), a blank Folin-Ciocalteu reagent diluted was used. Tannic acid monohydrate was used as standard, according to a calibration curve (0.005-1.005 μg). The results were expressed as mg of equivalent tannic acid per gram of plant material ($\text{mg tannic acid}\cdot\text{g}^{-1} \text{ DM}$).

Condensate tannins

The condensate tannins (CT) were determined by the modified vanillin method (Butler *et al.*, 1982), from the extract obtained in TPH.

The extract (1 mL) was mixed with 5 mL of vanillin reagent (4% v/v vanillin in methanol at 8% v/v in concentrated hydrochloric acid, 1:1). The samples were covered and stored in the dark for 20 min. The absorbance was determined at 500 nm in a spectrophotometer (UNICO UV/VIS S1100TM, New Jersey, USA), a blank of mixture acetone:water 70:30 (extractant) in 5 mL of vanillin reagent hydrochloric acid was used. Catechin was used as standard, according to a calibration curve (0.025 to 0.042 mg). The results were expressed as mg of equivalent catechin per gram of plant material ($\text{mg tannic acid}\cdot\text{g}^{-1} \text{ DM}$).

Determination of hydrolysable tannins

The hydrolysable tannins (HT) were determined by the ferric chloride method (Mhinzi and Mrosso, 1995), from the extract obtained in TPH.

The extract (5 mL) was mixed with 5 mL of distilled water, and then one drop of 10% ferric chloride was added. The absorbance was determined at 430 nm in a spectrophotometer (UNICO UV/VIS S1100TM, New Jersey, USA); a blank of mixture acetone:water 70:30 (extractant) with one drop of 10% ferric chloride was used. Tannic acid monohydrate was used as standard, according to a calibration curve (0.01-0.44 mg).

Determination of cyanide

The cyanide (CN) was determined by the silver nitrate titration method (Oboh *et al.*, 2005).

A grinded sample of plant material (4 g) was mixed with 40 mL of orthophosphoric acid (5 mol·L⁻¹) and allowed to stand for 24 h; then was filtered using Whatman No.1 filter paper and distilled in a fume exhaust hood. The distillate was recollected on 40 mL of 0.25% NaOH and placed in a 50 mL volumetric flask, and was standardized to final volume with distilled water. Finally, 20 mL of the distillate was titrated with silver nitrate (0.01 mol·L⁻¹); 0.4 mL of the solution of 5% KI was used as indicator.

Statistical analysis

A totally randomized block design of 3×2 treatments was applied in an experimental design with four replications and three subsamplings. The factors were the plant's parts at three levels (leaves, stems, and panicles), and the harvesting season at two levels (rainy and dry). The data was subjected to a variance analysis and LSMEANS was used for the interactions, using the SAS[®] statistical program (SAS, 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

Total oxalates

The OX content presented values ranging from 169.60 to 368.46 mg·kg⁻¹ DM (table 1). The leaves and the stems registered a greater OX content during the dry season when compared to the rainy season ($P < 0.0001$). However, no seasonal (dry/rainy) difference was observed in the panicles ($P > 0.2779$). The lowest OX content corresponded to the panicles, followed by the stems and the leaves. An interaction between plant's parts and harvesting season with regard to OX content was observed (figure 1A).

The values found were higher than those reported in vegetative material of the same species harvested in Argentina (Arellano *et al.*, 2004). Nevertheless, these values were lower than those observed in the seeds of *A. cruentus* and *A. hybridus* and in the vegetative material of *A. gangeticus* (Aletor and Adeogun, 1995; Gupta *et al.*, 2005).

Oxalate is a synthesized anti-nutrient as part of the normal metabolism of vegetables and is therefore to be found widely distributed in both plants and foods. It has been reported that it interferes with the absorption of divalent metals such as calcium, magnesium, and iron (Reddy *et al.*, 1982). In this research the levels found are regarded as harmless to human health (Naudé and Naidoo, 2007).

Phytates

The PHY content ranged between 0.77 and 7.48 mg·g⁻¹ DM (table 1). The lowest value corresponded to the stems in the rainy season and the highest to the panicles in the dry season. The plant's parts presented a higher PHY value

in the dry season than in the rainy season ($P < 0.0005$). It has been reported that these substances are synthesized in the plant as phosphorus deposits, cation sources, latency starters, or energy deposits. Environmental conditions which cause stress in the plant accelerate this process (Bohnert *et al.*, 1995).

In both harvesting seasons, the highest PHY values corresponded to the panicles, followed by the leaves, and then by the stems. While values in the last two were comparable, those of the panicle were very high ($P < 0.0001$). Interaction was observed in the PHY content between the plant's parts and the harvesting seasons (figure 1B). The values obtained in the leaves and stems were comparable to those reported in *A. cruentus* and *A. hybridus* (Aletor and Adeogun, 1995; Fasuyi, 2006). Nevertheless, all of the samples presented values higher than those reported for seeds of *A. cruentus*, *A. edulis*, *A. hypochondriacus* and *A. hybridus* (Sánchez-Marroquín, 1980; Afolabi *et al.*, 1981; Uzo and Okorie, 1983; Lorenz and Wright, 1984), and for the leaf of *A. tricolor* Willd (Gupta *et al.*, 2005).

Phytates are found widely distributed in vegetables and are regarded as anti-nutrient factors since they interfere in the absorption of essential minerals, proteins, and starch (Phillippy, 2003; Onyango *et al.*, 2005). They also inhibit proteolytic and amilolytic enzymes (Pizzani *et al.*, 2008). Nevertheless, low PHY concentrations have been related to positive effects, such as the delay in the starch digestibility, a decrease in the glucose response, hypocholesterolemia, and prevention of kidney stone formation and cancer prevention, among others (Kumar *et al.*, 2010). The PHY levels found were not

regarded as harmful to the absorption of essential minerals such as iron, zinc, and calcium (Nolan *et al.*, 1987).

Total phenols

The TPH ranged from 0.47 to 1.77 mg tannic acid·g⁻¹ DM, corresponding to the stems in the rainy season and to the leaves in the dry season, respectively. The plant's parts presented a higher value in the dry season than in the rainy season (table 1). In the case of the stems, the values were comparable in both harvesting seasons; whereas in the leaves and the panicles, the contents were very different ($P < 0.0001$). It would appear that the dry conditions generated some kind of stress in leaves and panicles, plant's parts where water accumulation might have been lower, and evidently a larger content of TPH was produced if compared to that of the rainy season, when accumulation in leaves and stems was similar. There was no interaction in the TPH content of the plant parts with respect to the harvesting seasons (figure 1C).

The TPH values were comparable to those reported in some organs of *A. cruentus* and *A. hybridus* (Fasuyi, 2006). Nevertheless, they were lower than those reported in the vegetable material of the same species cultivated in Argentina (Arellano *et al.*, 2004), as well as in *A. gangeticus*, *A. paniculatus*, *A. veridis* and *A. blitum*, all originating in Malaysia (Amin *et al.*, 2006), and in *A. hypochondriacus* K-343, *A. cruentus* R-104 and *A. cruentus* M-7, proceeding from Japan (Yawadio-Nsimba *et al.*, 2008).

Total phenols values include tannins, both condensate and hydrolysable, and other non-tannin phenols. These are secondary metabolites that are

synthesized during the normal development of the plant as a response to stressful conditions such as disease, insect attack and radiation, among other (Naczka and Shahidi, 2004; Isaza, 2007). These compounds are regarded as anti-nutrient factors due to the astringency they provide to foods; they can also precipitate proteins and affect the absorption of biomolecules of nutritional interest as they deactivate the digestive enzymes. This is especially true for the CT that affect digestibility (Liener, 1990; Silanikove *et al.*, 1994). On the other hand, in certain concentrations, they are attributed with beneficial functions in the organism, fundamentally due to their antioxidant capacity (Yawadio-Nsimba *et al.*, 2008; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). The TPH content in the samples analysed were all lower than 10% and therefore are not regarded as harmful to human nutrition or to ruminants under supplementation conditions (Makkar, 2003).

Condensate tannins

The CT content values ranged from 0.22 to 1.20 mg·g⁻¹ DM, the lowest value corresponding to the stem in the rainy season and the highest to the panicle in the dry season. The plant's parts presented a higher CT value in the dry season than in the rainy season ($P < 0.0001$), with the exception of the leaves and the panicles in the dry season ($P > 0.1026$).

The content was lower in the stems, followed by the leaves and the panicles. None of the values was comparable in terms of the plant's part or of the season under study. Nevertheless, the tendency was similar in both harvesting seasons with the values being higher in the leaves and the panicles.

No interaction was observed in the CT content of the plant's parts with respect to the harvesting seasons (figure 1D).

The CT values were comparable to those reported in *A. tricolor* and lower than those reported in the seeds of *A. edulis*, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus* and *A. hybridus* (Afolabi *et al.*, 1981; Lorenz and Wright, 1984). Found values are much lower than those regarded as harmful for human consumption (Aletor, 1993).

The low content of toxic and anti-nutrient substances in samples from *A. dubius* analysed and excellent nutritional composition previously reported (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 2011), open the prospects for the exploitation of this plant as a crop, and promotion of large-scale consumption, fresh or as processed products. Furthermore, in tropical and subtropical countries this plant could be used as raw material in the production of animal feeds, to replace dehydrated alfalfa (*Medicago sativa*), soy (*Glycine max*), or cereals, whose price is very high in the market.

Further research on *A. dubius* should be aimed at the standardization of cultivation, food design in replacing traditional ingredients and biological testing to demonstrate its effects in animals and humans.

Hydrolysable tannins

The HT was not detected in samples under the conditions of analysis. The absence of HT is interesting, because it indicates that the difference between TPH and CT was represented by phenolic substances different to tannins, which should be investigated.

There are not previous reports on the presence of HT in amaranth, although these have been reported in tropical forage plants (García and Medina, 2006).

Cyanide

The CN was not detected in samples under the conditions of analysis. This was consistent with that reported by Abreu *et al.* (1995) in *A. uranguesis* and *A. maurensis*. On the contrary, Fasuyi (2006) reported 420 mg·kg⁻¹ and 473 mg·kg⁻¹ of CN in seeds of *A. cruentus* and *A. hybridus*, respectively.

CONCLUSIONS

The content of PHY, OX, TPH and CT in the plant's parts of *A. dubius* varied as a function of the harvesting seasons, being higher in the dry season than in the rainy season. Moreover, these values were below the maximum levels allowed by regulators for human consumption. For this reason, leaves, stems and panicles of *A. dubius* as raw materials do not need to be processed in order to guarantee its harmlessness and such contents confer interesting properties for using it in the food industry. With regard to plant parts, the contents of PHY, TPH and CT were higher in the panicles, followed by the leaves and stems. OX content was higher in the leaves, stems, and panicles.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) by the economic support for this Project (Number CC-0800-08).

REFERENCES

- Abreu M., Hernández M., Castillo A., Sampere E., Guerra M., 1995. Evaluación nutricional y toxicológica de dos variedades de amaranto de semillas de color negro (*Amaranthus uranguesis* y *A. maurensis*). Revista Cubana de Alimentación y Nutrición 9, 94-99.
- Acevedo I., García O., Acevedo I., Perdomo C., 2007. Valor nutritivo del bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. Revista Agrollanía 4, 77-93.
- Afolabi A.O., Oke O.L., Umoh I.B., 1981. Preliminary studies on the nutritive value of some cereal-like grains. Nutrition Reports International 24, 389-394.
- Aguilar E.G., Cantarelli M.A., Marchevsky E.J., Escudero N.L., Camiña J.M., 2011. Multielemental analysis and classification of amaranth seeds according to their botanical origin. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59, 9059-9064.
- Aletor V.A., 1993. Allelochemicals in plant foods and feedingstuffs: 1. Nutritional, biochemical and physiopathological aspects in animal production. Veterinary and Human Toxicology 35, 57-67.
- Aletor V.A., Adeogun O.A., 1995. Nutrient and anti-nutrient components of some tropical leafy vegetables. Food Chemistry 53, 375-379.
- Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E., 2010. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chemistry 119, 770-778.
- Amin I., Norazaidah Y., Hainida K.I.E., 2006. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species. Food Chemistry 94, 47-52.
- AOAC, Official method of analysis. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington DC, 1995.USA.
- Arellano M.A.L., Albarraçín G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Phyton 73, 193-197.
- Barba de la Rosa, A.P., Fomsgaard I.S., Laursen B., Mortensen A.G., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera A., González-Castañeda J., De León-Rodríguez A., 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. Journal of Cereal Science 49, 117-121.
- Berti C., Riso P., Brusamolino A., Porrini M., 2005. Effect on appetite control of minor cereal and pseudocereal products. British Journal of Nutrition 94, 850-858.
- Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G., 1995. Adaptations to environmental stresses. The Plant Cell 7, 1099-1111.
- Butler L.G., Price M.L., Brotherton J.E., 1982. Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. Journal of Agricultural and Food Chemistry 30, 1087-1089.
- Capriles V.D., Coelho K.D., Guerra-Matías A.C., Arêas J.A.G., 2008. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic Index. Journal of Food Science 73, 160-164.
- Carmona W., 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 24, 190-195.

- Chlopicka J., Pasko P., Gorinstein S., Jedryas A., Zagrodzki P., 2012. Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 46, 548-555.
- Cruz M., Valadez M.C., Cuellar M., 2005. Identificación de compuestos antinutricionales en amaranto (íntegro y reventado) cultivado en algunas regiones del centro del país. *Revista Salud Pública y Nutrición* 13, 306-311.
- De Troiani R.M., Ferramola L., 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario* 9, 103-112.
- Fasuyi A.O., 2006. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: chemical characterization and functional properties. *African Journal of Biotechnology* 5, 49-53.
- García D.E., Medina M.G., 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical* 24, 233-250.
- Gupta S., Lakshmi A.J., Manjunath M.N., Prakash J., 2005. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* 38, 339-345.
- Ilarslan H., Palmer R.G., Imsande J., Horner H.T., 1997. Quantitative determination of calcium oxalate and oxalate in developing seeds of soybean (Leguminosae). *American Journal of Botany* 84, 1042-1046.
- Isaza J.H., 2007. Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica* 13, 13-18.
- Kaur S., Singh N., Rana J.C., 2010. *Amaranthus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus* germplasm: Characteristics of plants, grain and flours. *Food Chemistry* 123, 1227-1234.
- Kumar V., Sinha A.K., Makkar H.P.S., Becker K., 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry* 120, 945-959.
- Liener I.E., 1990. Naturally occurring toxic factors in animal feedstuffs. In: *Feedstuff evaluation*. Wiseman J., Cole D.J.A (Eds.). Butterworths-Heinemann, London, England. pp. 377-394.
- Lorenz K., Wright B., 1984. Phytate and tannin content of amaranth. *Food Chemistry* 14, 27-34.
- Makkar H.P.S., Blümmel M., Borowy N., Becker K., 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61, 161-165.
- Makkar H.P.S., 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49, 241-256.
- Matteucci S.D., Pla L., Colma A., 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16, 356-370.

- Mhinzi G.S., Mrosso H.D.J., 1995. Studies on Tanzanian *Acacia* gums. Part. 3. Some properties of gum exudates from the series *Vulgares* and *Gummiferae*. *Food Chemistry* 54, 261-264.
- Miranda M., Vega-Gálvez A., Quispe-Fuentes I., Rodríguez M.J., Maureira H., Martínez E.A., 2012. Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research* 72, 175-181.
- Mohamed A.I., Perera P.A.J., Hafez Y.S., 1986. New chromophore for phytic acid determination. *Cereal Chemistry* 63, 475-478.
- Molina E., González-Redondo P., Montero K., Ferrer R., Moreno-Rojas R., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36, 386-391.
- Naczek M., Shahidi F., 2004. Review: Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054, 95-111.
- Nama-Medoua G., Oldewage-Theron W.H., 2011. Effect of drying and cooking on nutritional value and antioxidant capacity of morogo (*Amaranthus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. *Journal of Food Science and Technology* 1, 1-7.
- Naudé T.W., Naidoo V., 2007. Oxalate containing plants. In: *Veterinary toxicology. Basic and clinical principles*. Gupta R.C. (Ed.). Academic Press, New York, USA. pp. 880-891.
- Nolan K.B., Duffin P.A., McWeeny D.J., 1987. Effects of phytate on mineral bioavailability. *In vitro* studies on Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} (also Cd^{2+}) solubilities in the presence of phytate. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40, 79-85.
- Oboh G., Ekperigin M.M., Kazeem M.I., 2005. Nutritional and haemolytic properties of eggplants (*Solanum macrocarpon*) leaves. *Journal of Food Composition and Analysis* 18, 153-160.
- Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H., 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 430-435.
- Onyango C., Noetzold H., Ziemas A., Hofmann T., Bley T., Henle T., 2005. Digestibility and antinutrient properties of acidified and extruded maize-finger millet blend in the production of uji. *Food Science and Technology* 38, 697-707.
- Orech F.O., Akenga T., Ochora J., Friis H., Aagaard-Hansen J., 2005. Potential toxicity of some traditional leafy vegetables consumed in Nyang'oma division, western Kenya. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 5, 1-13.
- Paredes-Lopez O., 1994. *Amaranth, biology, chemistry and technology*. CRC-Press, Florida, USA. pp. 234.
- Paśko P., Bartoń H., Zagrodzki P., Gorinstein S., Fołta M., Zachwieja Z., 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry* 115, 994-998.
- Phillippy B.Q., 2003. Inositol phosphates in foods. *Advances in Food and Nutrition Research* 4, 51-60.
- Pizzani P., Godoy S., León M., Rueda E., Castañeda M.V., Arias A., 2008. Efecto de concentraciones crecientes de fósforo fítico sobre la actividad de las enzimas fitasa y

- fosfatasa alcalina en el epitelio intestinal de ovinos jóvenes. Revista Científica, FCV-LUZ 18, 59-64.
- Reddy N.R., Sathe S.K., Salunkhe D.K., 1982. Phytates in legumes and cereals. Advances in Food Research 28, 1-92.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Peña J., Kallio H., Salminen S., 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Journal Cereal Science 49, 219-224.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Hellström J.K., Pihlava J.M., Mattila P.H., 2010. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chemistry 120, 128-133.
- Sánchez-Marroquín A., 1980. Potencialidad agroindustrial del amaranto, Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, Distrito Federal, Ciudad de México, Distrito Federal, México. pp. 238.
- SAS, 2013. SAS/STAT® User's guide, Version 9.1.3. 4th edition. Vol. 1. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Silanikove N., Nitsan Z., Perevolotsky A., 1994. Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42, 2844-2847.
- Sleugh B.B., Moore K.J., Brummer E.C., Knapp A.D., Russell J., Gibson L., 2001. Forage nutritive value of various amaranth species at different harvest dates. Crop Science 41, 466-472.
- Steffensen S.K., Rinnan A., Mortensen A.G., Laursen B., De Troiani R.M., Noellemeyer E.J., Janovska D., Dusek K., Délano-Frier J., Taberner A., Christophersen C., Fomsgaard I.S., 2011. Variations in the polyphenol content of seeds of field grown *Amaranthus* genotypes. Food Chemistry 129, 131-138.
- Uzo J.O., Okorie A.U., 1983. *Amaranthus hybridus*: A potential grain crop for West Africa. Nutrition Reports International 27, 519-524.
- Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D., 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 4113-4117.
- Waterman P.G., Mole S., 1994. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scientific Publication, Oxford, UK. pp. 238.
- Yawadio-Nsimba R., Kikuzaki H., Konishi Y., 2008. Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. Food Chemistry 106, 760-766.

Table 1. Contents of oxalate, nitrate, phytate, total phenols, and condensate tannins (mean±SD) in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. plant parts, harvested in the rainy and the dry seasons, in the State of Miranda, Venezuela.

Parts of the plant	Leaf		Stem		Panicle		Significance		
Season	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Rainy	Dry	Part	Season	Part × Season
Total oxalates (mg oxalates·kg ⁻¹ DM)	216.27±42.4 ^c	368.46±45.6 ^a	176.87±10.1 ^d	242.71±32.7 ^b	182.88±7.9 ^d	169.60±14.0 ^d	0.0001	0.0001	0.0001
Phytates (mg phytate·g ⁻¹ DM)	2.09±0.34 ^c	2.50±0.21 ^d	0.77±0.22 ^a	1.50±0.18 ^b	6.50±0.40 ^e	7.48±0.21 ^f	0.0001	0.0001	0.0023
Total phenols (mg tannic acid·g ⁻¹ DM)	0.53±0.10 ^d	1.77±0.29 ^a	0.47±0.04 ^d	0.62±0.06 ^d	0.88±0.07 ^b	1.59±0.09 ^b	0.0001	0.0001	0.0001
Condensate tannins (mg catechin·g ⁻¹ DM)	0.41±0.74 ^d	1.09±0.08 ^a	0.22±0.14 ^e	0.55±0.36 ^c	0.74±0.07 ^b	1.20±0.05 ^a	0.0001	0.0001	0.0023

The values in the same row with different letters show significant differences (P<0.01). The presence of hydrolysable tannins and cyanide was not detected during analysis.

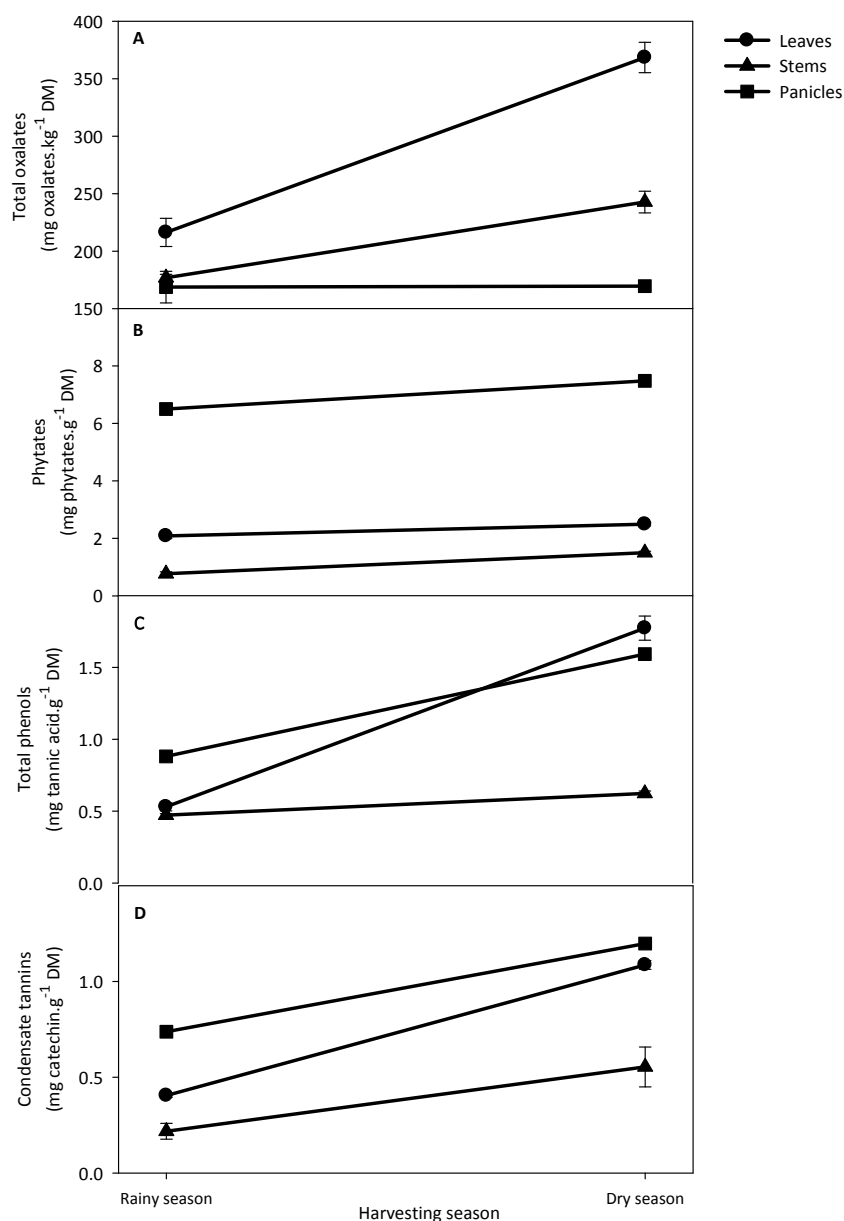


Figure 1. Interaction effect between the parts of the plant and the harvesting season on the content of total oxalates (A), phytates (B), total phenols (C) and condensate tannins (D) in *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. harvested in the State of Miranda, Venezuela.

Artículo III

**Effects of diets with *Amaranthus dubius*
Mart. ex Thell. on performance and
digestibility of growing rabbits**



ARTÍCULO III

Effects of diets with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. on performance and digestibility of growing rabbits

Enviado para arbitraje a la revista World Rabbit Science.

Índice de Impacto de 0,620 y posición 34/54 (tercer cuartil y segundo tercil) en la categoría “Agriculture, Dairy and Animal Science” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012).

Molina E., González-Redondo P., Moreno-Rojas R., Montero K., Bracho B.,
Sánchez- Urdaneta A.B.

RESUMEN

Se estudiaron los efectos sobre el rendimiento y la digestibilidad en conejos en crecimiento mediante la comparación de tres dietas que contenían niveles crecientes de amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.): 0% (A0), 16% (A16) y 32% (A32). Las dietas fueron formuladas isoproteicas e isocalóricas para satisfacer los requerimientos nutricionales de los conejos en crecimiento. Ciento trece conejos Nueva Zelanda Blancos, en jaulas individuales, se dividieron en tres grupos y fueron asignados aleatoriamente a una de las tres dietas experimentales. Los conejos fueron alimentados *ad libitum* desde 35 a 87 días de edad, y se monitoreó el estado de salud y los índices de rendimiento. Los coeficientes digestibilidad total aparente del tracto (CDTAT) de las dietas se midieron entre 42 y 46 días de edad en 12 conejos por tratamiento. *Amaranthus dubius* mostró excelentes contenidos de proteínas, cenizas y fibras, y baja energía digestible (ED). Los conejos mostraron un

rendimiento normal de acuerdo con las condiciones experimentales; no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en la ganancia de peso (promedio de 21,61 g·d⁻¹) y el peso vivo al final del ensayo (promedio de 1.883,24 g). El consumo de alimento fue mayor (P<0,05) en A0 (promedio de 85,37 g·d⁻¹) que en las dietas A16 y A32 (promedio de 71,78 g·d⁻¹) y la tasa de conversión alimenticia mejoró con el aumento de la inclusión de *A. dubius* en las dietas (desde 3,84 a 3,28 para las dietas A30 y A32, respectivamente). El estado de salud no se vió afectado por la tasa de inclusión de amaranto. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el CDTAT de la materia seca (promedio de 65,38%), materia orgánica (promedio de 67,24%), proteína cruda (promedio de 80,18%), fibra cruda (promedio de 31,95%), fibra neutro detergente (promedio de 29,32%) y fibra ácido detergente (promedio de 22,85%). La proteína digestible estimada para *A. dubius* fue de 100 g·kg⁻¹ muestra en base seca (MBS) Por lo tanto, *A. dubius* podría ser considerado como una fuente alternativa de proteína y fibra para la alimentación de conejos en las regiones tropicales y subtropicales.

PALABRAS CLAVE:

Amaranthus dubius, conejo, dieta, digestibilidad, rendimiento en crecimiento.

SUMMARY

The effects on performance and digestibility in growing rabbits were studied by comparing three diets containing increasing inclusion rates of amaranth (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.): 0% (A0), 16% (A16) and 32% (A32). Diets were formulated isoproteic and isocaloric to meet the

nutrient requirements of growing rabbits. One hundred and thirteen New Zealand White rabbits, individually caged, were divided in three groups and randomly assigned to one of the three experimental diets. Rabbits were fed *ad libitum* from 35 to 87 d of age, and health status and performance traits were monitored. The coefficients of total tract apparent digestibility (CTTAD) of the diets were measured between 42 and 46 d of age on 12 rabbits per treatment. *Amaranthus dubius* had excellent contents of protein, ash and fibre, and low digestible energy (DE). Rabbits showed normal performance according to the experimental conditions; there were no significant differences between treatments in weight gain (mean 21.61 g·d⁻¹) and live weight at the end of the trial (mean 1,883.24 g). Daily feed intake was higher (P<0.05) in A0 (mean 85.37 g·d⁻¹) than in A16 and A32 diets (mean 71.78 g·d⁻¹), and feed conversion rate improved with increased inclusion of *A. dubius* in diets (from 3.84 to 3.28, for A30 and A32 diets, respectively). Health status was not affected by the amaranth inclusion rate. There were no significant differences between treatments in the CTTAD of dry matter (mean 65.38%), organic matter (mean 67.24%), crude protein (mean 80.18%), crude fibre (mean 31.95%), neutral detergent fibre (mean 29.32%) and acid detergent fibre (mean 22.85%). The digestible protein estimated for *A. dubius* was 100 g·kg⁻¹ DM. Thus, *A. dubius* could be considered as an alternative source of protein and fibre for rabbit feeding in tropical and subtropical regions.

KEY WORDS:

Amaranthus dubius, rabbit, diet, digestibility, growth performance.

INTRODUCTION

Rabbit meat is a particularly important product in Southern Europe, mainly Spain, France, and Italy (Colin and Lebas, 1996). However, breeding and fattening rabbits is becoming increasingly popular as a subsistence activity in developing countries, even in the tropical and subtropical climate areas (Pascual and Cervera, 2010). It is a means for poverty alleviation, and for supplying high quality meat to the population at an affordable price, as a way to reduce the risk of malnutrition and other diseases associated with insufficient protein intake, especially in vulnerable groups, such as children and pregnant women (Bergaoui and Kriaa, 2001).

One of the main limiting factors that have been impairing rabbit production development in tropical and subtropical countries is the lack of balanced pelleted feeds available at a competitive price. Therefore, alternatives are needed to formulate and produce balanced pelleted feeds by using local raw materials, mainly sources of fiber and protein. Particularly, a key factor is the need to replace alfalfa (*Medicago sativa*), soy (*Glycine max*), sunflower seed (*Helianthus annuus*), barley (*Hordeum vulgare*) and wheat bran (*Triticum* spp.); which are the raw materials prevalently used in diet formulation for rabbits in the countries with a well-developed rabbit industry (Guemour *et al.*, 2010; Kadi *et al.*, 2011; Volek *et al.*, 2013). However, these are scarce or expensive in developing countries (Al-Dobaib *et al.*, 2007; Nieves *et al.*, 2008, Capra *et al.*, 2013). Moreover, it is of particular interest to use plants or raw materials from vegetable sources in rabbit rearing, especially forages and others alternative ingredients, not used for human food (Pascual *et al.*, 2007;

Lakabi-loualitene *et al.*, 2008; Togun *et al.*, 2009; Capra *et al.*, 2013). These raw materials, potential candidates for feed formulation for rabbits, should ideally be readily available and inexpensive to obtain and process (Nieves *et al.*, 2001; Nieves *et al.*, 2008).

Amaranthus dubius Mart. ex Thell. is a plant belonging to the Amaranaceae family, genus *Amaranthus*, distributed in tropical and subtropical regions. This plant has a high productivity and adapts itself to different edaphoclimatic conditions, especially dry soils and high temperatures (Repo-Carrasco-Valencia, 2009). *Amaranthus dubius* grows wild in Venezuela, being considered a weed species in subsistence crops, such as corn, sorghum, and several legumes (Matteucci *et al.*, 1999). The plant presents a high yield of green matter, as well as excellent nutrients content (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007). However, is a species unexploited as a crop, although its seeds are eaten as a cereal and the leaves and stems as a vegetable (Matteucci *et al.*, 1999). There are several reports of its use as a forage plant for feeding pigs, sheep, goats, cattle, among others (De Troiani and Ferramola, 2005; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Sleugh *et al.*, 2001), but has received little attention for use in feeding rabbits.

Thus, the aim of this work was to determine the digestibility of balanced diets including *A. dubius* Mart. ex Thell. for growing rabbits and to assess the effects on their performance.

MATERIALS AND METHODS

Experimental diets

Mature *A. dubius* plants were collected manually during the rainy season in an experimental plantation located in the municipality of Santa Rita, Zulia State, Venezuela. Samples were harvested approximately 80 days after seeding and subjected to oven drying (between 50 and 60 °C·40 h⁻¹), with constant rotation and aeration. They were subsequently ground and sieved at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1–27) and flour was placed in hermetically-closed plastic containers, which were stored in a cool environment until analysis and utilization as raw material in the manufacture of experimental diets. The chemical composition of amaranth flour is shown in table 1.

Three pelleted diets were formulated with increasing *A. dubius* levels of inclusion (0, 16 and 32%), whose ingredients and chemical composition are shown in table 2. A basal mixture (control diet; A0) which contained corn, soybean, wheat bran, *Panicum maximum* straw, palm kernel, soybean oil and cane molasses as main ingredients was formulated to fit the nutritional requirements of growing rabbits (De Blas and Mateos, 2010). Two additional experimental diets containing increasing inclusion rates of *A. dubius* were prepared by substituting the control diet (0%) with 16 and 32% of *A. dubius* (A16 and A32 diets, respectively). Salt, vitamin-mineral premix (Tecnovit Conejos Único®; Tecnología and Vitaminas, S.L., Tarragona, Spain) and sepiolite (pellet binder; Exal H®, Tolsa Group, Madrid, Spain) were added to all diets. The diets were formulated to have similar levels of crude protein (CP) and digestible energy (DE). Diets were pelleted (3 mm diameter × 5-10 mm length).

Experimental *design, animals and housing conditions*

A total of 113 New Zealand white rabbits of both sexes weaned at 35 d, were used to determine the digestibility of diets with *A. dubius* and its effect on growth during the fattening period. Once weaned, rabbits were transported from the farm of the National Institute of Hygiene “Rafael Rangel”, located in the town of San Diego, Miranda State, Venezuela (average 26 °C and 74% relative humidity) to the experimental farm (seven hours distant) in the town of Concepcion, Jesus Enrique Lossada Municipality, Zulia State, Venezuela. Rabbits were housed in individual wire mesh cages measuring 50×25×40 cm (length, width and height), equipped with one nipple drinker and one hopper feeder. Water was filtered before storage in the farm water-tank. The farm was an open-air building equipped with a fan to circulate the air, with natural light during the day. The temperature and relative humidity during the test ranged within the intervals 23-32 °C and 50-80%, respectively.

To determine the effect of diets on the performance of growing rabbits, after weaning with a weight of 759.46 ± 101.02 g (mean±standard deviation), animals were randomly assigned to one of the three experimental diets during the fattening period from 35 to 87 d of age (A0: n=37, A16: n=38, A32: n=38 rabbits). Rabbits were given *ad libitum* access to water and feed throughout the trial. Animals were weighed weekly, obtaining the live weight after weaning (LW35d), at 87 days (LW87d), as well as at intermediate ages. Feed intake was measured on a daily basis. Daily feed intake (DFI); daily weight gain (DWG), and feed conversion rate (FCR) were subsequently calculated.

The individual health status of the animals was controlled daily through observation of clinical evidences of digestive troubles by using the methodology proposed by the European Group on Rabbit Nutrition (Fernández-Carmona *et al.*, 2005). For calculation of morbidity, rabbits were considered ill (only once throughout the trial) when showed signs of diarrhoea and significant reduction in feed intake (-30% approximately), while dead animals were only considered for mortality calculation. The sanitary risk index was calculated as the sum of morbidity and mortality (Bennegadi *et al.*, 2001). No antibiotics, drugs or additives were added to feed and water, except robenidine hydrochloride included in the mineral and vitamins premix (13,200 mg·kg⁻¹ of premix).

A digestibility trial was performed, according to Perez *et al.* (1995) methodology: After a 7-d adaptation period, faeces were collected during a 4-day period, from 42 to 46 d of age, on 36 rabbits (12 per treatment) to obtain the coefficients of total tract apparent digestibility (CTTAD; %) of dry matter (DM), organic matter (OM), CP, crude fibre (CF), ether extract (EE), neutral detergent fibre (NDF) and acid detergent fibre (ADF). Additionally, the digestible protein of the diets (DPD) was calculated from the coefficients of digestibility, while digestible energy (DE) was calculated according to the equation of Fekete and Gippert (1986). On the other hand, the digestible protein (DP) of *A. dubius* was calculated by difference, assuming additivity and no contribution from premix+binder, according to the equation of Villamide *et al.* (2001), e.g. for DP of A16 diet:

$$DP(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ DM}) = [\text{DPA16} - (1 - \text{SRc}) \times \text{DPA0}] / \text{SRc}$$

where DPA16 is the DP of A16 diet and DPA0 the DP of A0 diet (both corrected by DM), and SRc the substitution rate de *A. dubius* in A16 diet (corrected by DM and excluding premix+binder). Calculations of the standard errors of DP of *A. dubius* in the diets were done following the recommendations of Villamide *et al.* (2001).

Analytical methods

The chemical analyses were conducted at Laboratory of Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, on diets, faeces and on the *A. dubius* flour, according to the recommendations proposed by the European Group on Rabbit Nutrition (EGRAN, 2001). The AOAC International (2005) procedures were used to determine DM (method 925.10), CP (method 954.01, Kjeldahl: N×6.25) and EE (method 2003.05). Crude ash was determined according to AOAC procedure 942.05 (AOAC International, 2004), and neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) were determined according to the sequential method of Van Soest *et al.* (1991).

Statistical analyses

Data on growth performance and CTTAD of the diets were analyzed as a completely randomized design with type of diet as the main source of variation, using the General Linear Model procedure of the SAS[®] statistical program (SAS, 2013). Tukey's test was used for a comparison of the means when appropriate. Morbidity and mortality were analysed using the Chi-Square test. As live weight was measured every week, it was analyzed with the methodology of repeated measures over time through the MIXED procedure (SAS, 2013), and were subsequently selected second-degree

polynomial models that better explain the behavior of that variable over time. Differences among treatment means with $P < 0.05$ were accepted as representing statistically significant differences.

RESULTS AND DISCUSSION

Amaranthus dubius composition and experimental feeds

Amaranthus dubius composition is shown in table 1. The chemical composition of *A. dubius* as raw material for animal feed is not available in the reference tables used for rabbit feeding (Maertens *et al.*, 2002; INRA, 2004; FEDNA, 2010) and has been reported in very few studies (Acevedo *et al.*, 2007; Odhav *et al.*, 2007; Montero-Quintero *et al.*, 2011).

Amaranthus dubius presented higher CP and Ash contents (20.94 and 20.36%, respectively; table 1) than most of the fibrous feedstuffs used in rabbit diets (Maertens *et al.*, 2002). Its CF, NDF and ADF contents (19.91, 39.80 and 28.80%, respectively; table 1) were comparable to that of alfalfa meal (Maertens *et al.*, 2002). Furthermore, *A. dubius* showed a higher content in protein, fiber and ash than that reported in recent researches for unconventional vegetables used in rabbit feeding, such as plants of *Hedysarum flexuosum* (Kadi *et al.*, 2011), *Zea mays* (Martínez *et al.*, 2006) and *Tithonia diversifolia* (Nieves *et al.*, 2011), as well as hydroponic green barley forage (Morales *et al.*, 2009) and root of *Cichorium intybus* (Volek and Marounek, 2011).

Thus, *A. dubius* can be classified as a balanced fibre source for rabbit feeding (De Blas and Mateos, 2010), that is also rich in protein and minerals. In tropical countries it could become a substitute for raw

materials currently used in balanced feed formulation (Molina *et al.*, 2011; Montero-Quintero *et al.*, 2011).

Chemical composition of the experimental diets is shown in table 2. *Amaranthus dubius* was used in diets A16 and A32 to partially replace ingredients usually used in formulating rabbit pellets, particularly sources of protein and fiber. Diets tested satisfy nutritional requirements of the growing rabbit (De Blas and Mateos, 2010). However, ADL was about twice of the requirements in the three diets, while ADF and was slightly higher in A32 diet.

In the formulation of the diets (table 2), in addition to using traditional ingredients for feed formulation (soybean, wheat bran, soybean oil and corn), it was necessary to include other unconventional raw materials available in the region, such as *Panicum maximum* Straw, palm kernel and cane molasses. This was because, in Venezuela, it is impossible to find in the market other raw materials that allow a more efficient and typical feed formulation according to the requirements of rabbits, a common situation in tropical and subtropical countries, which encourages research on alternative raw materials (Al-Dobaib *et al.*, 2007; Nieves *et al.*, 2008; Togun *et al.*, 2009; Capra *et al.*, 2013). The inclusion of unconventional raw materials in this trial led to the formulation of isoproteic and isocaloric diets, which were adjusted to most of the requirements of fattening rabbits (De Blas and Mateos, 2010). However it was impossible to get it isofibrous with the available raw materials.

Health status

Mortality, morbidity and sanitary risk index are shown in table 3. There was independence between experimental diets for mortality, morbidity and sanitary risk index ($P>0.05$). Seventeen (15.04%) out of the total of 113 rabbits utilized in the trial became ill during the second and third weeks of the trial, due to decreased appetite and diarrhea, of which seven (6.19%) died and 10 (8.55%) were quickly recovered without medication.

Given that the rabbits were not treated pharmacologically during the fattening period, it can be considered that mortality, morbidity and sanitary risk index (average: 6.16, 8.79 and 14.95%, respectively) remained at an acceptable level. Mortality was lower than reported by Martínez *et al.* (2006), Pascual *et al.* (2007), Cesari *et al.* (2009), Romero *et al.* (2011) and Grueso *et al.* (2013) in different trials with fattening rabbits. The average morbidity in our trial was lower than that reported by Pascual *et al.* (2007) and Trocino *et al.* (2010), and higher than reported by Volek and Marounek (2011). On the other hand, the average the sanitary risk index was lower than that reported by Pascual *et al.* (2007) and Trocino *et al.* (2010).

In our trial, health status of rabbits was generally good, something that may be partly related to the strict hygienic-sanitary conditions in the experimental farm (Trocino *et al.*, 2010; Volek and Marounek, 2011). The signs and the age of occurrence of disease could indicate a mild outbreak of Epizootic Rabbit Enteropathy (ERE), which in other countries has been widely reported in commercial and experimental farms, and has been

linked with fibre deficiency, excess in proteins and stress conditions (Lebas *et al.*, 1998; Gidenne and Bellier; 2000; Licois *et al.*, 2005; Pascual *et al.*, 2007; Lakabi-Loualitene *et al.*, 2008; Xiccato *et al.*, 2008). However, the occurrence of this pathology in fattening rabbits has not been yet described in Venezuela. On the other hand, the post-weaning period is a critical time for rabbits because this stage is associated with a higher risk of digestive disorders in growing rabbits (Gidenne and Garcia, 2006; Carabaño *et al.*, 2010). The starch content and fiber type present in the components of the experimental diets, could also be responsible for the digestive disorders observed in the rabbits (Trocino *et al.*, 2013). Therefore, this should be considered in future research.

Growth performance

Rabbit performance is shown in table 4. No significant differences ($P>0.05$) among treatments were found in LW35d, LW87d and DWG (on average 759.46 g, 1,883.24 g and $21.61 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$, respectively). Inclusion of *A. dubius* in A16 and A32 diets reduced daily feed intake ($P<0.05$) compared with A0 diet (73.69 and 69.86 vs. $85.37 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$, respectively). On the other hand, FCR was better for A32 compared to A0 diet ($P<0.05$; 3.28 and 3.84, respectively), whereas in A16 was intermediate and similar to A0 and A32 diets ($P>0.05$). Thus, the inclusion of *A. dubius* at increasing levels in the diet improved feed efficiency of growing rabbits.

There is little literature on the use of amaranth in rabbit feeding. The values of the growth parameters obtained in the present study were better than those reported by Bautista and Barrueta (2000), Bamikole *et al.* (2000) and Chhay *et al.* (2013) when using pellets of leaves and seeds

of *Amaranthus* spp., foliage of *Amaranthus* spp. and unthreshed grain amaranth seedhead, respectively, in fattening rabbits feeding.

Experimental groups exhibited lower DFI and DWG to that reported by Martínez *et al.* (2006), Lakabi-loualitene *et al.* (2008), Volek and Marounek (2011), Dal Bosco *et al.* (2012), and Volek *et al.* (2013), in fattening rabbits fed with unconventional diets. As a result of low intake and weight gain, FCR was greater in our trial than in these studies. Equally, our rabbits showed lower values of DFI and DWG than that reported by El-Adawy *et al.* (2012) and Peiretti and Meineri (2008) in diets including barley grain and chia seed (*Salvia hispanica*), respectively. However, in this case the FCR values were better in our study with respect to that reported by these authors.

The evolution of live weight of rabbits during the whole experiment is shown in figure 1. No differences were observed between treatments at 35, 42, 49 and 87 days of age ($P>0.05$). At 56 days of age A0 rabbits weight was higher ($P<0.05$) than in A16 and A32 treatments, while at 63, 70 and 77 days of age rabbits weight of A0 and A32 diets were higher than in A16 diet ($P<0.05$). The LW87d value was lower than those reported by Chiericato *et al.* (1996), Kowalska and Bielański (2009) and El-Adawy *et al.* (2012) in New Zealand White rabbits slaughtered at 85, 90 and 91 days of age, respectively. In the figure 1 it is observed that at 87 days of age (end of trial) the rabbits continued to show steady growth, indicating that to achieve the recommended commercial weight (2,000-2,200 g; González *et al.*, 1990; Bautista and Barrueta, 2000) the slaughtering age should be increased.

In general, rabbits performance may has been influenced by the unbalance in the fiber content of feeds, and high temperature and relative humidity under which the trial was conducted. In fact, it has been reported that high fibre content in feeds (Gidenne *et al.*, 2010a; Gidenne *et al.*, 2010b) and the thermal stress conditions (Chiericato *et al.*, 1992; Savietto *et al.*, 2012; Zeferino *et al.*, 2013) reduce feed consumption, therefore lowering growth.

Apparent digestibility and digestible protein of amaranth and diets

The coefficients of total tract apparent digestibility (CTTAD) are shown in table 5. There were no significant differences ($P>0.05$) between treatments in the CTTAD of DM (average 65.38), organic matter (OM; average 67.24), CP (average 80.18), CF (average 31.95), NDF (on average 29.32) or ADF (average 22.85). The CTTAD of EE was higher for A16 compared to A0 diet ($P<0.05$; 92.45 and 86.05%, respectively), whereas EE of the A32 diet was intermediate and similar to that of A0 and A16 diets ($P>0.05$).

The CTTAD of MS and CP found in the present study were higher than those reported by Bautista and Barrueta (2000) in diets with 20 to 35% of leaves and seeds of *Amaranthus* spp., whereas digestibility of CF was similar. Equally, CTTAD of DM, OM and CP in the present trial were higher than values reported by Kadi *et al.* (2011) and Martínez *et al.* (2006) in diets with 15 and 30% of sun-dried sulla hay (*Hedixarum flexuosum*) and 20 and 40% of dehydrated whole maize plant, respectively. On the contrary, the CTTAD the of DM, OM, CP and CF were lower than that reported by Bamikole *et al.* (2000) and Oso *et al.* (2010), in

rabbits fed with diets that included 20 to 35% of unthreshed grain amaranth seedhead and 10 to 30% of unpeeled cassava root meal (*Manihot esculenta*), respectively. On the other hand, our experimental diets exhibited digestibility values of DM, OM and CP higher than reported in diets that included 30% of some tropical foliage (Nieves *et al.*, 2008).

Digestible protein of experimental diets (DPD), that is shown in table 5, decreased from A0 to A32 diets ($P < 0.05$; 132.1, 127.3 and 121.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM, respectively) with increasing level of inclusion of amaranth. The DPD values obtained in our trial were higher than reported by Kadi *et al.* (2011) in diets with 15 and 30% of sun-dried sulla hay (*H. flexuosum*). In general, our DPD values were higher than those rated the minimum to be acceptable for mixed rabbit feeds (Lebas, 2004).

The digestible protein estimated for *A. dubius* from the inclusion levels of this raw material and the values of DP of the experimental diets was $100.58 \pm 6.43 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM (mean \pm standard error) when calculated by difference between A0 and A16 diets, and $100.00 \pm 3.30 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ DM between A0 and A32 diets. The values of DP in *A. dubius* were higher than those reported in corn, rice and barley; besides, they were similar to those reported for alfalfa meal and lower than the corresponding to sunflower seed and soybean meal (FEDNA, 2010).

Thus, our results indicate that *A. dubius* presented an acceptable level of DP, and diets containing it showed acceptable values of CTTAD and DPD. Therefore, it can be considered an interesting raw material for rabbit feed manufacturing. However, further experiments are necessary to confirm the present results and to determine its optimal level of inclusion

in balanced feeds, without affecting the performance and health status of rabbits.

CONCLUSIONS

Growth performance, digestibility and health status observed in rabbits fed with diets including *A. dubius* suggest that this vegetal can be considered a good source of fibre and protein for the formulation of feeds for growing rabbits, becoming a potential substitute for conventional raw materials, specially in the tropical and subtropical regions.

Acknowledgements: The authors thank the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico of the Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) for funding this project, Dr. Rosa Carabaño for his advice on some aspects of the experimental design, and the company Tolsa Group (Madrid, Spain) for donating the sepiolite used in the feed formulation.

REFERENCES

- Acevedo I., García O., Acevedo I., Perdomo C., 2007. Valor nutritivo del bleado (*Amaranthus spp*) identificado en el municipio Morán, Estado Lara. *Agrollanía* 4, 77-93.
- Al-Dobaib S.N., Khalil M.H., Hashad M., Al-Saef A.M., 2007. Growth, carcass and caecal traits in V-line and crossbred rabbits fed diets containing discarded dates. *Word Rabbit Science* 15, 81-90.
- AOAC International, 2004. Official Methods of Analysis. 17th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- AOAC International, 2005. Official Methods of Analysis. 18th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA.
- Arellano M.A., Albarracín G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 73, 193-197.
- Bamikole M.A., Ezenwa I., Adewumi M.K., Omojola A.B., Akénova M.E., Babayemi O.J., Olufosoye O.F., 2000. Alternative feed resources for formulating concentrate diets of rabbits. 2. Jack bean (*Canavalia ensiformis*) seeds. *Word Rabbit Science* 8, 131-136.
- Barba de la Rosa A.P., Fomsgaard I.S., Laursen B., Mortensen A.G., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera A., González-Castañeda J., De León-

- Rodríguez A., 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal Cereal Science* 49, 117-121.
- Bautista E., Barrueta H.D.E., 2000. Bledo (*Amaranthus* spp.) como ingrediente en dietas para conejos en crecimiento y engorde. *Revista Científica (UNET)*. 12, 1-17.
- Bennegadi N., Gidenne T., Licois D., 2001. Impact of fibre deficiency and sanitary status on non-specific enteropathy of the growing rabbit. *Animal Research* 50, 401-413.
- Bergaoui R., Kriaa S., 2001. Performances des élevages cynicoles modernes en Tunisie. *Word Rabbit Science* 9, 69-76.
- Capra G., Martínez R., Fradiletti F., Cozzano S., Repiso L., Márquez R., Ibáñez F., 2013. Meat quality of rabbits reared with two different feeding strategies: with or without fresh alfalfa *ad libitum*. *Word Rabbit Science* 21, 23-32.
- Carabaño R., Piquer J., Menoyo D., Badiola I., 2010. The digestive system of the rabbit. In: *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. De Blas J.C., Wiseman J. (Eds.) CAB International, Wallingford, UK. pp. 1-18.
- Cesari V., Grilli G., Ferrazzi V., Toschi I., 2009. Influence of age at weaning and nutritive value of weaning diet on growth performance and caecal traits in rabbits. *Word Rabbit Science* 17, 195-205.
- Chhay T., Pok S., Borin K., Preston T.R., 2013. Amaranth (*Amaranthus* spp.) as replacement for water spinach (*Ipomoea aquatica*) with or without paddy rice on growth performance of rabbits. *Livestock Research for Rural Development*, 25, art. 12. Available at: <http://www.lrrd.org/lrrd25/1/chha25012.htm>. Accessed September 2013.
- Chiericato, G.M., Bailoni L., Rizzi C., 1992. The effect of environmental temperature on the performance of growing rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research* 15, 723-731.
- Chiericato G.M., Rizzi C., Rostellato V. 1996. Growth and slaughtering performance of three rabbit genotypes under different environmental conditions. *Annales de Zootechnie* 45, 311-318.
- Colin M., Lebas F., 1996. Rabbit meat production in the world. A proposal for every country. In *Proc.: 6th World Rabbit Congress*. Toulouse, France, 3, 323-330.
- Dal Bosco A., Mourvaki E., Cardinali R., Servili M., Sebastiani B., Ruggeri S., Mattioli S., Taticchi A., Esposito S., Castellini C., 2012. Effect of dietary supplementation with olive pomaces on the performance and meat quality of growing rabbits. *Meat Science* 92, 783-788.
- De Blas J.C., Mateos G.G., 2010. Feed formulation. In: *Nutrition of the Rabbit*, 2nd edition. (eds. De Blas J.C., Wiseman J.) . CAB International, Wallingford, UK. pp. 222-232.
- De Troiani R.M., Ferramola L.A., 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario* 9, 103-112.

- EGRAN, 2001. Technical note: Attempts to harmonize chemical analyses of feeds and faeces, for rabbit feed evaluation. *Word Rabbit Science* 9: 57-64.
- El-Adawy M.M., Mohsen M.K., Salem, A.Z.M., Mariezcurrena B.M.A., El-Santiel G.S., Dakron, M.Z., 2012. Growth performance and carcass composition of rabbits fed on diets of gradual levels of barley grain. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 15, 207-215.
- FEDNA, 2010. Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. 3rd edition De Blas J.C., Mateos G.G., García-Rebollar P.G. (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), Madrid, Spain. pp. 502.
- Fekete S., Gippert T., 1986. Digestibility and nutritive value of nineteen important rabbit feedstuffs. *Journal of Applied Rabbit Research* 9, 103-108.
- Fernández-Carmona J., Blas E., Pascual J.J., Maertens L., Gidenne T., Xiccato G., García J., 2005. Recommendations and guidelines for applied nutrition experiments in rabbits. *Word Rabbit Science* 13, 209-228.
- Gidenne T., Bellier R., 2000. Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates. Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. *Livestock Production Science* 63, 141-152.
- Gidenne T., Garcia J., 2006. Nutritional strategies improving the digestive health of the weaned rabbit. In: *Recent Advances in Rabbit Sciences*. Maertens L., Coudert P. (Eds.). ILVO, Animal Science Unit, Melle- Belgium. pp. 229-238.
- Gidenne T., Carabaño R., García J., de Blas J.C., 2010a. Fibre digestion. In: *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. De Blas J.C., Wiseman J. (Eds.). CAB International, Wallingford, UK. pp. 66-82.
- Gidenne T., García, J., Lebas, F., Licois, D.C., 2010b. Nutrition and feeding strategy: interactions with pathology. In: *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. De Blas J.C., Wiseman J. (Eds.). CAB International, Wallingford, UK. pp. 179-199.
- González C.J., Torrealba M., Márquez N., 1990. Ubicación de la edad y peso óptimo de matanza en conejos Nueva Zelanda × California. In: *Proc.: VI Congreso Venezolano de Zootecnia*. San Cristóbal, Venezuela. MG 42.
- Grueso I., De Blas J.C., Cachaldora P., Mendez J., Losada B., García-Rebollar P., 2013. Combined effects of supplementation of diets with hops and of a substitution of starch with soluble fiber on feed efficiency and prevention of digestive disorders in rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 180, 92-100.
- Guemour D., Bannelier C., Dellal A., Gidenne T., 2010. Nutritive value of sun-dried grape pomace, incorporated at a low level in complete feed for the rabbit bred under Magrebian conditions. *Word Rabbit Science* 18, 17-25.
- INRA, 2004. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: porc, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. 2ème Edition revue et corrigée. Sauvant D., Perez J.M., Tran G. (Eds.). INRA Editions, Paris. pp. 301.
- Kadi S.A., Guermah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T., 2011. Nutritive value of sun-dried sulla hay (*Hedysarum flexuosum*) and its effect on performance and carcass characteristics of growing rabbits. *Word Rabbit Science* 19, 151-159.

- Kowalska D., Bielański P., 2009. Meat quality of rabbits fed a diet supplemented with fish oil and antioxidant. *Animal Science Papers and Reports* 27, 139-148.
- Lakabi-Ioualitene D., Lounaouci-Ouyed G., Berchiche M., Lebas F., Fortun-Lamothe L., 2008. The effects of the complete replacement of barley and soybean meal with hard wheat by-products on diet digestibility, growth and slaughter traits of a local Algerian rabbit population. *Word Rabbit Science* 16, 99-106.
- Lebas F., 2004. Reflections on rabbit nutrition with a special emphasis on feed ingredients utilization. In Proc.: 8th World Rabbit Congress, Puebla, México. pp. 686-736.
- Lebas F., Gidenne T., Perez J.M., Licois D., 1998. Nutrition and pathology. In: *Nutrition of the Rabbit*. De Blas J.C., Wiseman J. (Eds.). CABI International, Wallingford, UK. pp. 197-214.
- Licois D., Wyers M., Coudert P., 2005. Epizootic rabbit enteropathy: Experimental transmission and clinical characterization. *Veterinary Research* 36, 601-613.
- Maertens L., Perez J.M., Villamide M., Cervera C., Gidenne T., Xiccato G., 2002. Nutritive value of raw materials for rabbits: EGRAN Tables 2002. *Word Rabbit Science* 10, 157-166.
- Martínez M., Biglia S., Moya V.J., Blas E., Cervera C., 2006. Nutritive value of dehydrated whole maize plant and its effect on performance and carcass characteristics of rabbits. *Word Rabbit Science* 14, 15-21.
- Matteucci S.D., Pla L., Colma A., 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16, 356-370.
- Morales M.A., Fuente B., Juárez M., Ávila E., 2009. Short communication: Effect of substituting hydroponic green barley forage for a commercial feed on performance of growing rabbits. *Word Rabbit Science* 17, 35-38.
- Molina E., González-Redondo P., Montero K., Ferrer R., Moreno-Rojas R., Sánchez-Urdaneta A. 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36, 386-391.
- Montero-Qintero K., Moreno-Rojas R., Molina E., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: Una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28, 619-627.
- Nieves D., López D., Cadena D., 2001. Alimentación de conejos de engorde con dietas basadas en materias primas no convencionales y suplementación con *Trichanthera gigantea*. *Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnología, special issue*, 60-66.
- Nieves D., Schargel I., Terán O., González C., Silva L., Ly J., 2008. Estudio de procesos digestivos en conejos de engorde alimentados con dietas basadas en follajes tropicales. *Digestibilidad fecal. Revista Científica, FCV-LUZ* 18, 271-277.
- Nieves D., Terán O., Cruz L., Mena M., Gutiérrez F., Ly J., 2011. Digestibilidad de nutrientes en follaje de árnica (*Tithonia diversifolia*) en conejos de engorde. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14, 309-314.

- Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H., 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal Food Composition and Analysis* 20, 430-435.
- Oso A.O., Oso O., Bamgbose A.M., Eruvbetine D., 2010. Utilization of unpeeled cassava (*Manihot esculenta*) root meal in diets of weaner rabbits. *Livestock Science* 127, 192-196.
- Pascual J.J., Cervera C., 2010. Why produce rabbit? In Proc.: 4th Congreso de Cunicultura de las Américas. American Branch of the World Rabbit Science Association, Córdoba, Argentina. pp. 1-10.
- Pascual J.J., Borgoñon P., Ródenas L., Martínez E., Moya V.J., Blas E., Cervera C., 2007. Potential use of *Ceratitidis capitata* exhausted diets in growing rabbit diets. *Word Rabbit Science* 15, 189-198.
- Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalle Zotte A., Cossu M.E., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernandez J., Falcao e Cunha L., Bengala Freire J., 1995. European reference method for *in vivo* determination of diet digestibility in rabbits. *Word Rabbit Science* 3, 41-43.
- Peiretti P.G., Meineri G., 2008. Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science* 80, 1116-1121.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Peña J., Kallio H., Salminen S., 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal Cereal Science* 49, 219-224.
- Romero C., Rebollar P.G., Dal Bosco A., Castellini C., Cardinali R., 2011. Dietary effect of short-chain organic acids on growth performance and development of intestinal lymphoid tissues in fattening restricted rabbits. *Word Rabbit Science* 19, 133-142.
- Savietto D., Blas E., Cervera C., Baselga M., Friggens N.C., Larsen T., Pascual J.J., 2012. Digestive efficiency in rabbit does according to environment and genetic type. *Word Rabbit Science* 20, 131-140.
- SAS, 2013. SAS user's guide: Statistics. Version 9.3.1. Statistical Analysis Systems Institute, Inc, Cary, NC, USA.
- Sleugh B.B., Moore K.J., Brummer E.C., Knapp A.D., Russell J., Gibson L., 2001. Forage nutritive value of various amaranth species at different harvest dates. *Crop Science* 41, 466-472.
- Togun V.A., Farinu G.O., Ojebiyi O.O., Awotunde A.I., 2009. Effect of replacing maize with a mixture of rumen content and blood meal on the performances of growing rabbits: Initial study with mash feed. *Word Rabbit Science* 17, 21-26.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., M. Tazzoli M., Radaelli G., Xiccato G., 2013. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: Effects on digestive efficiency and productive traits. *Animal Feed Science and Technology* 180, 73-82.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Radaelli G., Xiccato G., 2010. Effect of dietary soluble fibre level and protein source on growth, digestion, caecal activity and health of fattening rabbits. *Word Rabbit Science* 18, 199-210.

- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.
- Villamide M.J., Maertens L., Cervera C., Perez J.M., Xiccato G., 2001. A critical approach of the calculation procedures to be used in digestibility determination of feed ingredients for rabbits. *Word Rabbit Science* 9, 19-25.
- Volek Z., Marounek M., 2011. Dried chicory root (*Cichorium intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet: effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits. *Word Rabbit Science* 19, 143-150.
- Volek Z., Volková L., Marounek M., 2013. Effect of a diet containing white lupin hulls (*Lupinus albus* cv. Amiga) on total tract apparent digestibility of nutrients and growth performance of rabbits. *Word Rabbit Science* 21, 17-21.
- Xiccato G., Trocino A., Carraro L., Fragkiadakis M., Majolini D., 2008. Digestible fibre to starch ratio and antibiotic treatment time in growing rabbits affected by epizootic rabbit enteropathy. In Proc.: 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy. pp. 167-170.
- Zeferino C.P., Komiyama C.M., Fernandes S., Sartori J.R., Teixeira P.S.S., Moura A.S.A.M.T., 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7, 518-523.

Table 1. Chemical composition (% DM) of *Amaranthus dubius* flour.

	<i>A. dubius</i> (whole plant)
Dry Matter (DM; %)	93.37
Crude Protein (CP)	20.94
Ether Extract (EE)	1.31
Ash	20.36
Crude Fibre (CF)	19.91
Neutral detergent fibre (NDF)	39.80
Acid detergent fibre (ADF)	28.80
Acid detergent lignin (ADL)	4.74
Digestible energy ¹ (DE, MJ·kg ⁻¹ DM)	5.33

¹DE was calculated according to Fekete and Gippert (1986) as: $DE \text{ (kcal}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ DM)} = 4,253 - 32.6 \times \text{Crude fibre (\% DM)} - 144.4 \times \text{Ash (\% DM)}$; it was subsequently transformed to $\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ DM}$.

Table 2. Ingredients and chemical composition of the experimental diets.

Ingredient (%)	Experimental diets		
	A0	A16	A32
<i>Amaranthus dubius</i>	0	16	32
Corn	9.60	6.04	3.06
Soybean	11.06	9.50	10.70
Wheat bran	40.60	34.98	24.33
<i>Panicum maximum</i> Straw	16.32	4.77	1.19
Palm kernel	11.90	15.40	11.06
Soybean oil	1.28	6.31	12.46
Cane molasses	5.74	3.50	1.70
Sodium chloride	1.00	1.00	1.00
Sepiolite ¹	1.50	1.50	1.50
Vitamin-mineral premix ²	1.00	1.00	1.00
Chemical composition (g·kg⁻¹ DM)			
Dry Matter (DM)	909.2	892.8	917.0
Crude Protein (CP)	159.0	153.9	150.7
Ether Extract (EE)	2.03	3.59	4.59
Ash	70.60	71.2	72.7
Crude Fibre (CF)	157.30	149.0	161.7
Neutral detergent fibre (NDF)	346.8	337.2	307.0
Acid detergent fibre (ADF)	204.2	202.8	234.2
Acid detergent lignin (ADL)	101.0	120.5	90.2
Digestible Energy ³ (DE, MJ·kg ⁻¹ DM)	12.27	12.35	12.11

¹Exal H[®]; provided by TOLSA Group (Madrid, Spain). ²Tecnovit Conejos Único[®]; provided by Tecnología and Vitaminas, S.L. (Tarragona, Spain). Mineral and vitamins composition (g·kg⁻¹ premix): Fe: 10, I: 0.2, Co: 0.02, Cu: 3, Mn: 10, Zn: 12, Se: 0.02, vitamin E: 3.2, vitamin B₁: 0.2, vitamin B₂: 0.6, vitamin B₆: 0.2, vitamin B₁₂: 0.002, calcium d-pantothenate: 2, Nicotinic acid: 4.4, choline chloride: 10, vitamin A: 1,800,000 IU, vitamin D₃: 300,000 IU. ³DE was calculated according to Fekete and Gippert (1986) as: DE (kcal·kg⁻¹ DM): 4,253 - 32.6 × Crude fibre (% DM) - 144.4 × Ash (% DM); it was subsequently transformed to MJ·kg⁻¹ DM.

Table 3. Effect of *Amaranthus dubius* dietary inclusion level on mortality, morbidity and sanitary risk in growing rabbits from weaning (35 days) to slaughter (87 days)¹.

	Diets ²			χ^2 values		Decision
	A0	A16	A32	χ^2 calculated	χ^2 tabulated	
Mortality (%)	2.70 (1)	7.89 (3)	7.89 (3)	4.34	5.99	* ⁴
Morbidity (%)	2.70 (1)	15.79 (6)	7.89 (3)	1.16	5.99	* ⁴
Sanitary risk index ³ (%)	5.40	23.68	15.78	5.44	5.99	* ⁴

¹In parenthesis the number of dead or sick animals. ²A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32% of *Amaranthus dubius*. ³Sanitary risk: mortality + morbidity. ⁴There were independence between diets for mortality, morbidity and sanitary risk index (χ^2 calculated < χ^2 tabulated).

Table 4. Growth performance of rabbits fed the experimental diets with *Amaranthus dubius*.

	Experimental diets ¹			RMSE ²	P-value
	A0	A16	A32		
n ³	36	35	35		
Live weight 35d (g)	759.83	753.43	765.11	111.26	0.921
Live weight 87d (g)	1922.61	1855.97	1871.14	198.75	0.418
Daily feed intake (g·d ⁻¹)	85.37 ^a	73.69 ^b	69.86 ^b	10.76	0.017
Daily weight gain (g·d ⁻¹)	22.36	21.20	21.27	2.09	0.136
Feed conversion rate	3.84 ^a	3.48 ^{ab}	3.28 ^b	0.44	0.029

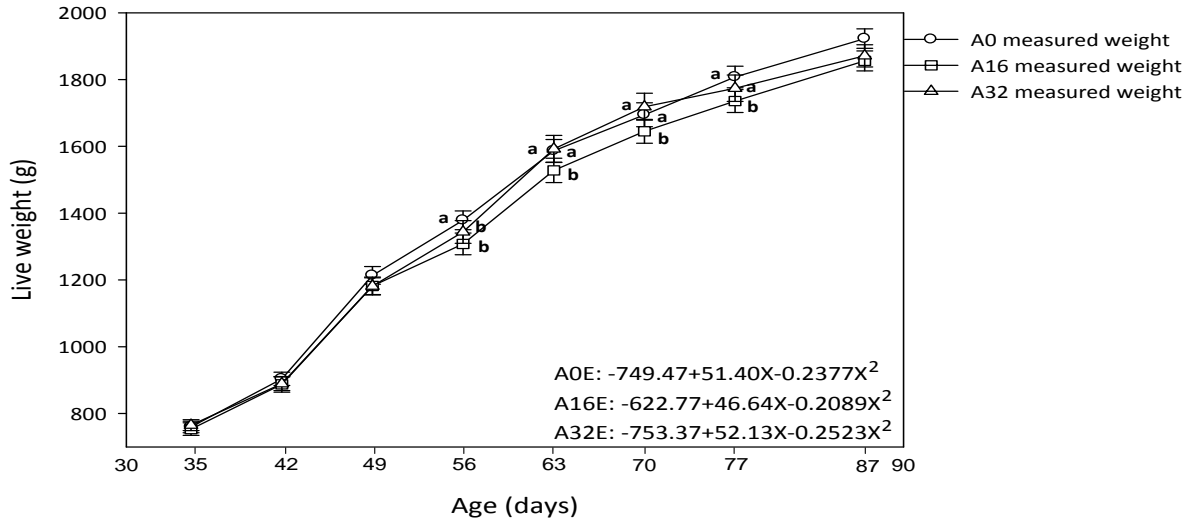
¹A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32% DM of *Amaranthus dubius*. ²RMSE: Root mean square error. ³n: Number of rabbits at the end of experimental period.

^{a,b} Mean values in the same row with a different superscript differ, P<0.05.

Table 5: Effect of *Amaranthus dubius* dietary inclusion level on coefficients of total tract apparent digestibility (CTTAD) and digestible protein of experimental diets (DPD) in growing rabbits between 42 and 46 d of age (12 rabbits·treatment⁻¹).

	Experimental diets ¹			RMSE ²	P-value
	A0	A16	A32		
Feed intake ³ (g·d ⁻¹)	76.66	73.84	71.36	11.63	0.510
CTTAD (%)					
Dry matter	65.65	65.57	64.93	8.01	0.910
Organic matter	66.99	67.71	67.02	7.57	0.930
Crude protein	81.32	80.62	78.61	4.03	0.230
Ether extract ⁴	86.05 ^b	92.45 ^a	90.91 ^{ab}	4.66	0.047
Crude fibre ⁴	30.02	32.56	33.27	7.78	0.730
Neutral detergent fibre ⁴	25.97	31.58	30.41	9.18	0.443
Acid detergent fibre ⁴	19.70	21.66	27.20	7.06	0.110
DPD (g·kg ⁻¹ DM)	132.1 ^a	127.3 ^{ab}	121.5 ^b	6.60	0.003

^{a-c}Means in the same row with different letters differ significantly (P<0.05). ¹A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32% DM of *Amaranthus dubius*. ²RMSE: Root mean square error. ³Feed intake during the digestibility trial (42 to 46 d of age). ⁴Digestibility determined from pooled faeces (n=8).



^{a,b} Mean values in the same row with a different superscript differ, $P < 0.05$.
A0E: A0 diet expected live weight; A16E: A16 diet expected live weight; A32E: A32 diet expected live weight.

Figure 1. Live weight (g) of rabbits fed diets with *Amaranthus dubius* during the fattening period (35-87 day)

Artículo IV

Effect of dietary inclusion of *Amaranthus dubius* on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits



ARTÍCULO IV

Effect of dietary inclusion of *Amaranthus dubius* on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits

Enviado para arbitraje a la revista Spanish Journal of Agricultural Research.

Índice de Impacto de 0,659 y posición 28/57 (segundo cuartil y segundo tercil) de la categoría “Agriculture, Multidisciplinary” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)

E. Molina, P. González-Redondo, R. Moreno-Rojas, K. Montero-Quintero and A.B. Sánchez-Urdaneta.

RESUMEN

Este estudio investigó cómo un régimen de alimentación con diferentes niveles de inclusión de *Amaranthus dubius* influyó en la canal y las características químicas de la carne de conejo. Ciento trece conejos Nueva Zelanda Blancos, colocados en jaulas individuales, fueron asignados aleatoriamente a una de tres dietas experimentales (A0, A16 y A32%). Los conejos fueron alimentados *ad libitum* desde el destete (35 d, peso promedio: 761±101.02 g) a 87 días de edad. El grupo control (A0) fue alimentado con una dieta basal sin *A. dubius*, mientras que los otros dos grupos fueron alimentados con la dieta basal después de reemplazar parte de ella con *A. dubius* hasta 16% (A16) y 32% (A32). No hubo diferencias entre los tratamientos en la mayoría de las características de la canal ($P>0,05$). El porcentaje de pérdidas por goteo (A0: 2,47; A16: 3,83 y A32: 3,61%, $P<0,05$), el porcentaje de grasa disectible (A0: 3,02; A16 :3,63 y

A32: 3,77%, $P < 0,05$) y el porcentaje de la caja torácica (A0: 12,97; A16: 13,68 y A32: 13,68%, $P < 0,05$) se incrementaron debido a la inclusión de *A. dubius* en las dietas (en promedio 3,72, 3,79 y 13,68%, respectivamente, $P < 0,05$). Por el contrario, los porcentajes de patas traseras (A0: 40,00; A16: 38,95 y A32: 38,89%, $P < 0,05$) y la compacidad de la canal disminuyó. No se observaron diferencias entre los tratamientos en el pH y la capacidad de retención de agua de la carne ($P > 0,05$). La inclusión de *A. dubius* en las dietas aumentó la proteína (A0: 21,52; A16: 23,76 y A32: 24,27%, $P < 0,05$) y el contenido de grasa (A0: 3,33; A16: 4,16 y A32: 5,39%; $P < 0,05$), mientras que la humedad de la carne disminuyó proporcionalmente (A0: 74,23, A16: 70,99 y A32: 67,70%, $P < 0,05$). De acuerdo con características de la canal y calidad de la carne obtenida se concluyó que *A. dubius* podría ser considerado como una materia prima alternativa para la alimentación de conejos en las regiones tropicales y subtropicales.

PALABRAS CLAVE:

Amaranto; piensos; condiciones tropicales; composición proximal.

SUMMARY

This study investigates how a feeding regime with different levels of inclusion of *Amaranthus dubius* influences the carcass and chemical characteristics of rabbit meat. One hundred and thirteen New Zealand White rabbits, individually caged, were randomly assigned to one of three experimental diets (A0, A16 and A32%). Rabbits were fed *ad libitum* from weaning (35 d, mean weight: 761 ± 101.02 g) to 87 d of age. The control group (A0) was fed a basal diet without *A. dubius*, while the other two

groups were fed the basal diet after replacing part of it with *A. dubius* at 16% (A16) and 32% (A32). There were no differences between treatments in most of the carcass characteristics ($P>0.05$). Drip loss percentage (A0: 2.47, A16: 3.83 and A32: 3.61%; $P<0.05$), dissectible fat percentage (A0: 3.02, A16: 3.63 and A32: 3.77%; $P<0.05$) and thoracic cage percentage (A0: 12.97, A16: 13.68 and A32: 13.68%; $P<0.05$) increased due to inclusion of *A. dubius* in the diets (means 3.72, 3.79 and 13.68%, respectively; $P<0.05$). On the contrary, hind part percentage (A0: 40.00, A16: 38.95 and A32: 38.89%; $P<0.05$) and compactness of the carcass decreased. No differences were observed among treatments in pH and water-holding capacity of meat ($P>0.05$). The inclusion of *A. dubius* in the diets increased protein (A0: 21.52, A16: 23.76 and A32: 24.27%; $P<0.05$) and fat contents (A0: 3.33, A16: 4.16 and A32: 5.39%; $P<0.05$) while moisture of meat decreased proportionally (A0: 74.23, A16: 70.99 and A32: 67.70%; $P<0.05$). According to carcass characteristics and meat quality obtained it is concluded that *A. dubius* can be considered as an alternative raw material for rabbit feeding in the tropical and subtropical regions.

KEY WORDS:

Amaranth, feeds, tropical conditions, proximal composition.

Abbreviations used:

A0 (diet without *Amaranthus dubius*); A16 (diet that contains 16% DM of *A. dubius*); A32 (diet that contains 32% DM of *A. dubius*); ADF (acid detergent fiber); ADL (acid detergent lignin); BeP (blood ejected percentage); CCW (chilled carcass weight); CP (crude protein); CSkP (commercial skin percentage); DE (digestible energy); DFP (dissectible fat

percentage); DLP (drip loss percentage); DM (dry matter); DoP (dressing out percentage); EE (ether extract); FGTP (full gastrointestinal tract percentage); FLP (fore legs percentage); HCW (hot carcass weight); HeP (heart percentage); HP (head percentage); HPP (hind part percentage); KiP (kidney percentage); L (total carcass length); LCL (lumbar circumference length); LHP (set of thoracic viscera percentage); LP (loin percentage); L/LCL (total carcass length/lumbar circumference length ratio); LuP (lung percentage); LvP (liver percentage); LW87d (live weight at 87 days); M/B (meat-to-bone ratio of the hind leg); NDF (neutral detergent fiber); pH_{24h} *Ld* (pH at 24h postmortem in *Longissimus dorsi*); pH_{24h} *Bf* (pH at 24h postmortem in *Biceps femoris*), PRW (percentage of released water); RCW (reference carcass weight); RMSE (root mean square error); TP (thoracic cage percentage).

INTRODUCTION

The overall production and consumption of rabbit meat in the world is low compared to cattle, poultry or pork. However, it is a relevant product in Spain, France, Italy and other Mediterranean countries (Colin and Lebas, 1996). For their organoleptic characteristics and nutritional quality, rabbit meat is highly prized and considered a delicacy also in many other regions of the world (McLean-Meynsse *et al.*, 1994; Dalle Zotte, 2002).

Rabbit breeding is a productive activity with great potential for rural development because of advantages of reproduction, growth and feeding of this species (Cheeke *et al.*, 1987; Fielding, 1991; Amin *et al.*, 2011; Njidda and Isidahomen, 2011). In addition, the attributes of its meat are

favorable because of its high quality and quantity protein as well as lower fat content with higher proportion of polyunsaturated fatty acids linoleic and linolenic than other commonly consumed meats (Njidda and Isidahomen, 2011).

In tropical and subtropical countries, one of the main constraints to rearing rabbits for fattening is the high cost of commercial feed, due to the low availability of raw materials in the market (most of them are imported products) and the use of several products necessary for human consumption (Onifade and Tewe, 1993; Kadi *et al.*, 2011). These balanced feeds are usually manufactured with raw materials such as alfalfa, soy, corn, among others, which can be overcome in nutritional and agronomic terms by others better adapted to subtropical environments and that are not required for human consumption (Bamikole *et al.*, 2000; Nouel *et al.*, 2003; Nieves *et al.*, 2008). A key aspect is to use plants or vegetable sources in rabbit feeding, especially forage, since the rabbit is an herbivorous monogastric species (Gidenne and Lebas, 2006; Akoutey *et al.*, 2012). In this context, the research in rabbit feeding is focused on the development of new products of high nutritional quality, with unconventional raw materials and new technologies, allowing a significant increase in production and a decrease in costs (Martínez *et al.*, 2006; Guemour *et al.*, 2010).

The amaranth is a plant belonging to the Amaranaceae family, genus *Amaranthus*, with more than 60 species distributed in tropical and subtropical regions. The most studied species are *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus* and *A. hypochondriacus* (Repo-Carrasco-Valencia, 2009). This

plant has a high genetic diversity, high productivity and adapts itself to different edaphoclimatic conditions, especially dry soils and high temperatures (Písaříková *et al.*, 2006; Repo-Carrasco-Valencia, 2009; Nama-Medoua and Oldewage-Theron, 2011). Due to the excellent nutrient composition of some amaranth species, they have become important in human and animal nutrition (Matteucci *et al.*, 1999; Zralý *et al.*, 2004; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Amaranthus dubius is highly distributed in all regions of Venezuela and other countries where is commonly known as “bledo”, and is considered a weed of various subsistence crops, such as corn, sorghum, and several legumes (Matteucci *et al.*, 1999; Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007; Olivares and Peña, 2009). Presents a high yield of green matter, as well as an excellent nutrient content (Arellano *et al.*, 2004; Odhav *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 2011; Montero-Quintero *et al.*, 2011); however, is a species unexploited as a crop, while its seeds are eaten as a cereal and the leaves and stems as a vegetable (Matteucci *et al.*, 1999). There are several reports of its use as a forage plant for feeding pigs, sheep, goats, cattle and rabbits (Barba de la Rosa *et al.*, 2009; Sleugh *et al.*, 2001).

The aim of the present work is to evaluate the effect of diets formulated with the inclusion of 16 and 32% of *A. dubius* Mart. ex Thell. flour on the carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits.

MATERIAL AND METHODS

Experimental diets

Mature *A. dubius* plants were collected manually during the rainy season in an experimental plantation located in the Municipality of Santa Rita, Zulia State, Venezuela. Samples were harvested approximately 80 days after seeding and subjected to oven drying (between 50 and 60 °C·40 h⁻¹), with constant rotation and aeration. Subsequently were ground and sieved at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1–27) and flour was placed in hermetically-closed plastic containers, which were stored in a cool environment until its analysis and utilization as raw material in the manufacture of pellets.

A basal mixture which contained corn, soybean, wheat bran, *Panicum maximum* Straw, palm kernel, soybean oil and cane molasses as main ingredients was formulated to fit the nutritional requirement of the growing rabbit (De Blas and Mateos, 2010). Three experimental diets containing an increasing incorporation rate of *A. dubius* were prepared by substituting the control diet (0%) with 16 or 32% of *A. dubius* (A0, A16 and A32 diets, respectively). Salt, mineral-vitamins premix and sepiolite (binder) were added to all diets. The ingredients and chemical composition of the three diets formulated are shown in tables 1 and 2, respectively. The diets were formulated to have similar levels of crude protein (CP) and digestible energy (DE). Diets were pelleted (3 mm diameter × 5-10 mm length) and rabbits were given *ad libitum* access to water and feed throughout the trial.

Animals and housing conditions in fattening and digestibility trials

One hundred and thirteen rabbits of both sexes weaned at 35 d, were transported just after weaning from the farm of National Institute of Hygiene, located in the town of San Diego, Miranda state, Venezuela (average 26 °C and 74% relative humidity) to the experimental farm (seven hours distant) in the town of Concepcion, Jesus Enrique Lossada Municipality, Zulia State, Venezuela. Rabbits were placed in individual wire mesh cages measuring 50×25×40 cm (length, width and height), equipped with one nipple drinker and one hopper feeder. Water was filtered before storage in the farm water-tank. The farm was an open-air building equipped with a fan to circulate the air, with natural light during the day. The temperature and relative humidity during the test ranged of 23-32 °C and 50-80%, respectively.

At weaning (mean weight±standard deviation: 761±101.02 g), animals were randomly assigned to one of the three experimental diets from 35 to 87 d of age (A0: n=37, A16: n=38, A32: n=38). The health status of rabbits was controlled daily through individual observation of clinical signs of digestive troubles according to the methodology of the European Group on Rabbit Nutrition (Fernández-Carmona *et al.*, 2005). No antibiotics, drugs or additives were added to feed and water; except robenidine hydrochloride content in the mineral and vitamins premix (13,200 mg·kg⁻¹ of premix).

Carcass characteristics

At 87 d of age, all animals were slaughtered and carcasses were prepared as recommended by the World Rabbit Science Association

(Blasco and Ouhayoun, 1996). The slaughtered rabbits were bled and then the skin, genitals, urinary bladder, gastrointestinal tract and the distal parts of legs were removed; later total carcass length (dorsal length+thigh length) and lumbar circumference were measured. Rabbits were suspended in a ventilated area for 30 min and weighed (hot carcass) and then chilled at 4 °C for 24 h in a ventilated room. After chilling, carcasses were weighed (chilled carcass). The head, thoracic cage organs, liver and kidneys were removed from each carcass to obtain the reference carcass, which included the meat, bones and fat depots.

Reference carcasses were divided into technological joints as indicated by the World Rabbit Science Association (Blasco and Ouhayoun, 1996). Retail cuts obtained were weighed and consisted of the following: fore legs, thoracic cage, loin, and hind part. The right hind legs were deboned, and the meat/bone ratio was calculated.

The following carcass characteristics were measured or calculated (Blasco and Ouhayoun, 1996): live weight at 87 d of age (LW87d), hot carcass weight (HCW), chilled carcass weight (CCW), reference carcass weight (RCW), total carcass length (L), lumbar circumference length (LCL), length/circumference ratio (L/LCL: total carcass length/lumbar circumference length), meat-to-bone ratio of the hind leg (M/B: hind leg edible meat weight/hind leg bone weight), dressing out percentage (DoP: $CCW \times 100 / LW87d$), blood ejected percentage (BeP: $\text{blood ejected weight} \times 100 / LW87d$), commercial skin percentage (CSkP: $\text{skin weight} \times 100 / LW87d$), full gastrointestinal tract percentage (FGTP: $\text{full gastrointestinal tract weight} \times 100 / LW87d$), drip loss percentage (DLP:

(HCW-CCW) \times 100/HCW), head percentage (HP: head weight \times 100/CCW), set of thoracic viscera percentage (LHP: thymus+ trachea+ esophagus+ lung+ heart weigh \times 100/CCW), liver percentage (LvP: liver weight \times 100/CCW), kidney percentage (KiP: kidney weight \times 100/CCW), heart percentage (HeP: heart weigh \times 100/CCW), lung percentage (LuP: lung weight \times 100/CCW), dissectible fat percentage (DFP: dissectible fat weight \times 100/RCW), fore legs percentage (FLP: fore legs weight \times 100/RCW), thoracic cage percentage (TP: thoracic cage weight \times 100/RCW), loin percentage (LP: loin weight \times 100/RCW) and hind part percentage (HPP: hind part weight \times 100/RCW).

Determination of meat quality

Meat quality was studied with the harmonized methods proposed by the Word Rabbit Science Association (Ouhayoun and Dalle Zotte, 1996). The pH was measured 24 h post-mortem in *Longissimus dorsi* (pH_{24h} Ld) and *Biceps femoris* (pH_{24h} Bf) muscles of 106 animals, by using a pH meter with a penetration electrode (HI 98103[®], Hanna Instruments, Sarameola di Rubano, Padova, Italy).

Water-holding capacity was studied in a sample of meat of the right hind leg by the pressure method on filter paper of Grau and Hamm (1957). A sample of 5 g of meat was previously ground in a domestic mincer, weighed and placed between two previously desiccated and weighed 7-cm disks of Whatman No. 1 filter papers. Then the sample was placed between two plexiglass plates and a load of 2.25 kg was applied for 5 min. Finally the meat was weighed after removing the filter papers. Water-holding capacity was calculated as the percentage of released water, PRW:

$[(\text{intact meat weight}) - (\text{pressed meat weight}) / (\text{intact meat weight})] \times 100$.

The mean of two replicates was used in analysis.

The chemical analyses were conducted at Laboratory of Animal Nutrition, Faculty of Agriculture, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, on feeds and on the *A. dubius* flour, according to the recommendations proposed by the EGRAN (2001), and on meat according to Ouhayoun and Dalle Zotte (1996). The AOAC International (2005) procedures were used to determine dry matter (DM; method 925.10), crude protein (CP; method 954.01, Kjeldahl: $N \times 6.25$) and ether extract (EE; method 2003.05). Crude ash was determined according to AOAC procedure 942.05 (AOAC International, 2004). Neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and acid detergent lignin (ADL) were determined according to the sequential method of Van Soest *et al.* (1991).

Statistical analysis

Data were analyzed as a completely randomized design with type of diet as the main source of variation, using the GLM procedure of the SAS[®] statistical program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2013). Differences among treatment means with $P < 0.05$ were accepted as representing statistically significant differences.

RESULTS

Carcass characteristics

The effects of inclusion of *A. dubius* in diets on carcass characteristics are shown in table 3. LW87d, HCW, RCW, LCL, M/B and percentage of ejected blood, commercial skin, full gastrointestinal tract,

head, set of thoracic organs, liver, kidneys, heart, lung, fore legs and loin did not differ among the treatments ($P>0.05$; table 3).

The values CCW and DoP were higher for A0 than for A16 diets ($P<0.05$). Total carcass length was higher in A32 ($P<0.01$) with respect to A0 and A16 treatments. On the other hand, L/LCL value was higher for A32 than for A0 diets ($P<0.05$). The values of DFP, TP and DLP were similar for A32 and A16 diets ($P>0.05$) and higher than those corresponding to A0 treatment ($P<0.05$). In A0 diet were observed higher values for HPP ($P<0.05$) with respect to A16 and A32 treatments (table 3).

Meat quality

The effects of experimental diets on meat quality of rabbits are shown in table 4. No differences were observed among the treatments in the values of $\text{pH}_{24\text{h}} \text{Ld}$; $\text{pH}_{24\text{h}} \text{Bf}$ and PRW ($P>0.05$; table 4).

The moisture was higher in A0, followed by A16 and A32 diets ($P<0.001$); conversely, the CP was higher in A16 and A32 ($P>0.05$) with respect to A0 treatment ($P<0.01$). Moreover, the fat was higher in A32 ($P<0.01$) with respect to A0 and A16 diets. The ash was higher for A16 ($P<0.01$) than for A0 and A32 treatments (table 4).

DISCUSSION

Carcass characteristics

There is not published research related to the carcass characteristics of fattening rabbits fed *A. dubius*, something which makes innovative the present study.

In our trial, experimental groups presented LW87d values lower than those commonly reported for New Zealand White rabbits slaughtered at similar ages. For example, Chiericato *et al.* (1996), Kowalska and Bielański (2009) and El-Adawy *et al.* (2012), reported average weights of 2,437 g, 2,466 g and 2,127 g in rabbits at ages of 85, 90 and 91 days, respectively. It has been reported that live weight of rabbits slaughtered at similar ages can be affected by many factors, especially by type of feeding and housing conditions (Daszkiewicz *et al.*, 2012). Therefore, and taking into account that LW87d value was independent of diet, the low weights observed could be consequence of the environmental test conditions. In fact, the high environmental temperature registered in the trial that was over the thermoneutrality range of the species, reduced feed intake and, subsequently, growth rate, leading to lower weight at the prefixed slaughter age (Dalle Zotte, 2002).

Xiccato (1999), Dalle Zotte (2002) and Liu *et al.* (2012) reported a direct relationship between body weight at slaughter and carcass weights. These reports are consistent with the results of the present investigation, where the carcass weights (HCW, CCW, and RCW), affected by a lower LW87d, were lower than in most of the trials carried out with different breeds of rabbits slaughtered at similar ages (Hernández *et al.*, 2004; Metzger *et al.*, 2006; Bielanski *et al.*, 2008; Villalobos *et al.*, 2008; Hassan *et al.*, 2011; El-Adawy *et al.*, 2012). Despite this, the carcass weights were similar to those reported by Oso *et al.* (2010) and Ogunsipe and Agbede (2012), and higher than those reported by Fatufe *et al.* (2010) and Njidda and Isidahomen (2011) for rabbits fed with feeds that include unconventional raw materials. Moreover, the differences between

treatments observed in CCW were consistent with those reported by El-Adawy *et al.* (2012) in rabbits fed with diets of barley grain (0 to 25% inclusion) and Eiben *et al.* (2010) in rabbits fed with different dietary ratios of sunflower and linseed oils.

Mean values of DoP (around 55%) were similar to those reported by Kowalska and Bielański (2009) and Daszkiewicz *et al.* (2012) in New Zealand White rabbits slaughtered at 90 and 91 days, respectively. By contrast, at similar ages Metzger *et al.* (2003) and Dal Bosco *et al.* (2012) found higher DoP values of 60 and 64.8%, respectively. In studies on carcass characteristics of fattening rabbits, DoP values may vary amply, even in rabbits slaughtered at the same age, influenced by genetic factors (breed, line), feeding regime, housing conditions and the specific method used for calculation (Daszkiewicz *et al.*, 2012). Differences between treatments observed in the present investigation could be related to a proportional reduction of experimental diets intake with increased level of inclusion of *A. dubius* (unpublished data), which can affect carcass weight and therefore the DoP (Bovera *et al.*, 2008; Metzger *et al.*, 2011).

The values of DFP found in this research were higher than in most of the trials on fattening rabbits of different breeds and lines (Hernández *et al.*, 2004; Pascual and Pla, 2007; Villalobos *et al.*, 2008; Capra *et al.*, 2013). However, A16 and A32 treatments showed values of DFP similar to those reported by Volek and Marounek (2011) in Hyplus rabbits slaughtered at 75 days of age. The higher values of DFP due to the inclusion of *A. dubius* could be related to the higher lipids content in the composition of A16 and A32 diets (table 4). In this regard, Fernández and Fraga (1996) and Pla

(1999) report that the addition of fat in the diets increases fat deposits in rabbits. High values of DFP may also be, in part, related to the relatively late slaughter age of the animals, because adipose tissue, with positive allometry, displays a late growth pattern (Cantier *et al.*, 1969), so rabbits with a higher degree of maturity, generally have a higher fat percentage (Parigi-Bini *et al.*, 1992; Lebas *et al.*, 2001; Pascual and Pla, 2007).

Drip loss percentage indicates the loss of moisture during the chilling period and is a parameter important in determining carcass quality (Ortiz-Hernández and Rubio-Lozano, 2001). In our study, the inclusion of amaranth in the diet increased the DLP ($P < 0.05$). The values of DLP in A16 and A32 diets were higher than those reported by Eiben *et al.* (2010) in rabbits fed with diets including different levels of sunflower and linseed oil and slaughtered at a similar age to ours.

The inclusion of *A. dubius* did not influence HP. This is in agreement with studies in rabbits fed with different diets (Al-Dobaib, 2010; Eiben *et al.*, 2010; Peiretti and Meineri, 2011; Bovera *et al.*, 2012). In our trial, the HP values were higher than those found in other works (Piles *et al.*, 2000; Pascual *et al.*, 2004; Pascual and Pla, 2007), differences that may be due to differences in slaughtering ages or breeds used (Cantier *et al.*, 1969; Deltoro and Lopez, 1985; Hernández *et al.*, 2006).

The comparisons of proportion of organs (LHP, LvP, KiP, HeP and LuP) and carcass cuts (FLP, TP, LP and HPP) with the results of similar researches are complicated, because several authors (Metzger *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2006; Hassan *et al.*, 2011; Bovera *et al.*, 2012; Daszkiewicz *et al.*, 2012; El-Adawy *et al.*, 2012) calculate these parameters

differently. However, we have followed the World Rabbit Science Association guidelines, that recommend calculating the proportion of organs with respect to CCW, and carcass cuts with respect to RCW (Blasco and Ouhayoun, 1996). The percentages of organs (LHP, LvP, KiP, HeP and LuP) in this trial were not affected by the treatments, in agreement to that observed in several trials of experimental diets for fattening rabbits (Peiretti and Meineri, 2008; Eiben *et al.*, 2010; Peiretti and Meineri, 2011; Rotolo *et al.*, 2013). In the present study, the values of LHP, LvP and KiP in relation to CCW were similar to that reported by Villalobos *et al.* (2008); in contrast, these were lower than that reported by Daszkiewicz *et al.* (2012) in New Zealand White rabbits, in both cases slaughtered at similar ages, and by Hernández *et al.* (2006) for rabbits of three lines selected for litter size or growth rate.

The inclusion of amaranth in the diet increased the TP, a piece that is the least valuable part of the rabbit carcass due to its high bone content (Pla *et al.*, 1996). It has been reported that the value of TP can be affected by slaughter age and breed (Deltoro and Lopez, 1985; Pla *et al.*, 1996; Pla *et al.*, 1998). On the other hand, HPP decreased with the inclusion of amaranth in the diet, something that would affect the commercial value of carcass, because the hind part and the loin are the most valuable cuts in the rabbit carcass (Hernández *et al.*, 1996; Pla *et al.*, 1996; Szendrő *et al.*, 2012). This is inconsistent with other studies showing that HPP is not affected by feeding with diets that include unconventional vegetables (Eiben *et al.*, 2010; Peiretti and Meineri, 2011; Trocino *et al.*, 2013). The effect of diet observed in HPP and TP could be related to the fact that the low growth rate in rabbits, as shown by the animals in this study, affects

the development of specific tissues (Ouhayoun, 1998). It is relevant, however, that, although in our trial the slaughter weight (mean 1,883 g) was low, the values of LP and HPP showed excellent performance with respect to the carcass, these being even higher than those reported by Pascual and Pla (2007) and Paci *et al.* (2013) for growing rabbits with average slaughter weights of 2,000 g and 2,513 g, respectively. In the same vein, HPP values were similar to that reported by Metzger *et al.* (2003) and Maj *et al.* (2009) in New Zealand White rabbits. These data are interesting, because the loin and hind part are the most valuable cuts in the rabbit carcass (Hernández *et al.*, 2004).

According to M/B values in the hind leg, as a good predictor of the meat to bone ratio of the whole carcass (Hernández *et al.*, 1996), it was demonstrated a good meat yield, independently of the amaranth inclusion rate in the diet. These values were higher than the reported by Hernández *et al.* (2004), Pascual and Pla (2007), Volek and Marounek (2011), Paci *et al.* (2013) and Capra *et al.* (2013). With respect to L/LCL value, the inclusion of amaranth in the diet increases the slenderness of the carcass because of its greater total length, this consequently leading to poorer carcass conformation. In fact, compactness of the carcass in this study was lower than in other works (Pla, 2008). This is an atypical result because in rabbits fed balanced diets this parameter is generally affected only by the genotype, rearing system and management (Pla *et al.*, 1996; Pla, 2008; Villalobos *et al.*, 2008).

Meat quality

This is the first research that investigates the meat quality of growing rabbits fed *A. dubius*.

The pH of rabbit meat can be affected by many factors, such as genetic type, feeding, housing conditions during fattening, carcass cooling rate and the pre-slaughter handling (Dal Bosco *et al.*, 2000; 2002; María *et al.*, 2006; González-Redondo *et al.*, 2010; Sabuncuoglu *et al.*, 2011). The pH_{24h} *Ld* values found in the present study were lower than those reported by Lambertini *et al.* (2004), María *et al.* (2006), Maj *et al.* (2008), Daszkiewicz *et al.* (2012) and Capra *et al.* (2013) in meat breeds. On the other hand, the pH_{24h} *Bf* was also lower than that reported by Barròn *et al.* (2004), Dalle Zotte *et al.* (2008) and Sabuncuoglu *et al.* (2011). The *Biceps femoris* muscle presented pH_{24h} values higher than that of *Longissimus dorsi* muscle, which was consistent with that reported by Barròn *et al.* (2004), who found differences in the metabolic potential of both tissues according to its function and fiber type composition. The first one has a low glycolytic potential, and therefore a higher pH (Hulot and Ouhayoun, 1999). Dalle Zotte and Ouhayoun (1995) and Dalle Zotte *et al.* (1996) found that pH decreased with age in rabbits ranging from 56 to 84 or 55 to 87 days old, respectively. This fact could explain the low pH values observed in the present study compared to other authors. However, these values are yet within the range considered normal in rabbit meat (reviewed in Hulot and Ouhayoun, 1999). Moreover, the inclusion of *A. dubius* in the feed, at least up to a 32% DM, did not alter pH of rabbit meat.

Percentage of released water observed in this study was much lower than that reported for different breeds of meat rabbits by other authors (Hernández *et al.*, 2004; 2006; Ramírez *et al.*, 2004; Ariño *et al.*, 2006; Pascual and Pla, 2007) using the same press method than us. This indicates that meat obtained from rabbits fed diets with amaranth, independently of the inclusion level, had a high water-holding capacity, which is related with better sensory characteristics of the meat (Capozzi *et al.*, 1999; Carrilho *et al.*, 2009).

Regarding the proximal composition, it is noted that moisture and CP contents of the meat in the three treatments were similar to the values reported in diverse rabbit breeds (Metzger *et al.*, 2003; Daszkiewicz *et al.*, 2012; Matics *et al.*, 2014; Paci *et al.*, 2013). Conversely, ash content was lower in these same studies than in our trial. On the other hand, the fat content was higher than that reported by Bovera *et al.* (2012), Liu *et al.* (2012), Paci *et al.* (2013) and Matics *et al.* (2014); by contrast, it was lower than that reported by Peiretti *et al.* (2011).

The proximal composition of the meat can be considered excellent and was improved by the inclusion of *A. dubius* in the diets. Thus, higher moisture values corresponded to A0 treatment, while crude protein was higher in A16 and A32 diets including *A. dubius*. The higher ash content corresponded to the A16 treatment, while the higher fat content was observed in the A32 treatment. Al-Dobaib *et al.* (2010) showed that the replacement in the diets of conventional raw materials (alfalfa hay, barley and wheat bran) by unconventional ones (corn grain, soybean, molasses, and limestone), affect the content of moisture, CP and EE in rabbit meat.

On the other hand, Nuhu (2010) showed that diets for rabbits that included *Moringa oleifera* (up to 20%) do not affect the moisture content of meat; on the contrary, it increase linearly the protein content, while the fat content decreases. On the contrary, Castellini and Battaglini (1992) found no differences in the composition of rabbit meat with different feeding plans.

It may be noted that this trial was carried out at ambient conditions within the range that can be considered to produce thermal stress to rabbit (Cheeke, 1987; NRC, 1996), which could affect carcass characteristics and meat quality for their effects on the biochemical profile of rabbits (Chiericato *et al.*, 1994; Marai *et al.*, 2002; Cervera and Fernández-Carmona, 2010; Zeferino *et al.*, 2011, 2013).

CONCLUSIONS

Amaranthus dubius can be used to replace conventional ingredients in diets for rabbits at levels of 16 to 32%, without impacting negatively the major quality carcass characteristics or the meat quality. The inclusion of amaranth in the diet of rabbits reduced the carcass compactness, increased drip loss percentage and fat content in the carcass, and improved the protein and fat contents of meat. Further experiments are necessary; however, to determine the maximum inclusion rate for this raw material in balanced feeds to reach optimum carcass and meat quality.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico of the Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) for the economic support for this Project (Number CC-0680-10), Dr. Pilar Hernández for his

advice on some aspects of the technological division of the carcass and the company Tolsa Group (Madrid, Spain) for donating the sepiolite used in the feed formulation.

REFERENCES

- Acevedo I., García O., Acevedo I., Perdomo C., 2007. Valor nutritivo de bleado (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Agrollanía* 4, 77-93.
- Akoutey A., Kpodekon M.T., Bannelier C., Gidenne T., 2012. Nutritive value of sun-dried *Pueraria phaseoloides* for rabbits under tropical conditions. *World Rabbit Science* 20, 209-213.
- Al-Dobaib S.N., 2010. Effect of diets on growth, digestibility, carcass and meat quality characteristics of four rabbit breeds. *Saudi Journal of Biological Science* 17, 83-93.
- Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E.K., Gallagher E., 2010. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry* 119, 770-778.
- Amin M.R., Taleb M.A., Rahim J., 2011. Rabbit farming: A potential approach towards rural poverty alleviation. *Research on Humanities Social Science* 1, 7-10.
- AOAC, 2004. Official Methods of Analysis. 17th Edition. Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA (USA).
- AOAC, 2005. Official methods of Analysis. 18th Edition. Association of Official Analytical Chemists International, Maryland (USA).
- Arellano M., Albarracin G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Phyton* 1, 193-197.
- Ariño B., Hernández P., Blasco A., 2006. Comparison of texture and biochemical characteristics of three rabbit lines selected for litter size or growth rate. *Meat Science* 73, 687-692.
- Bamikole M.A., Ezenwa I., Adewumi M.K., Omojola A.B., Aken'ona M.E., Babayemi O.J., Olufosoye O.F., 2000. Alternative feed resources for formulating concentrate diets of rabbits. 2. Jack bean (*Canavalia ensiformis*) seeds. *World Rabbit Science* 8, 131-136.
- Barba de la Rosa A.P., Fomsgaard I.S., Laursen B., Mortensen A.G., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera A., González-Castañeda J., De León-Rodríguez A., 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal Cereal Science* 49, 117-121.
- Barrón G., Rosas G., Sandoval Ch., Bonilla O., Reyes G., Rico P., Cardona L., Zamora F., 2004. Effect of genotype and sex on pH of *Biceps femoris* and *Longissimus dorsi* muscles in rabbit carcasses. In: Proc 8th World Rabbit Congress, Puebla, México. pp.1349-1353.

- Bielanski P., Kowalska D., Pankowski P., 2008. Possibility of using the native breed of popielno white rabbits for meat production. In: Proc 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy. pp. 1515-1518.
- Blasco A., Ouhayoun J., 1996. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. World Rabbit Science 4, 93-99.
- Bovera F., Di Meo C., Marono S., Vella N., Nizza A., 2008. Feed restriction during summer: Effect on rabbit growth performance. In: Proc 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy. pp. 567-571.
- Bovera F., Lestingi A., Iannaccone F., Tateo A., Nizza A., 2012. Use of dietary mannanoligosaccharides during rabbit fattening period: Effects on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass traits, and meat quality. Journal of Animal Science 90, 3858-3866.
- Cantier J., Vezinhet A., Rouvier R., Dauzier L., 1969. Allométrie de croissance chez le lapin (*Oryctolagus cuniculus*). 1.- Principaux organes et tissus. Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique 9, 5-39.
- Capozzi F., Cavani C., Luzzi F., Maertens L., 1999. Suitability of low resolution nuclear magnetic resonance to assess water holding capacity of rabbit meat. Options Méditerranéennes 41, 99-102.
- Capra G., Martínez R., Fradiletti F., Cozzano S., Repiso L., Márquez R., Ibáñez F., 2013. Meat quality of rabbits reared with two different feeding strategies: with or without fresh alfalfa *ad libitum*. World Rabbit Science 21, 23-32.
- Carmona W., 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. Revista de Facultad de Agronomía (LUZ). 24, 190-195.
- Carrilho M.C., Campo M.M., Olleta J.L., Beltrán J.A., López M., 2009. Effect of diet, slaughter weight and sex on instrumental and sensory meat characteristics in rabbits. Meat science 82, 37-43.
- Castellini C., Battaglini M., 1992. Prestazioni produttive e qualità della carne di coniglio: influenza della concentrazione energetica della dieta e del sesso. Zootecnia e Nutrizione Animale 18, 251-258.
- Cervera C., Fernández-Carmona J., 2010. Nutrition and the climatic environment. In: Nutrition of the rabbit. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, Wallingford (UK). pp. 267-284.
- Cheeke P.R., 1987. Digestive physiology. In: Rabbit feeding and nutrition. Academic Press, San Diego (USA). pp. 20-32.
- Cheeke P.R., Patton N.M., Lukefahr S.D., McNitt J.L., 1987. Rabbit Production. 6th edition. Interstate Printers and Publishers, Inc., Danville-IL, USA. pp. 472.
- Chiericato G.M., Ravarotto L., Rizzi C., 1994. Study of the metabolic profile of rabbits in relation to two different environmental temperatures. World Rabbit Science 2, 153-160.
- Chiericato G.M., Rizzi C., Rostellato V., 1996. Growth and slaughtering performance of three rabbit genotypes under different environmental conditions. Annales of Zootechnia 45, 311-318.
- Colin M., Lebas F., 1996. Rabbit meat production in the world. A proposal for every country. In: Proc 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France. pp. 323-330.

- Dalle Zotte A., 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science* 75, 11-32.
- Dalle Zotte A., Ouhayoun J., 1995. Post-weaning evolution of muscle energy metabolism and related physicochemical traits in the rabbit. *Meat Science* 39, 395-401.
- Dalle Zotte A., Ouhayoun J., Parigi Bini R., Xiccato G., 1996. Effect of age, diet and sex on muscle energy metabolism and on related physicochemical traits in the rabbit. *Meat science* 43, 15-24.
- Dalle Zotte A., Princz Z., Matics Zs., Gerencsér Zs., Metzger Sz., Szendrő Zs., 2008. Rabbits' preference for cages and pens with or without mirror. In: *Proc 9th World Rabbit Congress*. Verona, Italy. pp. 1165-1169.
- Dal Bosco A., Castellini C., Bernardini M., 2000. Productive performance and carcass and meat characteristics of cage- or pen-raised rabbits. *World Rabbit Science* 8, 579-583.
- Dal Bosco A., Castellini C., Mugnai C., 2002. Rearing rabbits on a wire net floor or straw litter: Behaviour, growth and meat quality traits. *Livestock Production Science* 75, 149-156.
- Dal Bosco A., Mourvaki E., Cardinali R., Servili M., Sebastiani B., Ruggeri S., Mattioli S., Taticchi A., Esposto S., Castellini C., 2012. Effect of dietary supplementation with olive pomaces on the performance and meat quality of growing rabbits. *Meat Science* 92, 783-788.
- Daszkiewicz T., Gugolek A., Janiszewski P., Kubiak D., Czoik M., 2012. The effect of intensive and extensive production systems on carcass quality in New Zealand White rabbits. *World Rabbit Science* 20, 25-32.
- De Blas C., Mateos G.G., 2010. Feed formulation. In: *Nutrition of the rabbit*, 2nd Edition. De Blas C.; Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 222-232.
- Deltoro J., Lopez A.M., 1985. Allometric changes during growth in rabbits. *Journal of Agricultural Science* 105, 339-346.
- EGRAN, 2001. Technical note: Attempts to harmonize chemical analyses of feeds and faeces, for rabbit feed evaluation. *World Rabbit Science* 9, 57-64.
- Eiben C., Végi B., Virág G., Gódor-Surmann K., Maró A., Odermatt M., Zsedely E., Tóth T., Schmidt J., 2010. Effect of different dietary ratios of sunflower and linseed oils on growth and carcass traits of rabbits. *Livestock Science* 131, 15-22.
- El-Adawy M.M., Mohsen M.K., Salem A.Z.M., Mariezcurrena B.M.A., El-Santiel G.S., Dakron M.Z., 2012. Growth performance and carcass composition of rabbits fed on diets of gradual levels of barley grain. *Trop Subtrop Agroecosyst* 15, 207-215.
- Fatufe A.A., Matanmi I.O., Alalade A., 2010. Performance and carcass characteristics of growing rabbits fed bacterial protein meal. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 10, 2413-2426.
- Fekete S., Gippert T., 1986. Digestibility and nutritive value of nineteen important rabbit feedstuffs. *Journal of Applied Rabbit Research* 9, 103-108.
- Fernández C., Fraga M.J., 1996. The effect of dietary fat inclusion on growth, carcass characteristics, and chemical composition of rabbits. *Journal of Animal Science* 74, 2088-2094.

- Fernández-Carmona J., Blas E., Pascual J.J., Maertens L., Gidenne T., Xiccato G., García J., 2005. Recommendations and guidelines for applied nutrition experiments in rabbits. *World Rabbit Science* 13, 209-228.
- Fielding D., 1991. Rabbits. The tropical agriculturist Series. CTA Macmillan Education Ltd, Macmillan Publishers, London, UK. pp.106.
- Gidenne T., Lebas F., 2006. Feeding behaviour in rabbits. In: Feeding in domestic vertebrates: from structure to behavior. Bels C.V. (Ed.). CABI publishing, Wallingford, UK. pp. 179-209.
- González-Redondo P., Horcada A., Valera M., Aldea M.J., 2010. Water holding capacity and pH from the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus algirus*) hunted specimens. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9, 1560-1564.
- Grau R., Hamm R., 1957. Über das wasserbindungsvermögen des säugetiermuskels II Mitt. Über die bestimmung der wasserbindung des muskels. *Z Lebensm Unters For* 105, 446-460.
- Guemour D., Bannelier C., Dellal A., Gidenne T., 2010. Nutritive value of sun-dried grape pomace, incorporated at a low level in complete feed for the rabbit bred under Magrebian conditions. *World Rabbit Science* 18, 17-25.
- Hassan R.A., Ebeid T.A., Abd El-Lateif A.I., Ismail N.B., 2011. Effect of dietary betaine supplementation on growth, carcass and immunity of New Zealand White rabbits under high ambient temperature. *Livestock Science* 135, 103-109.
- Hernández P., Aliaga S., Pla M., Blasco A., 2004. The effect of selection for growth rate and slaughter age on carcass composition and meat quality traits in rabbits. *Journal of Animal Science* 82, 3138-3143.
- Hernández P., Ariño B., Grimal A., Blasco A., 2006. Comparison of carcass and meat characteristics of three rabbit lines selected for litter size or growth rate. *Meat Science* 73, 645-650.
- Hernández P., Pla M., Blasco A., 1996. Prediction of carcass composition in the rabbit. *Meat science* 44, 75-83.
- Hulot F., Ouhayoun J., 1999. Muscular and pH related traits in rabbits: a review. *World Rabbit Science* 7, 15-36.
- Kadi S.A., Guermah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T., 2011. Nutritive value of sun-dried sulla hay (*Hedysarum flexuosum*) and its effect on performance and carcass characteristics of growing rabbits. *World Rabbit Science* 19, 151-159.
- Kowalska D., Bielański P., 2009. Meat quality of rabbits fed a diet supplemented with fish oil and antioxidant. *Animal Science Papers and Reports* 27, 139-148.
- Lambertini L., Vignola G., Beone G.M., Zaghini G., Formigoni A., 2004. Effects of chromium yeast supplementation on growth performances and meat quality in rabbits. *World Rabbit Science* 12, 33-47.
- Lebas F., Retailliau B., Hurtaud J., 2001. Évolution de quelques caractéristiques bouchères et de la composition corporelle de 2 lignées de lapins, entre 6 et 20 semaines d'âge. In: Proc 9èmes Journées de la Recherche Cunicole. Paris, France. pp. 55-58.
- Liu H., Zhou D., Tong J., Vaddella V., 2012. Influence of chestnut tannins on welfare, carcass characteristics, meat quality, and lipid oxidation in rabbits under high ambient temperature. *Meat Science* 90, 164-169.

- Maj D., Bieniek J., Łapa P., 2008. Jakość mięsa królików rasy białej nowozelandzkiej i kalifornijskiej oraz ich mieszańców. *Medycyna Weterynaryjna* 64, 351-353.
- Maj D., Bieniek J., Łapa P., Sternstein I., 2009. The effect of crossing New Zealand White with Californian rabbits on growth and slaughter traits. *Archiv Fur Tierzucht-Archives of Animal Breeding* 52, 205-211.
- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M., Gad A.E., 2002. Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science* 78, 71-90.
- María G.A., Buil T., Liste G., Villarroel M., Sañudo C., Olleta J.L., 2006. Effects of transport time and season on aspects of rabbit meat quality. *Meat science* 72, 773-777.
- Martínez M., Biglia S., Moya V.J., Blas E., Cervera C., 2006. Nutritive value of dehydrated whole maize plant and its effect on performance and carcass characteristics of rabbits. *World Rabbit Science* 14, 15-21.
- Matics Zs., Szendrő Zs., Odermatt M., Gerencsér Zs., Nagy I., Radnai I., Dalle-Zotte A., 2014. Effect of housing conditions on production, carcass and meat quality traits of growing rabbits. *Meat Science* 96, 41-46.
- Matteucci S.D., Pla L., Colma A., 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16, 356-370.
- McLean-Meynsse P.E., Hui J., Meynsse J., 1994. Consumer perceptions of, and attitudes toward, rabbit meat. *Journal Agribusiness* 12, 55-67.
- Metzger Sz., Kustos K., Szendrő Zs., Szabó A., Eiben Cs., Nagy I., 2003. The effect of housing system on carcass traits and meat quality of rabbit. *World Rabbit Science* 11, 1-11.
- Metzger Sz., Odermatt M., Szabó A., Radnai I., Biró-Németh E., Nagy I., Szendrő Zs., 2011. Effect of age and body weight on carcass traits and meat composition of rabbits. *Archiv Fur Tierzucht-Archives of Animal Breeding* 54, 406-418.
- Metzger Sz., Odermatt M., Szendrő Zs., Mohaupt M., Romvári R., Makai A., Biró-Németh E., Sipos L., Radnai I., Horn P., 2006. A study of the carcass traits of different rabbit genotypes. *World Rabbit Science* 14, 107-114.
- Molina E., González-Redondo P., Montero K., Ferrer R., Moreno-Rojas R., Sánchez-Urdaneta A., 2011. Efecto de la época de recolección y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36, 386-391.
- Montero-Quintero K., Moreno-Rojas R., Molina E., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28, 619-627.
- Nama-Medoua G., Oldewage-Theron W.H., 2011. Effect of drying and cooking on nutritional value and antioxidant capacity of morogo (*Amaranthus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. *Journal of Food Science and Technology* 46, 6981-6987.

- Nieves D., Schargel I., Terán O., González C., Silva L., Ly J., 2008. Estudios de procesos digestivos en conejos de engorde alimentados con dietas basadas en follajes tropicales. Digestibilidad fecal. Revista Científica FCV-LUZ, 18, 271-277.
- Njidda A.A., Isidahomen C.E., 2011. Hematological parameters and carcass characteristics of weanling rabbits fed sesame seed meal (*Sesamum indicum*) in a semi-arid region. Pakistan Veterinary Journal 31, 35-39.
- Nouel G., Espejo M., Sánchez R., Hevia P., Alvarado H., Brea A., Romero Y., Mejías G., 2003. Consumo y digestibilidad de bloques multinutricionales para conejos, compuestos por tres forrajeras del semiárido comparadas con soya perenne. Bioagro 15, 23-30.
- NRC, 1996. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. 7th ed, National Academy Press, Washington, DC (USA).
- Nuhu F., 2010. Effect of moringa leaf meal (MOLM) on nutrient digestibility, growth, carcass and blood indices of weaner rabbits. MSc Thesis. Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi, Ghana. pp. 122.
- Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H., 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. Journal of Food Composition and Analysis 20, 430-435.
- Ogunsipe M.H., Agbede O.J., 2012. Effect of millet offal-based diets on performance, carcass cuts and haematological profile of growing rabbits. African Journal of Food Science 6, 280-286.
- Olivares E., Peña E., 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. Interciencia 34, 604-611.
- Onifade A.A., Tewe O.O, 1993. Alternative tropical energy feed resources in rabbit diets: Growth performance, diet's digestibility and blood composition. World Rabbit Science 1, 17-24.
- Ortiz-Hernández J.A., Rubio-Lozano M.S., 2001. Effect of breed and sex on rabbit carcass yield and meat quality. World Rabbit Science 9, 51-56.
- Oso A.O., Oso O., Bamgbose A.M., Eruvbetine D., 2010. Utilization of unpeeled cassava (*Manihot esculenta*) root meal in diets of weaner rabbits. Livestock Science 127, 192-196.
- Ouhayoun J., 1998. Influence of the diet on rabbit meat quality. In: The nutrition of the rabbit. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CAB International, Wallingford (UK). pp: 177-195.
- Ouhayoun J., Dalle Zotte A., 1996. Harmonization of muscle and meat criteria in rabbit meat research. World Rabbit Science 4, 211-218.
- Paci G., Preziuso G., D'Agata M., Russo C., DalleZotte A., 2013. Effect of stocking density and group size on growth performance, carcass traits and meat quality of outdoor-reared rabbits. Meat science 93, 162-166.
- Parigi-Bini R., Xiccato G., Cinetto M., Dalle Zotte A., 1992. Effect of slaughter age and weight on carcass and meat quality of the commercial rabbit. Journal of Applied Rabbit Research 15, 819-826.

- Pascual M., Aliaga S., Pla M., 2004. Effect of selection for growth rate on carcass and meat composition in rabbits. Proc 8th World Rabbit Congress, Puebla ,México. pp. 1435-1440.
- Pascual M., Pla M., 2007. Changes in carcass composition and meat quality when selecting rabbits for growth rate. Meat science 77, 474-481.
- Peiretti P.G., Meineri G., 2011. Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of growing rabbits. Livestock Science 140, 218-224.
- Peiretti P.G., Meineri G., 2008. Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. Meat Science 80, 1116-1121.
- Peiretti P.G., Masoero G., Meineri G., 2011. Effects of replacing palm oil with maize oil and *Curcuma longa* supplementation on the performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of the perirenal fat and muscle of growing rabbits. Animal 5, 795-801.
- Piles M., Blasco A., Pla M., 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. Meat Science 54, 347-355.
- Písaříková B., Peterka J., Trčková M., Moudrý J., Zralý Z., Herzig L., 2006. Chemical composition of the above-ground biomass of *Amaranthus cruentus* and *A. hypochondriacus*. Acta Veterinaria Brno 75, 133-138.
- Pla M., 1999. Carcass and meat quality of growing rabbits under high ambient temperature using high fat diets. Options Méditerranéennes 41, 93-98.
- Pla M., 2008. A comparison of the carcass traits and meat quality of conventionally and organically produced rabbits. Livestock Science 115, 1-12.
- Pla M., Guerrero L., Guardia D., Oliver M.A., Blasco A., 1998. Carcass characteristics and meat quality of rabbit lines selected for different objectives: I. Between lines comparison. Livestock Production Science 54, 115-123.
- Pla M., Hernández P., Blasco A., 1996. Carcass composition and meat characteristics of two rabbit breeds of different degrees of maturity. Meat science 44, 85-92.
- Ramírez J.A., Oliver M.A., Pla M., Guerrero L., Ariño B., Blasco A., Pascual M., Gil M., 2004. Effect of selection for growth rate on biochemical, quality and texture characteristics of meat from rabbits. Meat Science 67, 617-624.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Peña J., Kallio H., Salminen S., 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Journal Cereal Science 49, 219-224.
- Rotolo L., Gai F., Nicola S., Zoccarato I., Brugiapaglia A., Gasco L., 2013. Dietary supplementation of oregano and sage dried leaves on performances and meat quality of rabbits. Journal of Integrative Agriculture 12, 1937-1945.
- Sabuncuoglu N., Coban O., Lacin E., Ceylan Z.G., Ozdemir D., Ozkan A., 2011. Effect of pre-slaughter environment on some physiological parameters and meat quality in New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). Tropical Animal Health and Production 43, 515-519.
- SAS, 2013. SAS user's guide: Statistics. Version 9.1.3. Statistical Analysis Systems Institute, Inc, Cary, NC. USA.

- Sleugh B.B., Moore K.J., Brummer E.C., Knapp A.D., Russell J., Gibson L., 2001. Forage nutritive value of various amaranth species at different harvest dates. *Crop Science* 41, 466-472.
- Szendrő K., Metzger S., Odermatt M., Radnai I., Garai E., Horn P., Szendrő Z., 2012. Effect of age and weight of rabbits at slaughter on carcass value. *Acta Agriculturae Slovenica* 3, 333-337.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Tazzoli M., Radaelli G., Xiccato G., 2013. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: Effects on digestive efficiency and productive traits. *Anim Feed Science and Technology* 180, 73-82.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.
- Villalobos O., Guillén O., García J., 2008. Effect of cage density on growth and carcass performance of fattening rabbits under tropical heat stress conditions. *World Rabbit Science* 16, 89-97.
- Volek Z., Marounek M., 2011. Dried chicory root (*Cichorium intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet: effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits. *World Rabbit Science* 19, 143-150.
- Xiccato G., 1999. Feeding and meat quality in rabbits: a review. *World Rabbit Science* 7, 75-86.
- Zeferino C.P., Komiyama C.M., Fernandes S., Sartori J.R., Teixeira P.S., Moura A.S.A.M.T., 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7, 518-523.
- Zeferino C.P., Moura A.S.A.M.T., Fernandes S., Kanayama J.S., Scapinello C., Sartori J.R., 2011. Genetic group × ambient temperature interaction effects on physiological responses and growth performance of rabbits. *Livestock Science* 140, 177-183.
- Zralý Z., Písaříková B., Hudcová H., Trčková M., Herzig I., 2004. Effect of feeding amaranth on growth efficiency and health of market pigs. *Acta Veterinaria Brno* 73, 437-444.

Table 1. Ingredient composition of the experimental diets.

Ingredient, % DM	Experimental diets		
	A0	A16	A32
<i>Amaranthus dubius</i>	0	16	32
Corn	9.60	6.04	3.06
Soybean	11.06	9.50	10.70
Wheat bran	40.60	34.98	24.33
<i>Panicum maximum</i> Straw	16.32	4.77	1.19
Palm kernel	11.90	15.40	11.06
Soybean oil	1.28	6.31	12.46
Cane molasses	5.74	3.50	1.70
Sodium chloride	1.00	1.00	1.00
Sepiolite ¹	1.50	1.50	1.50
Vitamin-mineral premix ²	1.00	1.00	1.00

¹Exal H[®]; provided by TOLSA GROUP (Madrid, Spain). ²Tecnovit Conejos Único[®]; provided by Tecnología and Vitaminas, S.L. (Tarragona, Spain). Mineral and vitamins composition (g kg⁻¹ premix): Fe: 10, I: 0.2, Co: 0.02, Cu: 3, Mn: 10, Zn: 12, Se: 0.02, Vitamin E: 3.2, Vitamin B₁: 0.2, Vitamin B₂: 0.6, Vitamin B₆: 0.2, Vitamin B₁₂: 0.002, Calcium d-pantothenate: 2, Nicotinic acid: 4.4, Choline chloride: 10, Vitamin A: 1,800,000 IU, Vitamin D₃: 300,000 IU.

Table 2. Chemical composition of *Amaranthus dubius* (whole plant) and of the experimental diets.

	<i>A. dubius</i>	Experimental diets ¹		
	(Whole plant)	A0	A16	A32
Chemical composition, g·kg⁻¹ DM				
Dry Matter (DM)	933.7	909.2	892.8	917.0
Crude Protein (CP)	209.4	159.0	153.9	150.7
Ether Extract (EE)	13.1	2.03	3.59	4.59
Ash	203.6	70.6	71.2	72.7
Crude Fiber (CF)	199.1	157.3	149.0	161.7
Neutral detergent fiber (NDF)	398.0	346.8	337.2	307.0
Acid detergent fiber (ADF)	288.0	204.2	202.8	234.2
Acid detergent lignin (ADL)	47.4	101.0	120.5	90.2
Digestible Energy ² (DE), MJ·kg ⁻¹ DM	5.33	12.27	12.35	12.11

¹A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*. ²DE was calculated according to Fekete and Gippert (1986) as: DE (kcal kg⁻¹ DM) = 4253 - 32.6 × Crude fiber (% DM) - 144.4 × Ash (% DM); it was subsequently transformed to MJ kg⁻¹ DM.

Table 3. Effect of experimental diets on carcass characteristics of rabbits at 87 days of age.

	Experimental diets ¹			RMSE ²	P-value
	A0	A16	A32		
Weights and measures					
LW87d (g)	1922.61	1855.97	1871.14	153.1330	0.125
HCW (g)	1141.72	1081.41	1108.95	123.4330	0.090
CCW (g)	1113.62 ^a	1040.77 ^b	1068.7 ^{ab}	120.5343	0.028
RCW (g)	921.82	875.18	902.11	108.7741	0.155
L (mm)	368.00 ^b	368.37 ^b	379.49 ^a	16.52724	0.007
LCL (mm)	155.39	152.46	153.17	10.52802	0.374
L/LCL	2.38 ^b	2.42 ^{ab}	2.48 ^a	0.1404	0.009
M/B	7.23	6.71	6.99	1.0833	0.157
Proportion in LW87d, %					
DoP	57.83 ^a	55.84 ^b	56.92 ^{ab}	2.9167	0.013
BeP	2.83	2.73	2.82	0.3537	0.504
CSkP	12.34	11.99	12.20	1.0792	0.389
FGTP	20.65	22.25	20.86	2.8323	0.353
Proportion in HCW, %					
DLP	2.47 ^b	3.83 ^a	3.61 ^a	1.3114	<0.001
Proportion in CCW, %					
HP	10.18	10.15	10.04	0.8045	0.803
LHP	2.05	2.13	2.21	0.3379	0.169
LvP	4.27	4.47	4.21	0.6023	0.191
KiP	1.19	0.99	1.05	0.7747	0.544
HeP	0.42	0.42	0.42	0.0528	0.773
LuP	0.69	0.69	0.66	0.1215	0.585
Proportion in RCW, %					
DFP	3.02 ^b	3.63 ^a	3.77 ^a	0.7891	<0.001
FLP	15.25	15.51	15.61	1.2737	0.455
TP	12.97 ^b	13.68 ^a	13.68 ^a	1.1692	0.018
LP	28.73	28.29	28.22	2.0469	0.501
HPP	40.00 ^a	38.95 ^b	38.89 ^b	1.8228	0.023

¹A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*. ²RMSE: root mean square error (35-36 rabbits per treatment).

LW87d: Live weight at 87d; HCW: Hot carcass weight; CCW: Chilled carcass weight; RCW: Reference carcass weight; L: Total carcass length; LCL: Lumbar circumference length; L/LCL: Length/circumference ratio; M/B: meat/bone ratio; DoP: Dressing out percentage; BeP: Blood ejected percentage; CSkP: Commercial Skin percentage; FGTP: Full gastrointestinal tract percentage; DLP: Drip loss percentage; HP: Head percentage; LHP: Set of organs consisting of thymus, trachea, esophagus, lung and heart percentage; LvP: Liver percentage; KiP: Kidneys percentage; HeP: Heart percentage; LuP: Lung percentage; DFP: Dissectible fat percentage; FLP: Fore legs percentage; TP: Thoracic cage percentage; LP: Loin percentage; HPP: Hind part percentage.

Table 4. Effect of experimental diets on meat quality of rabbits at 87 days of age.

	Experimental diets ¹			RMSE ²	P-value
	A0	A16	A32		
pH _{24h} Ld	5.43	5.47	5.49	0.066	0.053
pH _{24h} Bf	5.72	5.80	5.81	0.105	0.050
PRW (%)	16.95	17.89	17.91	3.583	0.507
Proximal composition (%)					
Moisture	74.23 ^a	70.99 ^b	67.70 ^c	1.506	<0.001
Crude protein (CP)	21.52 ^b	23.76 ^a	24.27 ^a	1.012	0.002
Fat	3.33 ^b	4.16 ^b	5.39 ^a	0.696	0.002
Ash	0.89 ^b	1.10 ^a	0.97 ^b	0.079	0.004

¹A0, A16 and A32 diets include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*. ²RMSE: Root mean square error (n: 35-36 rabbits per treatment for pH_{24h} Ld, pH_{24h} Bf and PRW; and n: 6 rabbits per treatment for proximal composition).

pH_{24h} Ld: pH at 24h post-mortem (*Longissimus dorsi*).

pH_{24h} Bf: pH at 24h post-mortem (*Biceps femoris*).

PRW: percentage of released water.

Artículo V

Evaluation of hematological, biochemical and histopathological parameters of rabbits fed with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.



ARTÍCULO V

Evaluation of hematological, biochemical and histopathological parameters of rabbits fed with *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Enviado para arbitraje a la revista Animal.

Índice de Impacto de 1,648 y posición 9/54 (primer cuartil y primer tercil) en la categoría “Agriculture, Dairy and Animal Science” del Journal Citation Reports (Science Edition, año 2012)

E. Molina, P. González-Redondo, R. Moreno-Rojas, K. Montero-Quintero, N. Chirinos-Quintero and A.B. Sánchez-Urdaneta.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de tres niveles (0, 16 y 32 %) de inclusión de *Amaranthus dubius* en dietas isoproteicas e isocalóricas en los parámetros hematológicos, bioquímicos e histopatológicos de conejos de engorde. Ciento trece conejos Nueva Zelanda Blancos, en jaulas individuales, fueron divididos en tres grupos y asignados al azar a una de las tres dietas experimentales. Los conejos fueron alimentados *ad libitum* con las tres dietas desde el destete (35 d, promedio \pm DS de peso: 761,96 \pm 101,02 g) hasta 87 días de edad (promedio \pm DS de peso: 1883,24 \pm 183,17 g). El estado de salud de cada animal fue monitoreado y se registró mortalidad. Antes del sacrificio, treinta conejos (cinco machos y cinco hembras en cada dieta) fueron seleccionados al azar para los análisis hematológicos y bioquímicos, las muestras de sangre fueron tomadas de la arteria central de la oreja.

Durante el sacrificio, 18 conejos (tres machos y tres hembras en cada dieta) fueron seleccionados al azar para el estudio histopatológico de corazón, hígado, pulmón e intestino delgado. El estado de salud de los conejos fue favorable y no hubo diferencias entre los tratamientos en la mortalidad (en promedio 6,16%; $P > 0,05$). La dieta y el sexo no afectaron significativamente los valores de la mayoría de los parámetros hematológicos y bioquímicos. Los valores de fibrinógeno (FBN), glucosa (GLU) y las lipoproteínas de alta densidad (LAD) aumentaron significativamente desde la dieta A0 a la dieta A32 (FBN: 1500 a 1900 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, GLU: 5,79 a 6,35 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ y HDL: 20,96 a 28,94 $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$). Los valores de recuento de glóbulos blancos (RGB) y la transaminasa glutámico oxalacética (TGO) disminuyeron significativamente desde A0 a A32 (RGB: 4,98 a 3,82 $\times 10^9\cdot\text{L}^{-1}$ y TGO: 21,03 a 13,86 $\text{IU}\cdot\text{L}^{-1}$). Por otra parte, las bandas (BDS) fueron mayores en las hembras que en los machos (0,00 y 0,40%, respectivamente) y la proteína total (PT) fue mayor en los machos que en las hembras (48,88 y 45,07 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente). El análisis histopatológico de los órganos mostró tejidos histológicamente bien estructurados. Sin embargo, en todos los grupos experimentales se observaron varias muestras con lesiones, siempre muy focalizados en pequeñas áreas de tejido. Las principales lesiones observadas, y probablemente relacionados con las condiciones de estrés térmico que afectó a los conejos, fueron colesterosis (corazón), esteatosis (hígado), densa infiltración celular linfocítica peribronquial (pulmón) y daño tisular inflamatorio crónico (intestino delgado). En resumen, la inclusión de *A. dubius* hasta un 32% en la dieta no comprometió el estado de salud de los conejos de engorde, por lo tanto podría convertirse en una materia prima

alternativa para la formulación de los piensos en los países tropicales y subtropicales.

PALABRAS CLAVE

Amaranthus dubius, conejo, ingredientes de piensos, hematología, bioquímica sanguínea, histopatología.

SUMMARY

The aim in this study was to evaluate the effect of three levels (0, 16, and 32%) of *Amaranthus dubius* included in isoproteic and isocaloric diets on hematological, biochemical and histopathological parameters of fattening rabbits. One hundred and thirteen New Zealand White rabbits, individually caged, were divided in three groups and randomly assigned to one of the three experimental diets. Rabbits were fed *ad libitum* the three diets from weaning (35 d, mean±SD weight: 761.96±101.02 g) to 87 d of age (mean±SD weight: 1883.24±183.17 g). The individual health status of the animals was monitored and mortality was recorded. Before slaughtering, thirty rabbits (five males and five females in each diet) were randomly selected for hematological and biochemical analysis from blood samples taken from the central ear artery. During slaughter, eighteen rabbits (three males and three females in each diet) were randomly selected for histopathological study in heart, liver, lung and small intestine. The health status of rabbits was good and there were no differences between treatments in mortality (on average 6.16%; $P>0.05$). Diet and sex did not affect significantly the values of most hematological and biochemical parameters. The values of fibrinogen (FBN), glucose (GLU) and high-density lipoprotein (HDL) increased significantly from A0 to

A32 diets (FBN: 1500 to 1900 g·L⁻¹, GLU: 5.79 to 6.35 mmol·L⁻¹, and HDL: 20.96 to 28.94 mg·dL⁻¹). The values of white blood cell count (WBC) and glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) decreased significantly from A0 to A32 (WBC: 4.98 to 3.82x10⁹·L⁻¹ and GOT: 21.03 to 13.86 IU·L⁻¹). Moreover, bands (BDS) were higher in females than males (0.00 and 0.40%, respectively) and total protein (TP) was higher in males than females (48.88 and 45.07 g·L⁻¹, respectively). The histopathological analysis of organs showed tissues histologically well structured. However, in all experimental groups were observed several samples with lesions, always very focalized in small tissue areas. The main lesions observed, and probably related with conditions of thermal stress affecting the rabbits, were cholesterolosis (heart), steatosis (liver), dense peribronchial lymphocytic cellular infiltration (lung), and chronic inflammatory tissue damage (small intestine). In summary, the inclusion of *A. dubius* up 32% in diet did not jeopardize the health status of growing rabbits, thus becoming an alternative raw material for the formulation of feeds in tropical and subtropical countries.

KEYWORDS

Amaranthus dubius, rabbit, feed ingredients, hematology, serum biochemistry, histopathology.

IMPLICATIONS

Amaranthus dubius, for its nutritional composition and agronomic characteristics, could become an alternative raw material for the formulation and manufacturing of feeds for rabbits in tropical and subtropical countries, to replace conventional sources of fiber and protein

that are generally scarce and expensive. Thus, the use of *A. dubius* in feeds could reduce production cost and consequently increase rabbit production in these regions. As a part of the feed evaluation, the assessment of the health status of the animals is a priority in the feeding trials with non-conventional ingredients, which can be measured through blood analysis and histopathological evaluation.

INTRODUCTION

Rabbits have diverse advantages for meat production with respect to other livestock species, especially its short generation interval, high prolificacy, good mothering ability, easy management strategy, small space requirements for breeding and the possibility to use fodders, balanced feeds and by-products in their feeding (Lebas *et al.*, 1997). However, to achieve adequate returns is necessary to establish ideal housing conditions (Matics *et al.*, 2013) and provide balanced feeds in accordance with the nutritional requirements of the rabbit (De Blas and Mateos, 2010).

In tropical and subtropical countries, one of the major constraints to raising fattening rabbits at industrial scale is the high cost of commercial feed, due to the limited availability of raw materials in the market, which are generally imported and expensive (Kadi *et al.*, 2011; Alemede *et al.*, 2013). Therefore, alternatives are needed to formulate and produce balanced feeds by using local raw materials, better adapted to the environmental conditions of these countries, which overcome conventional raw materials in nutritional, agronomic and economic terms (Alemede *et al.*, 2013).

Amaranthus dubius is a plant belonging to the Amaranaceae family, genus *Amaranthus*, distributed in tropical and subtropical regions (Arellano *et al.*, 2004). The plant presents a high green matter yield, as well as excellent nutrients content and low proportion of antinutrients (Molina *et al.*, 2011; Montero-Quintero *et al.*, 2011). There are several reports of using *A. dubius* as a forage plant to feed pigs, sheep, goats, and cattle, among others (Sleugh *et al.*, 2001; Arellano *et al.*, 2004), but its use in feeding rabbits has received little attention.

In the feeding trials of growing rabbits, is essential to constantly evaluate the animal's health status, because there are abundant reports of illness and mortality in experimental and commercial farms, which lead to low production and large economical losses (Alemede *et al.*, 2013). The blood components are important indicators of the physiological, pathological and nutritional status the organism (Ewuola and Egbunike, 2008). Hematological parameters reflect the physiological response of the animal to internal or external factors, including diet, pathogenic microorganisms or housing conditions, among others (Amata, 2010). On the other hand, serum biochemical analysis are used to determine functioning of organs, such as heart, liver, kidney and pancreas (Ewuola and Egbunike, 2008; Taravati *et al.*, 2013). In general, blood analysis allows specialists to investigate clinically the levels of several constituents of the body of animals, through which it can be known his physiological, nutritional and pathological status (Melillo, 2007; Archetti *et al.*, 2008). This is particularly relevant in rabbits, because these show complex clinical signs and often mask the disease symptoms (Melillo, 2007).

Another important tool to assess the health status of the animals is the histological examination of vital organs, through which it can be detected changes in the tissues associated with several pathologies (Owen and Amakiri, 2012).

Therefore, the objective of this work was to assess the effects on growing rabbits health of the formulation of balanced feeds with increased inclusion levels of *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell., throughout evaluating hematological, serum biochemical and histopathological parameters.

MATERIAL AND METHODS

Feed formulation and manufacturing

Amaranthus dubius plants were cultivated during the rainy season in an experimental plantation located in the municipality of Santa Rita (10°31'19" N, 71°29'15" W), Zulia State, Venezuela. Plants were collected approximately 80 days after seeding, washed thoroughly with distilled water and subjected to oven drying (between 50 and 60°C for 40 h), with constant rotation and aeration. Samples were cut into small pieces and subsequently ground and sieved at 0.5 mm (Resh Muhle Dietz, LB1–27). The grinded plant material was kept in hermetically-closed plastic containers, which were stored in a cool environment until its analysis and utilization as raw material in the manufacture of experimental diets.

Three experimental diets (pelleted), whose chemical compositions are shown in table 1, were formulated with 0% (A0), 16% (A16) and 32% (A32) dietary levels of *A. dubius*, respectively. The diets A16 and A32 were prepared by substituting with 16 and 32% of *A. dubius* flour in a basal

mixture (control diet: A0), formulated to fit the nutritional requirements of growing rabbits (De Blas and Mateos, 2010), which contained corn, soybean, wheat bran, *Panicum maximum* straw, palm kernel, soybean oil and cane molasses as main ingredients. Salt, vitamin-mineral premix (Tecnovit Conejos Único; Tecnología & Vitaminas, S.L.; Tarragona, Spain) and sepiolite (pellet binder; Exal H, Tolsa Group, Madrid, Spain) were added to all diets. The diets were formulated to have similar levels of crude protein and digestible energy. No antibiotics, drugs or additives were added to feed and water; except robenidine hydrochloride content in the mineral and vitamins premix (13,200 mg·kg⁻¹ of premix).

Experimental design, animals and housing conditions

This study was carried out according to the guidelines of the European Group on Rabbit Nutrition for applied nutrition experiments in rabbits (Fernández-Carmona *et al.*, 2005) and complies with the provision of recommendations on care and protection of animals used for experimental purposes established in the European Union (2003).

The trial was carried out in an experimental farm, located in the town of Concepcion (10°63'16" N, 71°80'33" W), Jesus Enrique Lossada Municipality, Zulia state, Venezuela. The farm was an open-air building equipped with a fan to circulate the air, with natural light regime. The temperature and relative humidity during the test ranged of 23-32°C and 50-80%, respectively.

One hundred and thirteen New Zealand white rabbits of both sexes weaned at 35 d, with initial weight of 761.96±101.02 g (mean±SD) were used in a fattening trial. Animals were randomly assigned to one of the

three experimental diets from 35 to 87 d of age (A0: n=37, A16: n=38, A32: n=38). Rabbits were placed in individual wire mesh cages (50×25×40cm; length, width and height). Feed and water were given *ad libitum*.

Health status and mortality

The individual health status of the animals was controlled daily through observation of clinical signs of digestive troubles by using the methodology proposed by the European Group on Rabbit Nutrition (Fernández-Carmona *et al.*, 2005). Daily mortality was recorded from weaning to slaughter.

Collection and analysis of blood samples

One day before the end of the feeding trial, a subsample of 30 rabbits (10 animals per treatment: five males and five females) was randomly assigned for blood examination. Blood samples (about 10 mL) were collected between 0600 to 1200 h by marginal ear vein puncture, using a 22-gauge sterile catheter.

The blood samples for determination of hematological parameters were collected into tubes containing K₃EDTA (Sigma Company, St Louis, MO, USA), were kept under refrigeration and were immediately assayed. The methods for determining hematological parameters were the hematocrit value (HTC) by centrifugation of microhematocrit tubes (Camus, 1983), the whole blood hemoglobin concentration (HGB) by photometric detection of cyanmethemoglobin (Amatuzio *et al.*, 1962), fibrinogen (FBN) by coagulation time (Clauss, 1957), and white blood cells (WBC) by counting with Neubauer chamber (haemocytometer). The differential of WBC (NEU: neutrophils; BDS: bands; LYM: lymphocytes, MC:

monocytes and EOS: eosinophils) were determined by cells counting in blood smears.

The samples for biochemical analysis were collected in sterile tubes without anticoagulant and centrifuged at 3000 rpm for 10 min for separating serum, and were subsequently kept in deep-frozen (-20° C) until analysis. The determinations of glucose (GLU), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high density lipoproteins (HDL), total proteins (TP), enzyme alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) and glutamic oxaloacetic transaminase enzyme (GOT, EC 2.6.1.1) were performed by colorimetry using commercial test kits according to the manufacturer's recommended procedure (Wiener Laboratorios S.A.I.C., Rosario, Argentina). The low-density lipoproteins (LDL) and very low-density lipoproteins (VLDL) were estimated indirectly according to equations of Friedewald *et al.* (1972).

Histopathological analysis

At the end of the feeding trial, all rabbits were slaughtered and carcasses were prepared as recommended by the World Rabbit Science Association (Blasco and Ouhayoun, 1996). During slaughter, 18 rabbits were randomly assigned for histopathological evaluation (six rabbits per treatment: three males and three females). The heart, liver, lung and small intestine were collected from each animal and weighed, cut into sections and subsequently kept in 10% formalin during 3 d for its fixation. After fixation these were passed through an alcohol dehydration series and cleared using xylol. Then, the tissues were embedded in melted paraffin for 1 h and blocks were made, which were sliced to 5mm in thickness using a rotatory microtome, and were subsequently passed through an

alcohol dehydration series. The blocks were placed onto glass slides and stained by Haematoxylin and Eosin, examined and photographed. The histopathological evaluation, carried out by scoring the lesions according to the severity and spread of the necrotic lesions (Haziroğlu *et al.*, 2003), was performed at the Unidad de Neuro Anatomía Patológica C.A. (UNAPCA), Clínica Falcón, Maracaibo, Zulia state, Venezuela.

Statistical analysis

Data of hematological and biochemical parameters were analyzed as a totally randomized design, with 3x2 factorial arrangement, with 10 and six repetitions for hematological and biochemical parameters, respectively. The factors were diet, at three levels (A0, A16 and A32) and sex, at two levels (males and females). The data were analyzed using the GLM procedure of the SAS[®] statistical program (SAS, 2013). Turkey's test was used for means comparison when appropriate. A chi-square test was used to analyze the frequencies associated with mortality. Differences among treatment means with $P < 0.05$ were accepted as representing statistically significant differences.

RESULTS

Health status and mortality

Rabbits weighed 1883.24 ± 183.17 g (mean \pm SD) at slaughter. Seventeen rabbits (15.04%) became ill throughout the trial due to decreased appetite and diarrhea during the second and third week of the fattening period. Ten of these were quickly recovered without medication, while the seven remaining died. Thus, the total mortality was 6.19% and

showed independence among the experimental diets (2.70% in A0, 7.89% in A16 and 7.89% in A32 diets; $P>0.05$).

Hematological parameters

Hematological characteristics of growing rabbits are presented in table 2. Diet and sex did not affect the values of most of hematological parameters ($P>0.05$), except for FBN and WBC for diet and BDS for sex. The FBN value was higher ($P=0.010$) for A32 than for A16 diets; however, both were similar to A0 diet. The value of WBC was higher ($P=0.023$) for A0 than for A32 diets; however, both were similar to A16 diet. On the other hand, the values of BDS were higher ($P=0.014$) for females than males.

Biochemical parameters

Serum biochemical analysis is shown in table 3. Diet and sex did not affect TG, TC, LDL, VLDL and ALP ($P>0.05$). Glucose and HDL were higher ($P=0.002$ and $P=0.004$, respectively) for A16 and A32 than for A0 diet, and were not affected by sex ($P>0.05$). On the other hand, TP was not affected by diet ($P=0.580$) and was higher ($P=0.031$) in males than females. On the contrary, GOT was not affected by sex ($P=0.280$), but was higher ($P=0.008$) for A0 than to A16 and A32 diets. Diet x sex interaction effect was detected on TG and VLDL ($P=0.036$; Figure 1), but not on any other serum biochemical or hematological parameters. Male rabbits showed higher values of TG and VLDL than females in A0 diet (1.24 and 1.35 times higher, respectively) and in A32 diet (1.36 times higher in both parameters). On the contrary, in A16 diet these parameters were lower in male rabbits (0.70 and 0.77 times lower, respectively).

Histopathological analysis

Table 4 shows localization and severity of histopathological lesions of growing rabbits. In general, heart, liver, lung and small intestine of the animals showed tissues histologically well structured (figures 2A, 2C, 2E and 2G). However, in all experimental groups were evidenced several lesions, always very focalized in small tissue areas (figures 2B, 2D, 2F and 2H; table 4). The heart of four rabbits showed small areas with abundant fibroconnective lax adipose mature tissue, dilated vascular lumens and occupied with ectasic material, subendothelial agglomerate and numerous sparkling macrophages with abundant vacuolated cytoplasm in valves, corresponding to cholesterolosis (figure 2B). In different samples of liver tissue was observed small foci with lymphocytic infiltrate and hepatocytes with intracytoplasmic perinuclear vacuolization, corresponding to steatosis (Figure 2D). Additionally, were observed five samples with focalized cytoplasmic acidophilia. Although rabbits showed few lesions in lungs, in some samples were observed zones with dense peribronchial lymphocytic cellular infiltration. Besides, two rabbits showed inflammatory diffuse chronic lymphoplasmacytic infiltrate, consistent with pneumonic block (figure 2F). Mild to severe chronic inflammatory tissue damage was observed in small intestine of most rabbits fed the three experimental diets (figure 2H). However, the lesion was of limited extension and the villi were not severely damaged.

DISCUSSION

The present research is innovative because of the fact that, to our knowledge, hematological, biochemical and histopathological parameters of fattening rabbits fed *A. dubius* have not been previously evaluated.

Health status and mortality

The average of mortality (6.19%) can be considered acceptable, given that the rabbits were not treated with drugs during the whole trial. Mortality was lower than average values for fattening rabbits under industrial farming conditions in Europe (Pascual *et al.*, 2014), and lower than reported by Alemede *et al.* (2013). On the contrary, was higher than that reported by Kadi *et al.* (2011). As in our case, these works showed independence between mortality and diets formulated with alternative raw materials for growing rabbits. Thus, the differences with our research could be related to specific conditions under which the trials were conducted (Marai *et al.*, 2002).

The signs of gastrointestinal disease observed in some rabbits were consistent with those described by several authors for Epizootic Rabbit Enteropathy (ERE; Dewrée *et al.*, 2007; Carabaño *et al.*, 2008). This pathology has been widely reported in farms, and has been linked with fiber deficiency, excess in proteins and stress conditions (Carabaño *et al.*, 2008; Xiccato *et al.*, 2008). On the other hand, the digestive disorders in growing rabbits are common during the post-weaning period (Carabaño *et al.*, 2008, 2010). However, overall health status observed in the rabbits was good throughout the trial. This may be related to the high standard of zoohygiene in the experimental farm (Volek and Marounek, 2011).

Hematological parameters

In our trial, HTC, HGB and WBC were within the range of values reported by Archetti *et al.* (2008) in commercial hybrid rabbits of industrial farms from northern Italy. On the contrary, were higher than those reported by Chineke *et al.* (2006) in rabbits of several breeds and their crosses, raised in Nigeria, and slightly lower than the normal ranges reported by Özkan *et al.* (2012) in New Zealand white rabbits. On the other hand, NEU, LYM, MC and EOS were within the range of values reported by Archetti *et al.* (2008) in hybrid rabbits.

The inclusion of *A. dubius* did not influence most of the hematological parameters ($P>0.05$). This is in agreement with that reported by Etim and Oguike (2011) and Mandour *et al.* (2012) in trials with rabbits fed different unconventional diets. On the contrary, Igwebuike *et al.* (2008) and Amata (2010) reported that most hematological parameters were affected by feed with unconventional diets, and related it to the presence of toxic substances in the ingredients tested. The differences in FBN values between A16 and A32 diets ($P<0.05$) were not related to the proportion of *A. dubius*, because in both diets FBN levels were similar to diet A0. The WBC decreased from A0 to A32 diet, something that may be an indication of an immunosuppression process, preceded by the activation of the immune system cells (George and Sese, 2013), in response to increased levels of inclusion of *A. dubius* in the diets. However, the effect observed cannot be considered negative for the health status of rabbits, because all values of WBC were within the range reported for healthy rabbits (Archetti *et al.*, 2008). On the other hand, the hematological parameters were not affected by sex ($P>0.05$), except for

BDS. This agrees several trials with rabbits reporting that there were no differences among the sexes for most of the hematological parameters (Chineke *et al.*, 2006; Abdel-Azeem *et al.*, 2010; Özkan *et al.*, 2012).

The differences observed by comparison of our data with the results reported by other authors may be due to the experimental and environmental conditions under which the test was performed. It has been reported that the hematologic parameters can be affected by several factors, especially by stress, age, gender, season, and nutritional and hormonal state of rabbits (Melillo, 2007; Çetin *et al.*, 2009). In general, HTC and HGB values observed in the rabbits revealed the absence of anemia or other conditions affecting red blood cells (George and Sese, 2013). On the other hand, the values of WBC and its differentials (NEU, LYM, MC and EOS) indicated that rabbits remained healthy during the experimental period (Ahamefule *et al.*, 2008; Etim and Oguike, 2011).

Serum biochemical parameters

The values of GLU observed in this trial were within the normal ranges for rabbits (Melillo, 2007; Özkan *et al.*, 2012). On the other hand, GLU was lower than reported by Igwebuiké *et al.* (2008) and Mandour *et al.* (2012) in different trials for growing rabbits fed unconventional diets. The rabbits fed diets that included *A. dubius* showed higher values of GLU ($P < 0.05$) than control. It has been reported that an increased energy does not cause any detrimental effects on the health of the animals; on the contrary it increases the growth rate in the tropics (Fluharty and Loerch, 1996). The normal GLU level observed in rabbits fed the experimental diets showed that these have a good balance of the metabolic energy;

therefore did not need survive at the expense of body tissues (Ologhobo *et al.*, 1992).

The TP values observed in this trial were lower than the normal ranges for rabbits (Melillo, 2007; Jenkins, 2008); conversely, were within the range reported by Özkan *et al.* (2012). Moreover, TP values were similar than those reported by Ahamefule *et al.* (2008) and Mandour *et al.* (2012) in trials with growing rabbits fed different unconventional diets. Diets did not affect the values of TP; this could be because these were formulated isoproteic. On the other hand, sex affected the values of TP, contrarily to that reported by Abdel-Azeem *et al.* (2010) and Özkan *et al.* (2012). The low values of TP could be due to the fact that this trial was carried out at ambient conditions within the range that can be considered to produce thermal stress to rabbits, under which metabolic rate increases and feed intake is reduced (Zeferino *et al.*, 2013); therefore, diets should have higher digestible energy (Lebas, 1983). Moreover, in animals fed balanced diets, the hypoproteinemia is usually due to poor absorption or proteins loss, as a result of some pathologies that affects the functioning of the small intestine, kidney or liver (Melillo, 2007).

The serum lipids content have diagnostic limits in rabbits, because these animals practice cecotrophy, making it difficult the fasting, essential for accurate measurement of this parameter (Melillo, 2007). Besides, there are few reports of serum lipids in rabbits, except for TC. Therefore, comparing the values obtained in this research is difficult.

The values of TG observed in this trial were higher than the normal range for rabbits reported by Yu *et al.* (1979). Conversely, these were

within range reported by Vennen and Mitchell (2009). Moreover, TG were lower than reported by Al-Dobaib (2010) in rabbits fed diets containing discarded dates.

The mean of TC ($79.23 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) was within of normal ranges for rabbits (Melillo, 2007; RAR, 2011). Moreover, TC values were higher than mean values reported by Al-Dobaib (2010) and Igwebuikie *et al.* (2008) in trials with growing rabbits fed with different unconventional diets.

Rabbits fed with diets that included *A. dubius* showed higher values of HDL ($P<0.05$) than control, which can be considered beneficial for rabbit health status, because higher HDL reduce the risk of developing ischemic heart diseases (Argraves and Argraves, 2007).

The ALP values were much higher than normal range for rabbits (RAR, 2011; Özkan *et al.*, 2012). Raised ALP levels can be associated with several liver pathologies, specially coccidiosis, abscesses, neoplasia and lipidosis (Melillo, 2007). Any intra or extra-hepatic factor that causes biliary stasis increases ALP (Meredith and Rayment, 2000).

The mean of GOT ($16.16 \text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$) was within the normal ranges for rabbits reported by RAR (2011). Conversely, GOT values were lower than normal range reported by Melillo (2007). The normal values of GOT in rabbits of this research indicated an absence of cellular injuries in heart, kidney or liver (Meredith and Rayment, 2000; Melillo, 2007).

Histopathological analysis

Histological lesions were found in rabbits fed all diets including control; therefore, these may not be attributable to inclusion of *A. dubius*. The histopathological evaluations of the heart, liver, lung and small

intestine did not reveal any significant signs of cellular atypia, indicating that *A. dubius* does not cause damage to rabbit tissues. The lesions of small intestine were consistent with the possible Epizootic Rabbit Enteropathy observed in the first weeks of the trial (Dewrée *et al.*, 2007). The liver lesions were consistent with raised ALP values and related with possible biliary stasis or lipidosis (Meredith and Rayment, 2000; Melillo, 2007). In general, the histologic lesions observed in rabbits could be attributable to the environmental conditions of thermal stress under which the trial was performed (Zeferino *et al.*, 2013), which could deteriorate physiological traits of rabbits (Marai *et al.*, 2002; Zeferino *et al.*, 2013).

CONCLUSION

Based on mortality record, blood hematology, serum biochemical parameters and histological analysis of heart, liver, lung and small intestine, it can be concluded that inclusion of *A. dubius* up to 32% in diets did not significantly affect health status of growing rabbits. Therefore, *A. dubius* can become an alternative raw material for the formulation of feeds in tropical and subtropical countries. Moreover, the changes presented in some hematological and biochemical parameters with respect to normal values for rabbit, as well as the lesions observed in some organs, were probably due to environmental conditions under which the trial was performed. Therefore is recommended further research to determine the effects of normal environmental conditions in tropical and subtropical countries on health status of growing rabbits.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico of the Universidad del Zulia (CONDES-LUZ) for funding this project, Dr. Russiel Rodríguez Paez (UNAPCA: Unidad de Neuro Anatomía Patológica C.A., Clínica Falcón, Maracaibo, Zulia State, Venezuela) by her support in the realization of biopsies and histopathological analysis, and MV Maria Laura Rodríguez (CEDIVETCA: Centro Diagnóstico Veterinario C.A., Maracaibo, Zulia State, Venezuela) by her advice in analysis of hematological and biochemical parameters.

REFERENCES

- Abdel-Azeem A.S., Abdel-Azim A.M., Darwish A.A., Omar E.M., 2010. Haematological and biochemical observations in four pure breeds of rabbits and their crosses under Egyptian environmental conditions. *World Rabbit Science* 18,103-110.
- Ahamefule F.O., Obua B.E., Ukwani I.A., Oguike M.A., Amaka R.A., 2008. Haematological and biochemical profile of weaner rabbits fed raw or processed pigeon pea seed meal based diets. *African Journal of Agricultural Research* 3, 315-319.
- Al-Dobaib S.N., 2010. Effect of diets on growth, digestibility, carcass and meat quality characteristics of four rabbit breeds. *Saudi Journal of Biological Sciences* 17, 83-93.
- Alemede I.C., Ogunbajo S.A., Akinbiyi O.J., 2013. Effect of feeding varying levels of sheanut meal (*Vitellaria paradoxa*) on haematological parameters, diseases and mortality of weaner rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Agriculture and Biology Journal of North America* 4, 78-83.
- Amata I.A., 2010. The effect of feeding *Gliricidia* leaf meal (GLM) on the haematological, serological and carcass characteristics of weaned rabbits in the tropics. *Agriculture and Biology Journal of North America* 1, 1057-1060.
- Amatuzio D.S., Grande F., Wada S., 1962. The cyanmethemoglobin method for hemoglobin determination. *Minnesota Medicine* 45, 378-381.
- Archetti I., Tittarelli C., Cerioli M., Brivio R., Grilli G., Lavazza A., 2008. Serum chemistry and hematology values in commercial rabbits: preliminary data from industrial farms in northern Italy. In: *Proceeding of the 9th World Rabbit Congress*. Verona, Italy. pp. 1147-1152.
- Arellano M., Albarracín G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. *Phyton* 1, 193-197.

- Argraves K.M., Argraves W.S., 2007. HDL serves as an S1P signaling platform mediating a multitude of cardiovascular effects. *Journal of Lipid Research* 48, 2325-2333.
- Blasco A., Ouhayoun J., 1996. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. *World Rabbit Science* 4, 93-99.
- Camus E., 1983. Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hematocrito. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 2, 751-769.
- Carabaño R., Badiola I., Chamorro S., García J., García-Ruiz Al., García-Rebollar P., Gómez-Conde M.S., Gutiérrez I., Nicodemus N., Villamide M.J., De Blas J., C., 2008. Review. New trends in rabbit feeding influence of nutrition on intestinal health. *Spanish Journal of Agricultural Research* 6, 15-25.
- Carabaño R., Piquer J., Menoyo D., Badiola I. 2010. The digestive system of the rabbit. In *Nutrition of the Rabbit*, 2nd edition. De Blas C., Wiseman J.(Eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 1-18.
- Çetin N., Bekyürek T., Çetin E., 2009. Effects of sex, pregnancy and season on some haematological and biochemical blood values in angora rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 36, 155-162.
- Chineke C.A., Ologun A.G., Ikeobi C.O.N., 2006. Haematological parameters in rabbit breeds and crosses in humid tropics. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9, 2102-2106.
- Clauss A., 1957. Rapid physiological coagulation method for the determination of fibrinogen. *Acta Haematológica* 17, 237-246.
- De Blas C., Mateos G.G., 2010. Feed formulation. In *Nutrition of the rabbit*, 2nd edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 222-232.
- Dewrée R., Meulemans L., Lassence C., Desmecht D., Ducatelle R., Mast J., Licois D., Vindevogel H., Marlier D., 2007. Experimentally induced epizootic rabbit enteropathy: clinical, histopathological, ultrastructural, bacteriological and haematological findings. *World Rabbit Science* 15, 91-102.
- Etim N.N. and Oguike M.A., 2011. Haematology and serum biochemistry of rabbit does fed *Aspilia africana*. *Nigerian Journal of Agriculture, Food and Environment* 7, 121-127.
- European Union, 2003. Protection of animals used for experimental purposes. Directive 86/609/EEC of 24th November 1986, amended 16th September 2003.
- Ewuola E.O., Egbunike G.N., 2008. Haematological and serum biochemical response of growing rabbit bucks fed dietary fumonisin B1. *African Journal of Biotechnology* 7, 4304-4309.
- Fekete S., Gippert T., 1986. Digestibility and nutritive value of nineteen important rabbit feedstuffs. *Journal of Applied Rabbit Research* 9, 103-108.
- Fernández-Carmona J., Blas E., Pascual J.J., Maertens L., Gidenne T., Xiccato G., García J., 2005. Recommendations and guidelines for applied nutrition experiments in rabbits. *World Rabbit Science* 13, 209-228.
- Friedewald W.T., Levy I.R., Fredrickson D.S., 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18, 499-502.

- Fluharty F.L. Loerch S.C., 1996. Effect of dietary energy source and level on performance of newly arrived feedlot calves. *Journal of Animal Science* 74, 504-513.
- George O.S., Sese T.T., 2013. Haematological and serum profile of growing rabbits fed varying levels of crude oil contaminated feed. *Global Journal of Bio-science and Biotechnology* 2, 207 -210.
- Haziroğlu R., Altintaş K., Atasever A., Gülbahar M.Y., Kul O., Tunca R., 2003. Pathological and immunohistochemical studies in rabbits experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 27, 285 - 293.
- Igwebuike J.U., Anugwa F.O.I., Raji A.O., Ehiobu N.G., Ikurior S.A., 2008. Nutrient digestibility, haematological and serum biochemical indices of rabbits fed graded levels of *Acacia albida* pods. *Journal of Agricultural and Biological Science* 3, 33-40.
- Jenkins J.R., 2008. Rabbit diagnostic testing. *Journal of Exotic Pet Medicine* 17, 4 -15.
- Kadi S.A., Guermah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T., 2011. Nutritive value of sun-dried sulla hay (*Hedysarum flexuosum*) and its effect on performance and carcass characteristics of growing rabbits. *World Rabbit Science* 19, 151-159.
- Lebas F., 1983. Small-scale rabbit production: Feeding and management systems. *World Animal Review* 46, 11-17.
- Lebas F., Coudert P., De Rochambeau H., Thébault R.G., 1997. *The Rabbit - Husbandry, health and production*. FAO, Rome, Italy.
- Mandour M.A., Al-Shami S.A., Hssein Y.A., 2012. Effect of feeding graded levels of urea on growing New Zealand White rabbit performance. *Global Veterinaria* 9, 761-768.
- Marai I.F.M., Habeb A.A.M., Gad A.E., 2002. Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science* 78, 71-90.
- Matics Zs., Szendrő Zs., Odermatt M., Gerencser Zs., Nagy I., Radnai I., Dalle Zotte A., 2013. Effect of housing conditions on production, carcass and meat quality traits of growing rabbits. *Meat Science* 96, 41-46.
- Melillo A., 2007. Rabbit clinical pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine* 16, 135-145.
- Meredith A., Rayment L., 2000. Liver disease in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 9, 146–152.
- Molina E., González-Redondo P., Montero K., Ferrer R., Moreno-Rojas R., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. *Interciencia* 36, 386 -391.
- Montero-Quintero K., Moreno-Rojas R., Molina E., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 28, 619 -627.
- Ologhobo A.D., Apata D.F., Oyejide A., Akinpelu R.O., 1992. Toxicity of raw lima beans (*Phaseolus lunatus*) and lima bean fractions for growing chicks. *British Poultry Science* 34, 505 -522.

- Özkan C., Kaya A., Akgül Y., 2012. Normal values of haematological and some biochemical parameters in serum and urine of New Zealand White rabbits. *World Rabbit Science* 20, 253-259.
- Owen O.J., Amakiri A.O., 2012. Histopathological changes in the organs of weaner rabbits fed poultry litter supplemented diets. *Advances in Agricultural Biotechnology* 2, 1-4.
- Pascual M., Serrano P., Cartuche L., Gómez E.A., 2014. Análisis de la evolución de resultados de gestión técnica y precios de mercado. *Boletín de Cunicultura* 171, 58-61.
- RAR, 2011. Research Animal Resource. Reference values for laboratory animals. Normal haematological values. RAR Websites, University of Minnesota, Minnesota, USA. Retrieved on 10 march 2014, from <http://www.ahc.umn.edu/rar/index/html>.
- SAS, 2003. SAS® User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sleugh B.B., Moore K.J., Brummer E.C., Knapp A.D., Russell J., Gibson L., 2001. Forage nutritive value of various amaranth species at different harvest dates. *Crop Science* 41, 466-472.
- Taravati A., Asri S., Safi S., Madani R., Mortazavi P., 2013. Histopathology and biochemical assessment of excess high dose of methionine on liver, heart and kidney tissues in rabbit. *Annals of Biological Research* 4, 164-167.
- Vennen K.M., Mitchell M.A., 2009. Rabbits. *Manual of Exotic Pet Practice* 14, 375-405.
- Volek Z., Marounek M., 2011. Dried chicory root (*Cichorium intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet: effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits. *World Rabbit Science* 19, 143-150.
- Xiccato G., Trocino A., Carraro L., Fragkiadakis M., Majolini D., 2008. Digestive fibre to starch ratio and antibiotic treatment time in growing rabbits affected by epizootic rabbit enteropathy. In: *Proceeding 9th World Rabbit Congress*. Verona, Italy, pp. 847-852.
- Yu L., Pragay D.A., Chang D., Widner K., 1979. Biochemical parameters of normal rabbit serum. *Clinical Biochemistry* 12, 83-87.
- Zeferino C.P., Komiyama C.M., Fernández S., Sartori J.R., Teixeira P.S., Moura A.S.A.M., 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7, 518-523.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets

	Diets		
	A0	A16	A32
Ingredient (% DM)			
<i>Amaranthus dubius</i>	0	16	32
Corn	9.60	6.04	3.06
Soybean	11.06	9.50	10.70
Wheat bran	40.60	34.98	24.33
<i>Panicum maximum</i> Straw	16.32	4.77	1.19
Palm kernel	11.90	15.40	11.06
Soybean oil	1.28	6.31	12.46
Cane molasses	5.74	3.50	1.70
Sodium chloride	1.00	1.00	1.00
Sepiolite ¹	1.50	1.50	1.50
Vitamin-mineral premix ²	1.00	1.00	1.00
Chemical composition (g·kg⁻¹ DM)			
Dry matter	909.2	892.8	917.0
Crude protein	159.0	153.9	150.7
Ether extract	2.0	3.6	4.6
Crude fiber	157.3	149.0	161.7
Ash	70.6	71.2	72.7
NDF	346.8	337.2	307.0
ADF	204.2	202.8	234.2
ADL	101.0	120.5	90.2
Digestible energy ³ (MJ·kg ⁻¹ DM)	12.27	12.35	12.11

¹Exal H®; provided by TOLSA Group (Madrid, Spain). ²Tecnovit Conejos Único®; provided by Tecnología & Vitaminas, S.L. (Tarragona, Spain). Mineral and vitamins composition (g·kg⁻¹ premix): Fe, 10; I, 0.2; Co, 0.02; Cu, 3; Mn, 10; Zn, 12; Se, 0.02; vitamin E: 3.2, vitamin B1: 0.2, vitamin B2: 0.6, vitamin B6: 0.2, vitamin B12: 0.002, calcium d-pantothenate, 2; Nicotinic acid, 4.4; choline chloride, 10; vitamin A, 1,800,000 IU; vitamin D₃, 300,000 IU. ³DE was calculated according to Fekete and Gippert (1986) as: DE (kcal·kg⁻¹ DM): 4,253 – 32.6 × Crude fibre (% DM) – 144.4 × Ash (% DM); it was subsequently transformed to MJ·kg⁻¹ DM.

Table 2. Effects of diet and sex on hematological parameters of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*¹

Hematological parameters	Diets			Sex		RSME	P-value		
	A0	A16	A32	Male	Female		D	S	D x S
HTC (%)	33.20	32.30	32.50	32.60	32.73	2.87	0.780	0.902	0.824
HGB (g·L ⁻¹)	108.71	106.89	107.31	107.15	108.12	9.38	0.903	0.785	0.935
FBN (g·L ⁻¹)	1500 ^{ab}	1300 ^b	1900 ^a	1666.67	1466.70	329.14	0.010	0.135	0.073
WBC (x10 ⁹ ·L ⁻¹)	4.98 ^a	4.50 ^{ab}	3.82 ^b	4.40	4.47	0.73	0.023	0.792	0.388
NEU (%)	49.55	48.30	40.88	47.37	45.12	17.68	0.523	0.736	0.936
BDS (%)	0.20	0.20	0.20	0.00 ^b	0.40 ^a	0.35	1.000	0.014	1.000
LYM (%)	46.34	48.20	55.70	49.63	50.54	16.69	0.451	0.885	0.936
MC (%)	3.81	2.99	3.21	2.93	3.74	1.57	0.515	0.197	1.000
EOS (%)	0.10	0.30	0.00	0.07	0.20	0.56	0.500	0.529	0.300

A0, A16 and A32 = diets that include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*, respectively. HTC = hematocrit value; HGB = whole blood haemoglobin concentration; FBN = fibrinogen; WBC = white blood cell count; NEU = neutrophils (heterophils); BDS = bands (immature neutrophils); LYM = lymphocytes; MC = monocytes; EOS = eosynophils; RMSE = root mean square error; D = diet; S = sex; D x S = diet x sex.

^{a,b}Means in the same row with different letters on superscripts within each effect differ significantly ($P<0.05$).¹Values correspond to means (n = 10 rabbits per each type of diet).

Table 3. Effects of diets and sex on serum biochemical parameters of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*¹

Biochemical parameters	Diets			Sex		RSME	P-value		
	A0	A16	A32	Male	Female		D	S	D x S
GLU (mmol·L ⁻¹)	5.79 ^b	6.70 ^a	6.35 ^a	6.43	6.12	0.38	0.002	0.056	0.330
TP (g·L ⁻¹)	47.14	45.94	47.85	48.88 ^a	45.07 ^b	3.40	0.580	0.031	0.440
TG (mg·dL ⁻¹)	69.43	69.02	64.77	69.53	65.95	16.67	0.792	0.573	0.036
TC (mg·dL ⁻¹)	73.82	80.37	83.51	75.49	82.97	14.42	0.357	0.193	0.164
HDL (mg·dL ⁻¹)	20.96 ^b	26.81 ^a	28.94 ^a	24.71	26.43	3.86	0.004	0.255	0.869
LDL (mg·dL ⁻¹)	38.97	39.76	41.62	36.88	43.35	11.50	0.872	0.162	0.174
VLDL (mg·dL ⁻¹)	13.89	13.80	12.95	13.90	13.19	3.33	0.792	0.573	0.036
GOT (IU·L ⁻¹)	21.03 ^a	13.60 ^b	13.86 ^b	17.08	15.24	4.34	0.008	0.280	0.249
ALP (IU·L ⁻¹)	145.38	103.51	141.62	126.39	133.95	45.22	0.133	0.659	0.250

A0, A16 and A32 = diets that include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*, respectively. GLU = glucose; TP = total protein; TG = triglyceride; TC = total cholesterol; HDL = high-density lipoprotein; LDL = low-density lipoprotein; VLDL = very low-density lipoprotein; GOT = glutamic oxaloacetic transaminase; ALP = alkaline phosphatase. RMSE = root mean square error; D = diet; S = sex; D x S = diet x sex.

^{a,b}Means in the same row with different letters on superscripts within each effect differ significantly (P<0.05).

¹Values correspond to means (n = 10 rabbits per each type of diet).

Table 4. Localization and severity of principal histopathological lesions of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*¹

Diets	Rabbits	Heart	Liver		Lung		Small intestine
		Cholesterolo- sis	Steato- sis	Cytoplas- mic Acidophi- lia	Lymphocy -tic infiltrate	Pneumo -nic block	Chronic inflamma- tory tissue damage
A0	1	+	-	-	-	-	+++
	2	-	-	-	-	+	-
	3	-	-	+	-	-	+++
	4	-	-	-	-	-	++
	5	-	+	+	-	-	++
	6	-	++	+	-	-	++
A16	1	-	-	-	+	-	++
	2	++	-	-	+	-	+++
	3	-	-	-	-	+	+
	4	-	-	-	-	-	+++
	5	-	+	+	+	-	++
	6	-	-	-	-	-	++
A32	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	+	+	-	-	+
	3	+	-	-	-	-	+++
	4	-	-	-	-	-	+
	5	+	-	-	+	-	++
	6	-	-	-	+	-	+

A0, A16 and A32 = diets that include 0, 16 and 32%DM of *Amaranthus dubius*, respectively. ¹The lesions observed in all tissues were always very focalized in small tissue areas. - normal histology, + mild lesion, ++ moderate lesion, +++ severe lesion.

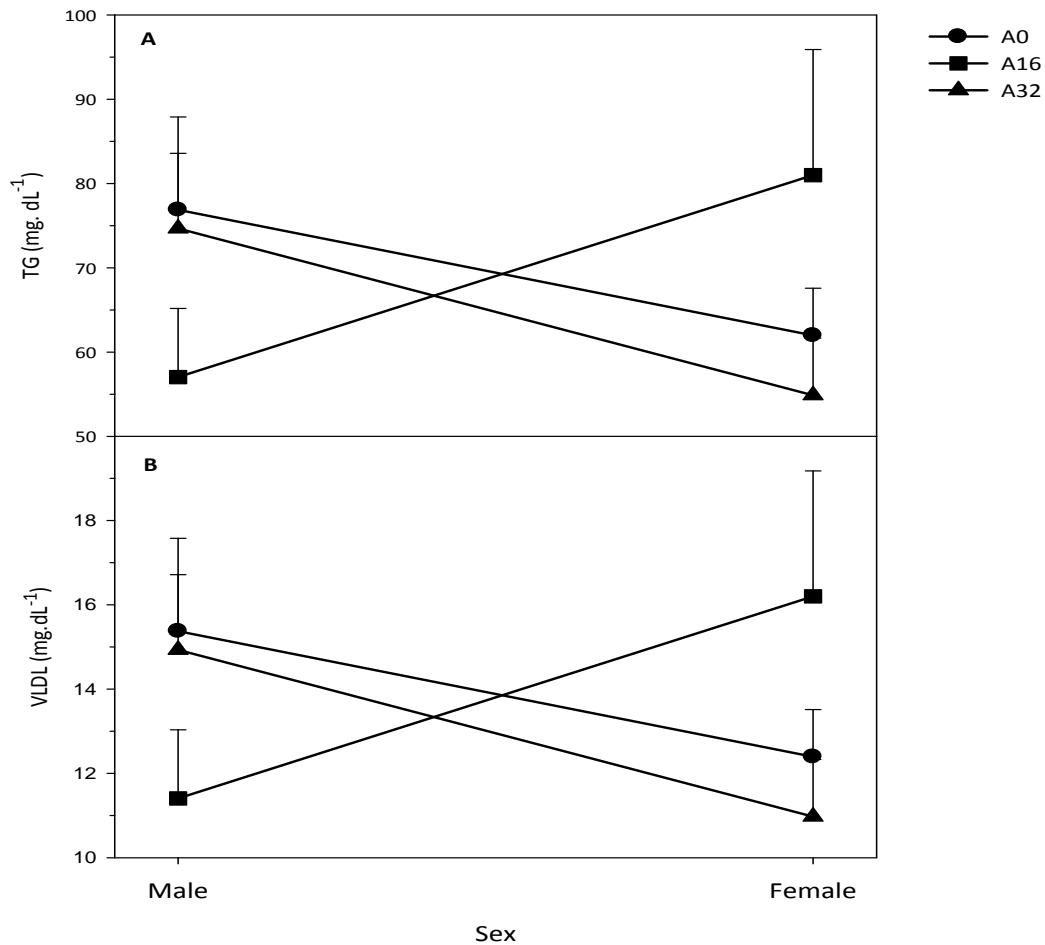


Figure 1. Effect of interaction between diet x sex on triglyceride (TG) and very low-density lipoprotein (VLDL) values ($\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*.

A and B correspond to mean \pm standard deviation of TG and VLDL for A0, A16 and A32 diets with, 0, 16 and 32% of inclusion of *Amaranthus dubius*, respectively. The interactions between diet x sex were significant for TG ($P= 0.036$) and VLDL ($P= 0.036$) values.

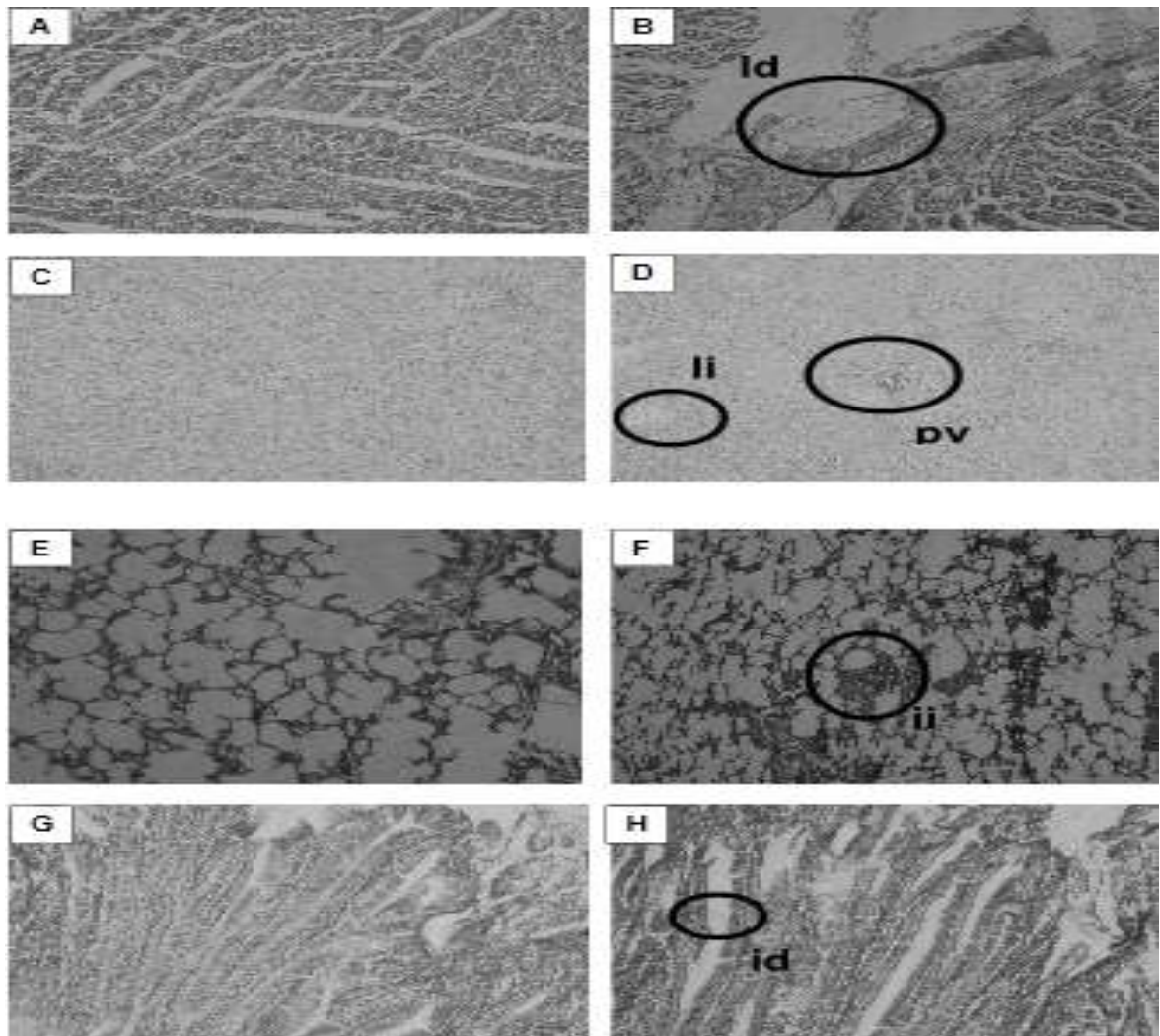


Figure 2. Photomicrographs of histological sections of the heart (A and B), liver (C and D), lung (E and F), and small intestine (G and H) of growing rabbits fed *Amaranthus dubius* (HE, 200x).

A, C, E and G show heart, liver, lung and small intestine tissues without lesions, respectively. B shows heart tissue with lipidic subendothelial deposit (ld, circle); D shows liver tissue with lymphocytic infiltrate (li, circle) and hepatocytes with intracytoplasmic perinuclear vacuolization (pv, circles); F shows lung tissue with inflammatory diffuse chronic lymphoplasmacytic infiltrate (ii, circle); H shows small intestine with chronic inflammatory tissue damage (id, circle).

Conclusiones



CONCLUSIONES

- Primero.** *Amaranthus dubius* cultivado en Venezuela en época lluviosa y seca presentó alta concentración de metales de interés nutricional, especialmente las hojas y las panículas; cultivadas en época lluviosa fueron ricas en Ca, Mg, Fe y Zn. Además, mostró baja concentración o ausencia de metales tóxicos; con excepción del Al. Los resultados obtenidos confirman que el *A. dubius* cultivado en Venezuela puede ser utilizado como fuente de minerales para la nutrición humana y animal.
- Segundo.** Las hojas, tallos y panículas de *A. dubius* cultivado en Venezuela mostraron bajos niveles de sustancias tóxicas y antinutricionales. En ambas épocas de recolecta, los valores fueron menores a los reportados como perjudiciales para el consumo humano o animal, lo cual le confiere propiedades interesantes para ser usado en la industria alimentaria.
- Tercero.** Los conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos alimentados con piensos que incluían niveles crecientes de *A. dubius* hasta un 32% mostraron un crecimiento normal de acuerdo a las condiciones experimentales, altos coeficientes de digestibilidad aparente y excelente conversión alimentaria.
- Cuarto.** Los conejos de la raza Nueva Zelanda Blancos alimentados con piensos que incluían niveles crecientes de *A. dubius* hasta un 32% mostraron buenos rendimientos productivos, especialmente en el peso de sacrificio, pesos de las canales y peso de la mayoría de los cortes de interés comercial. Además, la carne mostró excelentes propiedades fisicoquímicas.
- Quinto.** Los alimentos balanceados formulados con *A. dubius* para conejos de engorde no causaron efectos negativos en el estado de salud de los animales de experimentación, pues algunas patologías observadas pudieran estar relacionadas con las condiciones de estrés térmico bajo las cuales se llevó a cabo el ensayo.
- Sexto.** *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. es una especie vegetal que puede ser utilizada como fuente alternativa de proteínas, minerales y fibra en la elaboración de piensos para la cría de conejos de engorde en condiciones tropicales y subtropicales, debido a que permite obtener buenos rendimientos productivos y carne con excelentes propiedades fisicoquímicas, sin afectar el estado de salud general de los animales.

Bibliografía



BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo I., García O., Acevedo I., Perdomo C., 2007. Valor nutritivo de bledo (*Amaranthus spp*) identificado en el municipio Morán, estado Lara. Revista Agrollanía 4, 77-93.
- Ahamefule F.O., Obua B.E., Ukweni I.A., Oguike M.A., Amaka R.A., 2008. Haematological and biochemical profile of weaner rabbits fed raw or processed pigeon pea seed meal based diets. African Journal of Agricultural Research 3, 315-319.
- Al-Dobaib S.N., Khalil M.H., Hashad M., Al-Saef A.M., 2007. Growth, carcass and caecal traits in V-line and crossbred rabbits fed diets containing discarded dates. World Rabbit Science 15, 81-90.
- Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E., Gallagher E., 2010. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chemistry 119, 770-778.
- Amin M.R., Taleb M.A., Rahim J., 2011. Rabbit farming: A potential approach towards rural poverty alleviation. Research on Humanities and Social Sciences 1, 7-10.
- Arellano M.A.L., Albarracin G., Arce S., Mucciarelli S., 2004. Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. Phytion 73,193-197.
- Barba de la Rosa A.P., Fomsgaard I.S., Laursen B., Mortensen A.G., Olvera-Martínez L., Silva-Sánchez C., Mendoza-Herrera C., González-Castañeda J., De León-Rodríguez A., 2009. Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. Journal of Cereal Science 49, 117-121.
- Barrueta H.D.E., Bautista O.E., 2002. Sistemas de producción cunícula en el estado Táchira-Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ 12, 422-424.
- Bautista E., Barrueta H.D.E., 2000. Bledo (*Amaranthus spp.*) como ingrediente en dietas para conejos en crecimiento y engorde. Revista Científica UNET 12, 1-17.
- Bavec F., MLakar S.G., 2002. Effects of soil and climatic conditions on emergence of grain Amaranths. European Journal of Agronomy 17, 93-103.
- Blasco A., Ouhayoun J., 1996. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. World Rabbit Science 4, 93-99.
- Bovera F., Lestingi A., Iannaccone F., Tateo A., Nizza A., 2012. Use of dietary mannanoligosaccharides during rabbit fattening period: effects on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass traits, and meat quality. Journal Animal Science 90, 3858-3866.
- Brenner D.M., Baltensperger D.D., Kulakow P.A., Lehmann J.W., Myers R.L., Slabbert M.M., Sleugh B.B., 2000. Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. Plant Breeding Reviews 19, 227-285.
- Capra G., Martínez R., Fradiletti F., Cozzano S., Repiso L., Márquez R., Ibáñez F., 2013. Meat quality of rabbits reared with two different feeding strategies: with or without fresh alfalfa ad libitum. World Rabbit Science 21, 23-32.

- Carabaño R., Badiola I., Chamorro S., García J., García-Ruiz A., García-Rebollar P., Gómez-Conde M., Gutiérrez I., Nicodemus N., Villamide M., De Blas J., 2008. Review. New trends in rabbit feeding influence of nutrition on intestinal health. Spanish Journal of Agricultural Research 6, 15-25.
- Carmona W., 2007. Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 24, 190-195.
- Colin M., Lebas F., 1996. Rabbit meat production in the world. A proposal for every country. In: Proceedings 6th World Rabbit Congress. Toulouse, France. pp. 323-330.
- Combes S. 2004. Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. INRA Production Animales 17, 373-383.
- Combes S., Dalle Zotte A., 2005. La viande de lapin: valeur nutritionnelle et particularités technologiques. In: Proceedings 11èmes Journées de la Recherche Cunicole. Paris, France. pp. 167-180.
- Correa A., Galdames M.D.C., Stapf M.N.S., 2004. Catálogo de plantas vasculares de Panamá 1-599. Smithsonian Tropical Research Institute, Panama.
- Dal Bosco A., Gerencsér Zs., Szendrő Zs., Mugnai C., Cullere M., Kovács M., Ruggeri S., Mattioli S., Castellini C., Dalle Zotte A., 2014. Effect of dietary supplementation of Spirulina (*Arthrospira platensis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) on rabbit meat appearance, oxidative stability and fatty acid profile during retail display. Meat Science 96, 114-119.
- Dal Bosco A., Mourvaki A.E., Cardinali R., Servili M., Sebastiani B., Ruggeri S., Mattioli S., Taticchi A., Esposto S., Castellini C. 2012. Effect of dietary supplementation with olive pomaces on the performance and meat quality of growing rabbits. Meat Science 92, 783-788.
- Dalle Zotte A., 2002. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. Livestock Production Science 75, 11-32.
- Dalle Zotte A., 2004. Avantage diététiques. Le lapin doit apprivoiser le consommateur. Viandes Produits Carnés 23, 1-7.
- Dalle Zotte A., Szendrő Z., 2011. The role of rabbit meat as functional food. Meat Science 88, 319-331.
- De Blas C., Carabaño R., 1996. A review of the energy value of sugar beet pulp for rabbits. Word Rabbit Science 4, 33-36.
- De Blas C., Mateos G.G., 2010. Feed formulation. In: Nutrition of the rabbit, 2nd Edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 222-232.
- De Blas C., Pérez E., Fraga M.J., Rodríguez M., Galvez J., 1981. Effect of diet on feed intake and growth of rabbits from weaning to slaughter at different ages and weights. Journal of Animal Science 52, 1225-1232.
- Dědková L., Mach K., Majzlík I., 1999. Growth and feed conversion in broiler rabbits. Scientia Agriculturae Bohemica 30, 315-323.
- Delascio-Chitty F., 1985. Algunas plantas usadas en la medicina empírica venezolana. Dirección de Investigaciones Biológicas, División de Vegetación, Jardín Botánico, INPARQUES, Litopar C.A., Caracas, Venezuela. 180 pp.

- De Troiani R.M., Ferramola L., 2005. Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario* 9, 103-112.
- Dewrée R., Meulemans L., Lassence C., Desmecht D., Ducatelle R., Mast J., Licois D., Vindevogel H., Marlier D., 2007. Experimentally induced epizootic rabbit enteropathy: clinical, histopathological, ultrastructural, bacteriological and haematological findings. *Word Rabbit Science* 15, 91-102.
- El-Adawy M.M., Mohsen M.K., Salem A.Z.M., Mariezcurrena B.M.A., El-Santiel G.S., Dakron M.Z., 2012. Growth performance and carcass composition of rabbits fed on diets of gradual levels of barley grain. *Tropical and Subtropical Agroecosystem* 15, 207-215.
- FAOSTAT., 2010. Food and Agriculture Organization. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>.
- FAOSTAT., 2004. Food and Agriculture Organization. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>.
- Fielding, D., 1991. Rabbits: In: *Tropical Agricultural Series C.T.A/Macmillan Education Ltd. London*, pp. 39-50.
- Fraga MJ., De Blas C., Perez E., Rodriguez J.M., Perez C., Galvez J., 1983. Effects of diet on chemical composition of rabbits slaughtered at fixed body weights. *Journal of Animal Science* 56, 1097-1104.
- Gillespie J.R., 1998. *Animal science*. Albany, N.Y. Delmar Publishers.
- García G., Galvez J.F., De Blas J.C., 1993. Effect of substitution of sugar beet pulp for barley in diets for finishing rabbits on growth performance and on energy and nitrogen efficiency. *Journal Animal Science* 71, 1823-1830.
- García-López J.C., Pro-Martínez A., Becerril-Pérez C.M., Suárez-Oporta M.E., Pinos-Rodríguez J.M., 2006. Technical note: Rabbit meat production under a small scale production system as a source of animal protein in a rural area of Mexico. *Word Rabbit Science* 14, 259-263.
- Ghosh S.K., Das A., Bujarbaruah K.M., Das Asit, Dhiman K.R., Singh N.P., 2008. Effect of breed and season on rabbit production under subtropical climate. *Word Rabbit Science* 16, 29-33.
- Gidenne T., Carabaño R., García J., De Blas C. 2010a. Fibre digestion. In: *The Nutrition of the Rabbit*. 2nd Edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 66-82.
- Gidenne T., García J., Lebas F., Licois D.C., 2010b. Nutrition and feeding strategy: Interactions with pathology. In: *the Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, CAB International, Wallingford Oxon, UK, pp. 179-199.
- Giusti M., Cordiviola C.A., Arauz S., Rule R., 2011. Reseña sobre la producción de conejos. *Veterinaria Cuyana* 6, 7-16.
- Gorinstein S., Vargas O.J.M., Jaramillo N.O., Salas I.A., Ayala A.L.M., Arancibia Avila P., Toledo F., Katrich E., Trakhtenberg S., 2007. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology* 225, 321-328.

- Guemour D., Bannelier C., Dellal A., Gidenne T., 2010. Nutritive value of sun-dried grape pomace, incorporated at a low level in complete feed for the rabbit bred under Magrebian conditions. *Word Rabbit Science* 18, 17-25.
- González Redondo P., Caravaca-Rodríguez F.P., 2007. Producción de conejos de aptitud cárnica. *Sistemas ganaderos en el siglo XXI*. Caravaca-Rodríguez F.P., González-Redondo P. (Coord.). ISBN 978-84-472-0929-3, España, pp. 443-461.
- Grubben G.J.H., Denton O.A., 2004. *Plant resources of tropical Africa 2. Vegetables*. PROTA Foundation, Wageningen; Backhuys, Leiden; CTA, Wageningen.
- Hassan R.A., Ebeid T.A., Abd El-Lateif A.I., Ismail N.B., 2011. Effect of dietary betaine supplementation on growth, carcass and immunity of New Zealand White rabbits under high ambient temperature. *Livestock Science* 135, 103-109.
- Hernández P., Aliaga S., Pla M., Blasco A., 2004. The effect of selection for growth rate and slaughter age on carcass composition and meat quality traits in rabbits. *Journal Animal Science* 82, 3138-3143.
- Hernández P., Gondret F., 2006a. Rabbit meat quality. In: *Recent advances in rabbit sciences* Maertens L., Coudert P. (Eds.). ILVO, Animal Science Unit, Melle, Belgium. pp. 269-290.
- Hernández P., Ariño B., Grimal A., Blasco A., 2006b. Comparison of carcass and meat characteristics of three rabbit lines selected for litter size or growth rate. *Meat Science* 73, 645-650.
- Hernández P., Dalle Zotte, A., 2010. Influence of diet on rabbit meat quality. In: *Nutrition of the rabbit*, 2nd Edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid and University of Nottingham, UK. pp. 163-178.
- Hernández R., Herrerías G., 1998. "Amaranto: Historia y promesa". *Tehuacán: horizonte del Tiempo* 1, 529-545.
- Hussain Z., Satyawan S., Venkateswara C., 2009. Hepatoprotective activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3417-3421.
- Kadi S.A., Guermah H., Bannelier C., Berchiche M., Gidenne T., 2011. Nutritive value of sun dried sulla hay (*Hedysarum flexuosum*) and its effect on performance and carcass characteristics of growing rabbits. *Word Rabbit Science* 19, 151-159.
- Kala A., Prakash J., 2004. Nutrient composition and sensory profile of differently cooked green leafy vegetables. *International Journal of Food Properties* 7, 659-669.
- Kellems R.O., Church D.C., 2006. *Livestock Feeds and feeding*, 5th edition. Pearson Education Inc., New Jersey, U.S.A.
- Lebas F., 2009. Rabbit production in the world, with a special reference to Western Europe. Quantitative estimation and Methods of production. Conference for promotion of rabbit production in Russia. An initiative of the WRSA Russian Branch. Kazan, 30 October 2009. Disponible en: <http://www.cuniculture.info/Docs/Documentation/Publi-Lebas/2000-2009/2009-Lebas-KAZAN-Production-of-Rabbit.pdf>
- Lebas F., Coudert P., Rochambeau H., Thébault R.G., 1996. *Le lapin: élevage et pathologie; (nouvelle version révisée)*. En: *Collection FAO: Production et Sante*

- Animales, no. 19 (French)/FAO, Rome, Italy. Divisione de la Production et de la Sante Animales. pp. 227.
- Lebas F., Jehl N., Juin H., Delmas D., 2000. Influence of the male rabbit castration on meat quality. 2. Physico-chemical and sensory quality. 7th World Rabbit Congress. Valencia, Spain. pp. 599-606.
- Lebas F., Matheron G., 1982. Rabbits. *Livestock Production Science* 9, 235-250.
- Licois D., Wyers M., Coudert P., 2005. Epizootic rabbit enteropathy: experimental transmission and clinical characterization. *Veterinary Research* 36, 601-613.
- Liu H., Zhou D., Tong J., Vaddella V., 2012. Influence of chestnut tannins on welfare, carcass characteristics, meat quality, and lipid oxidation in rabbits under high ambient temperature. *Meat Science* 90, 164-169.
- Linares A., 2004. Comercialización de carne de conejo en el estado Trujillo. Trabajo de Grado, Departamento de Ciencias Agrarias, Universidad de los Andes, Núcleo Rafael Rangel, estado Trujillo, Venezuela. pp. 60
- Marcone M., Jahaniaval F., Aliee H., Kakuda Y., 2003. Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chemistry* 81, 7-12.
- Martínez M., Biglia S., Moya V.J., Blas E., Cervera C., 2006. Nutritive value of dehydrated whole maize plant and its effect on performance and carcass characteristics of rabbits. *Word Rabbit Science* 14, 15-21.
- Matteucci S.D., Pla L., Colma A., 1999. Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 16, 356-370.
- McLean-Meynsse P.E., Hui J., Meynsse J., 1994. Consumer perceptions of, and attitudes toward rabbit meat. *Journal of Agribusiness* 12, 55-67.
- Mendez J., Rial P., Santoma G., 2010. Feed manufacturing. In: *Nutrition of the rabbit*, 2nd Edition. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp. 215-239.
- Maertens L., 1992. Rabbit nutrition and feeding: A review of some recent developments. *Journal of Applied Rabbit Research* 15, 889-890.
- Mertens D.R., 2003. Challenges in measuring insoluble dietary fiber. *Journal Animal Science* 81, 3233-3249.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA), 2014. Sistemas de producción y nutrición animal. Cunicultura. Gobierno de España. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/plataforma-de-conocimiento-para-el-medio-rural-y-pesquero/observatorio-de-tecnologias-probadas/sistemas-prodnut-animal/cunicultura.aspx>
- Montero-Quintero K., Moreno-Rojas R., Molina E., Sánchez-Urdaneta A.B., 2011. Composición química del *Amaranthus dubius*: una alternativa para la alimentación humana y animal. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28, 619-627.
- Mordenti A.L., Sardi L., Bonaldo A., Pizzamiglio V., Brogna N., Cipollini I., Tassinari M., Zaghini G., 2010. Influence of marine algae (*Schizochytrium* spp.) dietary supplementation on doe performance and progeny meat quality. *Livestock Science* 128, 179-184.

- Morros M., Trujillo B., Ponce M., 1990. Descripción del género *Amaranthus* L., con tres nuevos registros para Venezuela y consiguiente clave para las especies. *Ernstia* 58-59-60, 45-51.
- Moura A.S.A.M.T., Kaps M., Vogt D.W., Lamberson W.R., 1997. Two way selection for daily gain and feed conversion in a composite rabbit population. *Journal of Animal Science* 75, 2344-2349.
- Muñoz B., Osechas O., 2000. Comercialización de carne de conejo en la zona Metropolitana de Caracas. Trabajo de Grado, Universidad Yacambú, Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. pp. 75.
- Nama-Medoua G., Oldewage-Theron W.H., 2011. Effect of drying and cooking on nutritional value and antioxidant capacity of morogo (*Amaranthus hybridus*) a traditional leafy vegetable grown in South Africa. *Journal of Food Science and Technology* 46, 6981-6987.
- Nieves D., Rojas E., Terán O., Fuenmayor A., González Y.C., 2005. Aceptabilidad de dietas con follaje de naranjillo, leucaena, morera, maní forrajero, batata y yuca en conejos de engorde. *Revista. UNELLEZ de Ciencia y Tecnología* 23, 19-25.
- Nieves D., Schargel I., Terán O., González C., Silva L., Ly L., 2008. Estudios de procesos digestivos en conejos de engorde alimentados con dietas basadas en follajes tropicales. *Digestibilidad Fecal. Revista Científica, FCV-LUZ* 18, 271-277.
- Nieves D., Silva B., Terán O., González C., 2002. Niveles crecientes de *Leucaena leucocephala* en dietas para conejos de engorde. *Revista científica, FCV-LUZ* 12, 419-421.
- Nieves D., Terán O., Cruz L., Mena M., Gutiérrez F., Ly J., 2011. Digestibilidad de nutrientes en follaje de árnica (*Tithonia diversifolia*) en conejos de engorde. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14, 309-314.
- Njidda A.A., Isidahomen C.E., 2011. Hematological parameters and carcass characteristics of weanling rabbits fed sesame seed meal (*Sesamum indicum*) in a semi-arid region. *Pakistan Veterinary Journal* 31, 35-39.
- Nouel G., Espejo M., Sánchez R., Hevia P., Alvarado H., Brea A., Romero Y., Mejías G., 2003. Consumo y digestibilidad de bloques multinutricionales para conejos, compuestos por tres forrajeras del semiárido comparadas con soya perenne. *Bioagro* 15, 23-30.
- Odhav B., Beekrum S., Akula U., Baijnath H., 2007. Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 430-435.
- Olivares E., Peña E., 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24, 604-611.
- Omami E.N., Hammes P.S., Robbertse P.J., 2006. Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34, 11-22.
- Onifade A.A., Tewe O.O., 1993. Alternative tropical energy feed resources in rabbit diets: growth performance, diet's digestibility and blood composition. *World Rabbit Science* 1, 17-24.

- Ortega L., 1992. Usos y valor nutritivo de los cultivos andinos. Instituto Nacional de Investigación Agraria, Programa Nacional de Cultivos Andinos. INIA, PICA. Puno, Perú. pp. 15-96.
- Osechas D., Becerra-Sánchez L.M., 2006. Producción y mercadeo de carne de conejo en el estado Trujillo, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ* 2, 129-135.
- Ouhayoun J., 1989. La composition corporelle du lapin. Facteurs de variation. *INRA Productions Animales* 2, 215-225.
- Ouhayoun J., Delmas D., 1989. La viande de lapin: composition de la fraction comestible de la carcasse et des morceaux de découpe. *Cuni-Sciences* 5, 1-6.
- Pandhare R., Balakrishnan S., Mohite P., Khanage S., 2012. Antidiabetic and antihyperlipidaemic potential of *Amaranthus viridis* (L.) Merr. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 180-185.
- Partridge G.G., Findlay M., Fordyce R.A., 1986. Fat supplementation of diets for growing rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 16, 109-117.
- Pascual M., Serrano P., Gómez E.A., 2012. Evolución de resultados técnicos 2008-2011 con bdcuni. Evolution of technical results 2008-2011 with the bdcuni Spanish database. XXXVII Symposium de Cunicultura 24-25 de mayo de 2012, Barbastro, España.
- Pásko P., Bartón H., Fořta M., Gwizdz J., 2007. Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by-products (flour, popping cereal). *Roczniki Pastwowego Zakładu Higieny* 58, 35-40.
- Piles M., Blasco A., Pla M., 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science* 54, 347-355.
- Pla M., Pascual M., Ariño B., 2004. Protein, fat and moisture content of retail cuts of rabbit meat evaluated with the NIRS methodology. *World Rabbit Science* 12, 149-158.
- Pla M., Guerrero L., Guardia D., Oliver M.A., Blasco A., 1998. Carcass characteristics and meat quality of rabbit lines selected for different objectives: I. Between lines comparison. *Livestock Production Science* 54, 115-123.
- Paredes-López O., 1994. Amaranth biology, chemistry and technology. CRC Press: Salem, United States. pp. 1-2.
- Peiretti P.G., Gasco L., Brugiapaglia A., Gai F., 2011b. Effects of perilla (*Perilla frutescens* L.) seeds supplementation on performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of rabbits. *Livestock Science* 138, 118-124.
- Peiretti P.G., Masoero G., Meineri G., 2011a. Effects of replacing palm oil with maize oil and *Curcuma longa* supplementation on the performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of the perirenal fat and muscle of growing rabbits. *Animal* 5, 795-801.
- Perez J.M., Gidenne T., Bouvarel I., Arveaux P., Bourdillon A., Briens C., La Naour J., Messenger B., Mirabito L., 2000. Replacement of digestible fibre by starch in the diet of growing rabbits. II. Effects on performances and mortality by diarrhoea. *Annales de Zootechnie* 49, 369-377.
- Piles M., Blasco A., Pla M., 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science* 54, 347-355.

- Piloto J., Mederos C., Acion L., 2004. Uso del Amaranto (*Amaranthus cruentus*) en la alimentación de los cerdos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 9, 1-3.
- Rana J.C., Pradheep K., Yadav S.K., Verma V.D., Sharma P.C., 2007. Durga: A new variety of grain amaranth for cultivation in hill regions. *Indian Farming*, 57, 27-28.
- Repo-Carrasco-Valencia R., Peña J., Kallio H., Salminen S. 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extrude kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science* 49, 219-224.
- Rødbotten M., Kubberød P.L., Øydys U., 2004. A sensory map of the meat universe. Sensory profile of meat from 15 species. *Meat Science* 68, 137-144.
- Rosell J.M., de la Fuente L.F., Badiola J.I., Fernández de Luco D., Casal J., Saco M. 2009. Study of urgent visits to commercial rabbit farms in Spain and Portugal during 1997-2007. *Word Rabbit Science* 17, 127-136.
- Russel L.E., Cromwell G.L., Stahly T.S., 1983. Tryptophan, threonine, isoleucine and methionine supplementation of corn-soybean meal diet for growing pigs. *Journal Animal Science* 56. 11-15.
- Saunders R.M., Becker R., 1984. Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in cereal science and Technology* 6, 357-396.
- Szendró Zs., Dalle Zotte A., 2011. Effect of housing conditions on production and behaviour of growing meatrabbits: A review. *Livestock Science* 137, 296-303.
- Tapia M., 1997. Cultivos andinos sub explotados y su aporte a la alimentación. 2da. Edición. FAO, Oficina Regional para América Latina y el caribe. Santiago, Chile. 273 pp.
- Tejeda S.O., Escalante E.A., Soto G.M., Rodríguez H., Vibrans G.M., Ramírez H.M., 2004. Inhibidores de la germinación en el residuo seco de tallo de amaranto *Revista de la Sociedad Química de México* 48, 118-123.
- Tosi E., Ré E.D., 2003. Amaranth: su aplicación en la alimentación humana. *Applied Agronomy* 82, 15-16.
- Tres A., Nuchi C.D., Magrinyá N., Guardiola F., Bou R., Codony R., 2012. Use of palm-oil by-products in chicken and rabbit feeds: effect on the fatty acid and tocol composition of meat, liver and plasma. *Animal* 6, 1005-1017.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Carabaño R., Xiccato G., 2011. Effect of the increase of dietary starch and soluble fibre on digestive efficiency and growth performance of meat rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 165, 265-277.
- Trocino A., García J., Carabaño R., Xiccato G., 2013a. A meta-analysis on the role of soluble fibre in diets for growing rabbits. *Word Rabbit Science* 21, 1-15
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Tazzoli M., Radaelli G., Xiccato G., 2013b. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: Effects on digestive efficiency and productive traits. *Animal Feed Science and Technology* 180, 73- 82.
- Ty Ch., Sambol P., Borin K., Preston T.R., 2013. Amaranth (*Amanathus* spp.) as replacement for water spinach (*Ipomoea aquatica*) with or without paddy rice on growth performance of rabbits. *Livestock Research for Rural Development*, 25, art. 12. 360. Disponible en <http://www.lrrd.org/lrrd25/1/chha25012.htm>.

- Villafuerte R., Kufner M.B., Delibes M., Moreno S., 1993. Environmental factors influencing the seasonal daily activity of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in a Mediterranean area. *Mammalia* 57, 341-347.
- Volek Z., Marounek M., 2011. Dried chicory root (*Cichorium intybus* L.) as a natural fructan source in rabbit diet: effects on growth performance, digestion and caecal and carcass traits. *Word Rabbit Science* 19, 143-150.
- Volek Z., Volková L., Marounek M., 2013. Effect of a diet containing white lupin hulls (*Lupinus albus* cv. Amiga) on total tract apparent digestibility of nutrients and growth performance of rabbits. *Word Rabbit Science* 21, 17-21.
- Vostrý I., Mach K., Dokoupilová A., Majzlík I., Jakubec V., K. Janda K., 2008. Fattening performance for the hyplus broiler rabbit dependence on the initial fattening body weight at the weaning. *Scientia Agriculturae Bohemica* 39, 278-283.
- Zeferino C.P., Komiyama C.M., Fernandes S., Sartori J.R., Teixeira P.S., Moura A.S.A.M.T., 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7, 518-523.

Anexos



ANEXO 1

Version en formato original de la publicación: “Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. Interciencia 36(5), 386-391, 2011.

EFECTO DE LA ÉPOCA DE RECOLECTA Y ÓRGANO DE LA PLANTA SOBRE EL CONTENIDO DE METALES DE *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Edgar Molina, Pedro González-Redondo, Keyla Montero, Rosa Ferrer, Rafael Moreno-Rojas y Adriana Sánchez-Urdaneta

RESUMEN

El amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) es utilizado como planta forrajera en la alimentación de ovinos, caprinos, porcinos y bovinos, además, de ser reportada como arvense en diversos cultivos comerciales. Se evaluó el contenido de metales en hojas, tallos y panículas de amaranto recolectado en época lluviosa y seca. Las plantas fueron cultivadas en la población de Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela. Se determinó la concentración de Ca, Mg, Zn, Fe,

Cu, Al, Cd, Pb y Hg por espectroscopia de absorción atómica y Na y K por fotometría de llama. Los valores encontrados fueron superiores a los reportados por otros investigadores en la misma y en otras especies de amaranto. Los metales mayoritarios fueron Ca, K, Al, Mg y Fe. Se detectó trazas de Hg y no se evidenció la presencia de Cd y Pb. La acumulación de metales fue heterogénea entre los órganos de la planta y estuvo influenciada por la época de recolecta.

Introducción

El amaranto, bleado o pira, es una planta perteneciente al género *Amaranthus* (familia Amaranthaceae), el cual comprende más de 60 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales (Marcone *et al.*, 2003; Olivares y Peña, 2009). Es una planta con metabolismo fotosintético tipo C₄, con amplia diversidad genética, alta productividad, y se adapta a diferentes condiciones edafoclimáticas, especialmente a suelos secos y altas temperaturas (Omami *et al.*, 2006). Es una especie más importantes a nivel mundial son *A. cruentus*, *A. caudatus* y *A. hypochondriacus*, las cuales son cultivadas en gran escala en China, EEUU, India, México, Perú y algunos países europeos, donde son muy apreciadas por la excelente calidad de sus semillas (Tejeda *et al.*,

2004; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2009).

En Venezuela se encuentran alrededor de 12 especies, siendo las principales *A. dubius*, *A. spinosus* y *A. hybridus* (Acevedo *et al.*, 2007; Carmona, 2007; Olivares y Peña, 2009). Estas son plantas que crecen en forma silvestre y comúnmente se consideran arvenses de varios cultivos de subsistencia, como maíz, sorgo y algunas leguminosas (Matteucci *et al.*, 1999).

Las cualidades nutricionales y características agronómicas de las distintas especies permiten reconocerlas como plantas de potencial interés para ser utilizadas en la industria agroalimentaria. En la alimentación humana se consumen sus semillas como cereal, sus hojas y tallos como verdura; además, se suelen preparar bebidas, tortas, infusiones medicinales, entre otros produc-

tos (Ortega, 1992; Acevedo *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et al.*, 2009). También se le emplea como planta forrajera en alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos y conejos, entre otros (Masoni y Ercali, 1994; Matteucci *et al.*, 1999; Troiani y Ferramola, 2005).

En los últimos años el amaranto ha sido ampliamente estudiado, siendo una de las razones del renovado interés por esta planta su composición y proporción de proteínas; comparable con los cereales. Estudios recientes muestran que las semillas del amaranto tienen un valor nutricional alto, asociado con la cantidad y calidad de sus proteínas, grasas, fibras, minerales y vitaminas; además, posee compuestos bioactivos tales como saponinas, fitoesteroles, escualeno y polifenoles (Paško *et al.*, 2007; Barba de la Rosa *et*

al., 2009; Álvarez-Jubete *et al.*, 2010).

La composición mineral de los alimentos ayuda a predecir su efecto en los consumidores, por el aporte de minerales esenciales y por los efectos tóxicos que puedan generar (Isander y Davis, 1992). La composición mineral de diversas especies de amaranto (Odhav *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009) revela la presencia de macrominerales (Na, Ca, K, Mg y P), microminerales (Fe, Cu, Co, Zn, Mn, Cr y Ni) y metales tóxicos (Pb, Cd, Hg y Al). Las concentraciones de estos minerales varían con la especie, madurez y órgano de la planta; así como las características del suelo y clima de desarrollo (Alfaro *et al.*, 1987; Olivares y Peña, 2009).

Por otro lado, los consumidores reconocen la necesidad de adquirir alimentos con mayor cantidad y calidad de nu-

PALABRAS CLAVE / *Amaranthus dubius* / Época de Recolecta / Metales / Órgano Vegetal /

Recibido: 02/05/2010. Modificado: 06/04/2011. Aceptado: 14/04/2011.

Edgar Molina. Licenciado en Educación –Química– y M.Sc. en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela. Docente Investigador, LUZ, Venezuela. Dirección: Departamento de Química, LUZ. Apartado 526, Maracaibo 4001-A, Zulia, Venezuela. e-mail: molinaed01@gmail.com

Pedro González-Redondo. Doctor. Ingeniero Agrónomo e Ingeniero de Montes, Universidad de Córdoba, España. Profesor, Universidad de Sevilla, España. e-mail: pedro@us.es

Keyla Montero. Licenciada en Bioanálisis y M.Sc. en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, LUZ, Venezuela. Docente Investigadora, LUZ, Venezuela. e-mail: keylamq@gmail.com

Rosa Ferrer. Licenciada en Educación –Química–, LUZ, Venezuela. Doctora en Química Medicinal, Universidad Central de Venezuela. Docente Investigadora, LUZ, Venezuela. e-mail: rosaferrer28@yahoo.com.mx

Rafael Moreno-Rojas. Doctor en Veterinaria, Universidad de Córdoba, España. Catedrático, Universidad de Córdoba, España. e-mail: rafael.moreno@uco.es

Adriana Sánchez-Urdaneta. Ingeniera Agrónoma, LUZ, Venezuela. Doctora en Ciencias –Botánica–, Colegio de Postgraduados, México. Docente Investigadora, LUZ, Venezuela. email: usanchez@fa.luz.edu

EFFECT OF COLLECTION SEASON AND PLANT ORGAN ON THE METAL CONTENT OF *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Edgar Molina, Pedro González-Redondo, Keyla Montero, Rosa Ferrer, Rafael Moreno-Rojas and Adriana Sánchez-Urdaneta

SUMMARY

Amaranth (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) is used as forage in the diet of sheep, goats, pigs and cattle, and is also reported as weed in various commercial crops. Its metal content was evaluated in leaves, stems and panicles of plants collected in the rainy and dry seasons. The plants were grown in the town of Merecure, Acevedo Municipality, Miranda state, Venezuela. The concentration of Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Al, Cd, Pb and Hg

were evaluated by atomic absorption spectroscopy, and Na and K by flame photometry. The values found were higher than those reported in other studies in the same as well as other species of amaranth. The major metals were Ca, K, Al, Mg and Fe. Traces of Hg were detected, while the presence of Cd and Pb was not detected. Metal accumulation differed among plant organs, and was influenced by the collection season when.

EFEITO DA ÉPOCA DE COLHEITA E ORGÃO DA PLANTA SOBRE O CONTEÚDO DE METAIS DE *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.

Edgar Molina, Pedro González-Redondo, Keyla Montero, Rosa Ferrer, Rafael Moreno-Rojas e Adriana Sánchez-Urdaneta

RESUMO

O amaranto (*Amaranthus dubius* Mart. ex Thell.) é utilizado como planta forrageira na alimentação de ovinos, caprinos, porcinos e bovinos, além, de ser relatada como arvense em diversos cultivos comerciais. Avaliou-se o conteúdo metais em folhas, caules e paniculas de amaranto colhido na época de chuva e seca. As plantas foram cultivadas na população de Merecure, município Acevedo, estado Miranda, Venezuela. Determinou-se a concentração de Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Al, Cd,

Pb e Hg por espectroscopia de absorção atômica e Na e K por fotometria da chama. Os valores encontrados foram superiores aos relatados por outros investigadores na mesma e em outras espécies de amaranto. Os metais majoritários foram Ca, K, Al, Mg e Fe. Detectou-se traços de Hg e não se evidenciou a presença de Cd e Pb. A acumulação de metais foi heterogênea entre os órgãos da planta e esteve influenciada pela época de colheita.

trientes, debido a la frecuencia de enfermedades carenciales, especialmente entre los niños (Obiajunwa *et al.*, 2002), por lo cual buscan fuentes alimentarias de fácil acceso y calidad alta (Ozcan y Akbulut, 2009). Por su contenido de minerales y otros nutrientes, el amaranto podría convertirse en alimento alternativo; por ejemplo, su contenido alto de Fe puede disminuir la incidencia de anemias en niños (Hurrell, 1997) o los problemas de crecimiento causados por la deficiencia de Zn (Gibson y Ferguson, 1998). Además, aporta Ca, Mg, Na y K, elementos esenciales en la nutrición (Mahan y Escott-Stump, 2001).

Amaranthus dubius, presenta un rendimiento alto de biomasa (Arellano *et al.*, 2004; Acevedo *et al.*, 2007), y debido a sus características nutricionales y agronómicas fue incluido desde 2005 en el programa de rescate de alimentos ancestrales y considerado especie potencialmente cultiva-

ble (Acevedo *et al.*, 2007).

En el presente estudio se evaluó el efecto de la época de recolecta (lluvia y sequía) y órgano de la planta (hojas, tallos y paniculas) en el contenido de metales en *A. dubius*, los resultados evidencian su potencial para la alimentación humana y animal en Venezuela.

Materiales y Métodos**Selección y procesamiento de las muestras**

Las muestras de *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. fueron obtenidas en una siembra experimental ubicada en la Hacienda El Néctar, en la población de Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela (10°31'38"N, 66°33'16"O). El suelo fue preparado con rastra y fertilizado con abono orgánico (capa vegetal y gallinaza), las semillas se sembraron en surcos, sin riego. Se recolectaron muestras en la época lluviosa (septiembre-noviembre 2007) y en

la época seca (enero-abril 2008), ~80 días después de la siembra. Se separaron hojas, tallos y paniculas. Los órganos de la planta se deshidrataron en estufa (50-60°C durante 40h) con rotación y aireación constante; luego fueron molidos, tamizados con partícula ≤0,5mm (Resh Muhle Dietz, LB1-27) y almacenados en envases de polietileno con tapa hermética, se cubrieron con un saco de tela y se guardaron en estantes de madera a temperaturas de ≤20°C para su análisis posterior.

Métodos analíticos

La humedad fue determinada por el método de AOAC (1995). La concentración de metales en la harina se obtuvo por espectrofotometría de absorción atómica; con excepción de Na y K que se determinaron por fotometría de llama (AOAC, 1995). Las muestras fueron previamente digeridas mediante el uso de sistemas cerrados de alta pre-

sión tipo bombas Parr de 20ml de capacidad. A la muestra húmeda (0,3g) se le adicionaron 5ml de HNO₃ concentrado y se mantuvo en digestión por 5h a 105°C. El residuo fue recolectado y aforado en un matraz de 25ml (solución madre), a partir del cual se obtuvieron diluciones específicas para cada mineral (Okamoto y Fuwa, 1984). Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Ermer 3110, con condiciones específicas de preparación y análisis para cada metal.

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos 2×3, con cuatro repeticiones y tres submuestras. Los factores estudiados fueron la época de recolecta (lluviosa y seca) y partes de la planta (hojas, tallos y paniculas). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y subsecuente comparación

múltiple de medias con la prueba de Tukey para los efectos simples y LS-Means para las interacciones; para ello se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System; 2002-2003, versión 9.1).

Resultados y Discusión

Contenido de metales en los órganos de la planta

Ca, K, Al, Mg y Fe fueron los metales mayoritarios en todos los órganos de la planta evaluados (hojas, tallos y paniculas) en ambas épocas de recolecta, seguidos por Na, Zn y Cu; mientras que el Hg se encontró en muy bajas concentraciones (trazas) y no se detectó la presencia de Cd y Pb.

Las concentraciones mayores de Ca y Mg se encontraron en las hojas en época seca y las menores en los tallos para la misma época. En el caso de Zn y Cu los mayores valores se encontraron en las hojas en época lluviosa y los menores en los tallos en época seca. En cuanto al contenido de Na y Al, éste fue mayor en los tallos en época lluviosa y menor en las paniculas en la misma época, al igual que en las hojas en época seca, respectivamente. El K fue mayor en los tallos y menor en las hojas en época seca, mientras que el Fe fue mayor en las hojas y menor en los tallos en época lluviosa y el Hg fue mayor en las hojas en época lluviosa y menor en el mismo órgano en época seca (Tabla I).

Los contenidos de Ca, Mg y Na en las hojas fueron similares en ambas épocas de recolecta, con disminuciones >50% de la época lluviosa a la seca en Zn y Hg (62,29 y 59,26%, respectivamente) y disminuciones entre ~20 y 50% para Cu, K, Al y Fe (23,72; 25,80; 33,83 y 47,98%, respectivamente). En los tallos se mantuvieron contenidos similares de Fe, Zn y Hg en

TABLA I
CONTENIDO DE METALES (mg/100g DE BIOMASA SECA) EN HOJAS, TALLOS Y PANÍCULAS DE *Amaranthus dubius* EN MEREURE, MUNICIPIO ACEVEDO, ESTADO MIRANDA, VENEZUELA, RECOLECTADAS EN ÉPOCA LLUVIOSA Y SECA

	Hoja		Tallo		Panicula	
	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
Ca	3014,65 ±1534,28	3161,75 ±880,12	1570,75 ±371,31	1018,31 ±234,95	1070,39 ±204,96	2048,63 ±1676,17
Mg	661,45 ±295,80	686,22 ±196,19	646,83 ±407,73	263,24 ±56,66	394,24 ±78,07	642,21 ±444,29
Na	72,77 ±15,80	71,41 ±20,67	74,00 ±12,30	34,84 ±13,48	22,57 ±14,83	54,60 ±22,22
K	3327,27 ±864,54	2468,89 ±565,70	4131,97 ±603,77	4237,07 ±727,48	2651,89 ±509,61	2836,82 ±657,78
Fe	96,15 ±26,89	50,02 ±26,55	41,36 ±14,16	42,13 ±16,54	59,87 ±20,92	64,05 ±21,76
Zn	21,37 ±14,37	6,47 ±1,48	4,47 ±1,23	4,22 ±1,97	6,49 ±0,86	4,65 ±0,81
Cu	2,15 ±0,82	1,64 ±0,54	1,50 ±0,24	1,31 ±0,18	1,67 ±0,73	1,63 ±0,75
Al	234,92 ±47,25	155,44 ±54,90	247,40 ±16,88	184,32 ±53,47	206,43 ±15,27	192,16 ±56,35
Hg	0,54 ±0,44	0,22 ±0,33	0,35 ±0,15	0,30 ±0,29	0,22 ±0,34	0,25 ±0,44
Cd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Pb	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd

Valores promedios de cuatro repeticiones ± desviación estándar. Nd: no se detectó la presencia de Pb y Cd.

ambas épocas de recolecta, con disminuciones en las concentraciones de Mg, Na, Ca, Al y Cu entre 60 y 12% de la época lluviosa a la seca (59,30; 52,92; 35,17; 25,50 y 12,67%, respectivamente). En el caso de las paniculas, fueron similares los contenidos de Cu y Hg tanto en la época lluviosa como en la seca; los contenidos de Na, Ca, Mg, Fe y K incrementaron de la recolecta en época lluviosa a la de época seca (141,91; 91,39; 62,90; 6,98 y 6,97%, respectivamente), mientras que los contenidos de Zn y Al disminuyeron en las paniculas recolectadas durante la época seca (28,35 y 6,91%, respectivamente).

El contenido de Ca en la recolecta de la época lluviosa fue 1,92 y 2,82 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y paniculas, respectivamente, y 1,47 veces mayor en las paniculas que en los tallos. En la época seca fue 3,10 y 1,54 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y paniculas, respectivamente, y 2,01 veces mayor en las paniculas que en los tallos. El contenido de Mg en la época lluviosa fue similar para hojas y tallos, pero fue 1,68 y 1,64 veces mayor en las hojas y tallos respecto a las paniculas; en la época seca fue 2,61 veces mayor en las hojas que en los tallos, similar entre las hojas y paniculas, pero 2,44 veces mayor en las paniculas

con respecto a los tallos. Con respecto al contenido de Na, fue similar para hojas y tallos en época lluviosa y en las hojas fue 3,22 veces mayor que en las paniculas; en la época seca fue 2,05 veces mayor en las hojas que en los tallos y 1,31 veces mayor en las hojas que en las paniculas y 1,57 veces mayor en las paniculas con respecto a los tallos. El contenido de K fue 1,24 y 1,56 veces mayor en los tallos que en las hojas y paniculas, respectivamente, para la época lluviosa y 1,25 veces mayor en las hojas al compararla con las paniculas; en la época seca fue 1,72 y 1,49 veces mayor en los tallos que en las hojas y paniculas, respectivamente, pero fue similar entre las hojas y las paniculas. El contenido de Fe fue 2,32 y 1,61 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y paniculas en el época lluviosa, mientras que en la época seca fue 1,19 mayor en las hojas; 1,28 y 1,52 veces mayor en las paniculas con respecto a las hojas y tallos, respectivamente. El contenido de Zn fue mayor en las hojas tanto en la época lluviosa como seca siendo 4,78; 1,53; 3,29 y 1,39 veces mayor en las hojas con respecto a los tallos y paniculas en época lluviosa y seca, respectivamente; las paniculas tuvieron 1,45 veces más Zn que los tallos en la época lluviosa, con valores similares en época

seca. Para las hojas, tallos y paniculas los contenidos de Cu, Al y Hg fueron similares en época lluviosa y seca, con excepción del contenido de Cu y Hg que fueron superiores en las hojas en época lluviosa (Tabla I).

Esto demostró que los metales se acumularon en los órganos de la planta en ambas épocas de recolecta, sin mostrar una tendencia definida, lo cual podría estar influenciado por la naturaleza del metal, los elementos contenidos y su movilidad en el suelo, los mecanismos fisiológicos propios de la planta y las condiciones climáticas (Srikumar, 1993; Martin de Troiani *et al.*, 2005).

Los contenidos de metales de *A. dubius* (Tabla I) obtenidos fueron superiores a la mayoría de los reportados por otros autores (Tabla II), inclusive de muestras de la misma especie recolectadas en Venezuela (Acevedo *et al.*, 2007; Olivares y Peña, 2009). Por el contrario, fueron inferiores a los reportados para la misma especie recolectada en Sudáfrica y en las especies *A. spinosus* y *A. hypocondriacus* (Tabla II).

El contenido de Fe se encontró en mayor proporción que el Na en la mayoría de las muestras analizadas. Este hallazgo es relevante por la importancia del Fe en la dieta diaria, cuyos requerimientos en un adulto han sido establecidos en lmg/

día (Bothwell *et al.*, 1989). Debido a su alta concentración, puede considerarse al *A. dubius* una buena fuente de Fe en la alimentación.

El bajo contenido de Hg y la ausencia de Cd y Pb podría ser un indicador importante de la baja toxicidad del vegetal, lo cual difirió de lo reportado por Olivares y Peña (2009) al demostrar la presencia de Cd y Pb en *A. dubius* y *A. hybridus* recolectadas en varias zonas de Venezuela; en ese caso las altas concentraciones fueron

atribuidas al contenido de estos minerales en el suelo y a la absorción desde el aire; debido a que la recolección de las muestras se realizó en zonas agrícolas pobladas. Se ha reportado que las Amaranthaceae actúan como fitoremediadores de suelos contaminados con metales pesados, debido a su capacidad de adaptarse y sobrevivir en estas condiciones (Del Río *et al.*, 2002; Chuniñall *et al.*, 2005). Esta característica de la planta ha sido considerada beneficiosa desde el punto de vista ambiental, pero representa un peligro potencial para los consumidores. Chan y Corke (2002) y Nabulo *et al.* (2006) reportaron la presencia de Pb, Cd y Zn en *A. dubius* silvestre de varias localidades de Uganda; igualmente Del Río *et al.* (2002) reportaron la presencia de estos metales pesados en muestras de *A. blitoides*. En ambos casos los valores fueron superiores a los encontrados en el presente estudio. Este hallazgo es de interés debido a que demuestra la necesidad de cultivar el amaranto en suelos adecuados para evitar

TABLA II
CONTENIDO DE METALES (mg/100g DE BIOMASA SECA)
EN HOJAS DE DIVERSAS ESPECIES DE AMARANTO

Especies	Ca	Mg	Na	K	Fe	Zn	Cu
<i>Amaranthus p.</i> (1)	50	17	5,70	190	2,1	0,075	nd
<i>Amaranthus viridis</i> (2)	150	32	56	670	5,40	1,20	0,22
<i>Amaranthus hybridus</i> (3)	69,9	69,40	84,8	68,9	24,50	25,1	nd
<i>Amaranthus tricolor</i> (4)	239	253	84	433	15,01	0,60	0,09
<i>Amaranthus cruentus</i> (5)	200	250	380	370	40	90	-
<i>Amaranthus dubius</i> (6)	1686	806	347	-	25	56	3
<i>Amaranthus spinosus</i> (7)	3931	1166	393	-	32	15	3
<i>Amaranthus hipocondriacus</i> (8)	1900	590	90	5690	-	-	-

1: Srikumar (1993), 2: Guil *et al.* (1998), 3: Aletor *et al.* (2002), 4: Gupta *et al.* (2005), 5: Fasuyi (2007), 6 y 7: Odhav *et al.* (2007), 8: Rezaei *et al.* (2009). Los datos originales en 1, 2, 3, 5 y 8 fueron transformados para expresarlos en mg/100g de biomasa seca. nd: no detectado.

la presencia de altos niveles de metales pesados en sus tejidos, lo cual es perjudicial para los consumidores.

El contenido relativamente alto de Al en las muestras analizadas fue consistente con

lo reportado por Olivares *et al.* (2002), quienes indicaron que los arvenses tendieron a acumular una mayor proporción de Zn, Fe y Al con respecto a las demás plantas y siguieron un patrón similar a las plantas hiperacumuladoras. Reeves y Baker (2000) y Peralta-Videa (2002) reportaron que el Al se encontró en vegetales en una mayor o menor proporción de acuerdo a las condiciones generales del suelo. El contenido de Al en alimentos es un dato de interés toxicológico, debido a su posible participación en la etiología de ciertas enfermedades neurodegenerativas (Pennington y Shoen, 1995).

Efecto de interacción época de recolecta-órgano de la planta en el contenido de metales

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas ($P < 0,01$; $P < 0,0001$; $P < 0,003$ y $P < 0,002$, respectivamente) por efecto de la interacción entre la época de recolecta y los órganos de la planta sobre el contenido de Mg, Na, Fe y Zn (Figura 1).

El Mg se presentó en mayor concentración en las hojas en época seca

sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) con los tallos para la misma época de recolecta y con las hojas y las paniculas en la época lluviosa, pero disminuyó significativamente en los tallos de la época lluviosa respecto a la época seca y aumentó en las paniculas en proporción comparable a las hojas en la época seca (Figura 1a).

El Na (Figuras 1b), se presentó en mayor cantidad en los tallos en la época lluviosa sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) al compararlo con las hojas en ambas épocas de recolecta. El contenido de Na en las paniculas aumentó significativamente de la época lluviosa a la seca y en los tallos disminuyó en una proporción similar (Figura 1b).

El Na y el Mg son minerales altamente solubles, al igual que otros minerales se concentran principalmente en las hojas durante la fase de crecimiento, y generalmente su acumulación es independiente de la disponibilidad de agua (Nilsen y Orcutt, 1996). Las diferencias que se observaron en la concentración de Na y Mg entre tallos y paniculas podrían explicarse por la redistribución de estos minerales en estos órganos debido a su alta movilidad, lo que favoreció a las paniculas por ser un órgano en crecimiento y maduración (Guardiola y García, 1990).

El Fe se presentó en mayor concentración en las hojas en la época lluviosa, seguidas por las paniculas y los tallos, mientras que en la época seca los mayores valores correspondieron a las paniculas, seguidas por las hojas y los tallos. El contenido de Fe en las hojas disminuyó significativamente ($P < 0,05$) de la época lluviosa a la seca; mientras que los tallos y las paniculas no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en ambas épocas de recolecta (Fi-

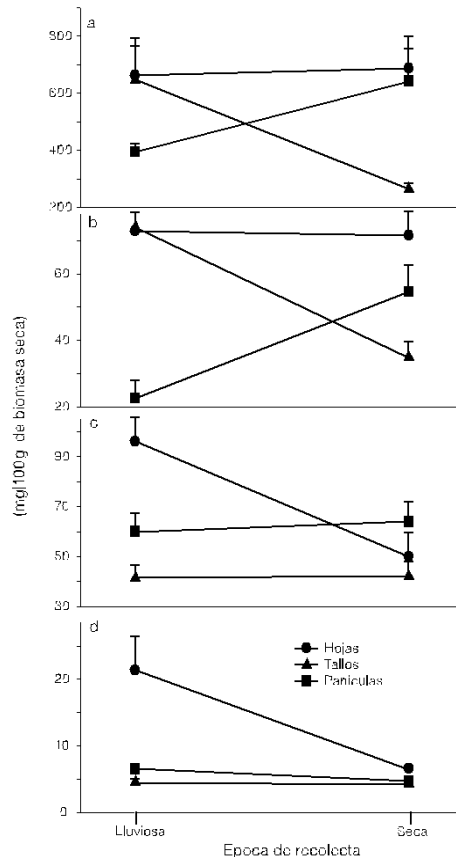


Figura 1. Contenidos de Mg(a), Na(b), Fe(c) y Zn(d) en mg/100g de biomasa seca, en hojas, tallos y paniculas de *Amaranthus dubius*.

día (Bothwell *et al.*, 1989). Debido a su alta concentración, puede considerarse al *A. dubius* una buena fuente de Fe en la alimentación.

El bajo contenido de Hg y la ausencia de Cd y Pb podría ser un indicador importante de la baja toxicidad del vegetal, lo cual difirió de lo reportado por Olivares y Peña (2009) al demostrar la presencia de Cd y Pb en *A. dubius* y *A. hybridus* recolectadas en varias zonas de Venezuela; en ese caso las altas concentraciones fueron

atribuidas al contenido de estos minerales en el suelo y a la absorción desde el aire; debido a que la recolección de las muestras se realizó en zonas agrícolas pobladas. Se ha reportado que las Amaranthaceae actúan como fitoremediadores de suelos contaminados con metales pesados, debido a su capacidad de adaptarse y sobrevivir en estas condiciones (Del Río *et al.*, 2002; Chumilall *et al.*, 2005). Esta característica de la planta ha sido considerada beneficiosa desde el punto de vista ambiental, pero representa un peligro potencial para los consumidores. Chan y Corke (2002) y Nabulo *et al.* (2006) reportaron la presencia de Pb, Cd y Zn en *A. dubius* silvestre de varias localidades de Uganda; igualmente Del Río *et al.* (2002) reportaron la presencia de estos metales pesados en muestras de *A. blitoides*. En ambos casos los valores fueron superiores a los encontrados en el presente estudio. Este hallazgo es de interés debido a que demuestra la necesidad de cultivar el amaranto en suelos adecuados para evitar

TABLA II
CONTENIDO DE METALES (mg/100g DE BIOMASA SECA)
EN HOJAS DE DIVERSAS ESPECIES DE AMARANTO

Especies	Ca	Mg	Na	K	Fe	Zn	Cu
<i>Amaranthus p.</i> (1)	50	17	5,70	190	2,1	0,075	nd
<i>Amaranthus viridis</i> (2)	150	32	56	670	5,40	1,20	0,22
<i>Amaranthus hybridus</i> (3)	69,9	69,40	84,8	68,9	24,50	25,1	nd
<i>Amaranthus tricolor</i> (4)	239	253	84	433	15,01	0,60	0,09
<i>Amaranthus cruentus</i> (5)	200	250	380	370	40	90	-
<i>Amaranthus dubius</i> (6)	1686	806	347	-	25	56	3
<i>Amaranthus spinosus</i> (7)	3931	1166	393	-	32	15	3
<i>Amaranthus hipocondriacus</i> (8)	1900	590	90	5690	-	-	-

1: Srikumar (1993), 2: Guil *et al.* (1998), 3: Aletor *et al.* (2002), 4: Gupta *et al.* (2005), 5: Fasuyi (2007), 6 y 7: Odhav *et al.* (2007), 8: Rezaei *et al.* (2009). Los datos originales en 1, 2, 3, 5 y 8 fueron transformados para expresarlos en mg/100g de biomasa seca. nd: no detectado.

la presencia de altos niveles de metales pesados en sus tejidos, lo cual es perjudicial para los consumidores.

El contenido relativamente alto de Al en las muestras analizadas fue consistente con

lo reportado por Olivares *et al.* (2002), quienes indicaron que los arvenses tendieron a acumular una mayor proporción de Zn, Fe y Al con respecto a las demás plantas y siguieron un patrón similar a las plantas hiperacumuladoras. Reeves y Baker (2000) y Peralta-Videa (2002) reportaron que el Al se encontró en vegetales en una mayor o menor proporción de acuerdo a las condiciones generales del suelo. El contenido de Al en alimentos es un dato de interés toxicológico, debido a su posible participación en la etiología de ciertas enfermedades neurodegenerativas (Pennington y Shoen, 1995).

Efecto de interacción época de recolección-órgano de la planta en el contenido de metales

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas ($P < 0,01$; $P < 0,0001$; $P < 0,003$ y $P < 0,002$, respectivamente) por efecto de la interacción entre la época de recolección y los órganos de la planta sobre el contenido de Mg, Na, Fe y Zn (Figura 1).

El Mg se presentó en mayor concentración en las hojas en época seca

sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) con los tallos para la misma época de recolección y con las hojas y las paniculas en la época lluviosa, pero disminuyó significativamente en los tallos de la época lluviosa respecto a la época seca y aumentó en las paniculas en proporción comparable a las hojas en la época seca (Figura 1a).

El Na (Figuras 1b), se presentó en mayor cantidad en los tallos en la época lluviosa sin diferencias estadísticas ($P > 0,05$) al compararlo con las hojas en ambas épocas de recolección. El contenido de Na en las paniculas aumentó significativamente de la época lluviosa a la seca y en los tallos disminuyó en una proporción similar (Figura 1b).

El Na y el Mg son minerales altamente solubles, al igual que otros minerales se concentran principalmente en las hojas durante la fase de crecimiento, y generalmente su acumulación es independiente de la disponibilidad de agua (Nilsen y Orcutt, 1996). Las diferencias que se observaron en la concentración de Na y Mg entre tallos y paniculas podrían explicarse por la redistribución de estos minerales en estos órganos debido a su alta movilidad, lo que favoreció a las paniculas por ser un órgano en crecimiento y maduración (Guardiola y García, 1990).

El Fe se presentó en mayor concentración en las hojas en la época lluviosa, seguidas por las paniculas y los tallos, mientras que en la época seca los mayores valores correspondieron a las paniculas, seguidas por las hojas y los tallos. El contenido de Fe en las hojas disminuyó significativamente ($P < 0,05$) de la época lluviosa a la seca; mientras que los tallos y las paniculas no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en ambas épocas de recolección (Fi-

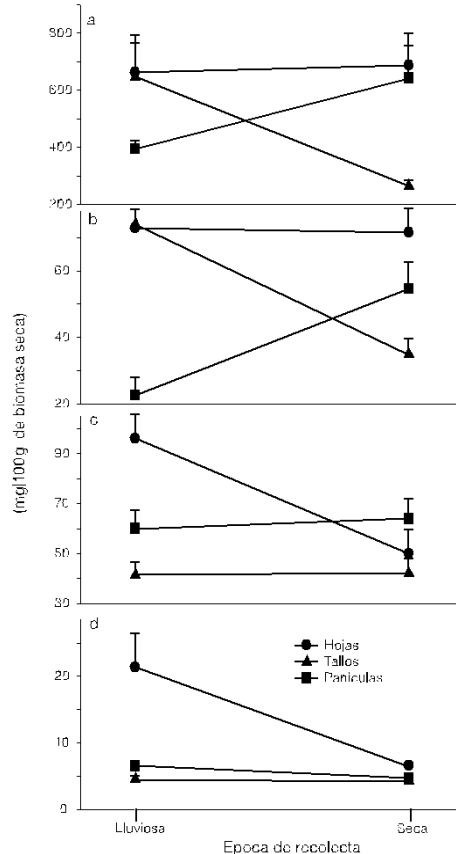


Figura 1. Contenidos de Mg(a), Na(b), Fe(c) y Zn(d). en mg/100g de biomasa seca, en hojas, tallos y paniculas de *Amaranthus dubius*.

gura 1c). El Fe es un mineral que se acumuló en las hojas durante la época de crecimiento y su concentración tendió a incrementar a mayor disponibilidad de humedad; por lo tanto, se encontró en mayor proporción durante la época lluviosa. Esto a su vez pudo verse potenciado por su poca movilidad hacia otros órganos de la planta (Guardiola y García, 1990; Salibury *et al.*, 1994).

El Zn se presentó en mayor concentración en las hojas en época lluviosa, y disminuyó significativamente en la época seca. Las paniculas y los tallos tuvieron contenido similar de Zn ($P > 0,05$) en ambas épocas de recolecta (Figura 1d), lo cual estuvo determinado por su movilidad intermedia entre órganos de la planta (Salibury *et al.*, 1994; Nilsen y Orcutt, 1996).

Efecto de la época de recolecta y órgano de la planta sobre el contenido de metales

El análisis estadístico evidenció diferencias ($P < 0,0002$) por efecto de la época de recolecta en el contenido de Al (Figura 2) y diferencias ($P < 0,0001$) por efecto órgano de la planta sobre el contenido de Ca y K (Figuras 3a y 3b). El resto de los metales analizadas no presentaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$).

El contenido de Al fue 1,30 veces mayor en la época lluviosa que en la seca, lo que implicó una disminución de 22,77% (Figura 2). La disponibilidad de agua favoreció la absorción del mineral debido a que incrementó su solubilidad en el suelo (Filho *et al.*, 1992; Nilsen y Orcutt, 1996).

La concentración del Ca fue 1,98 y 2,39 veces mayor en las hojas con respecto a los paniculas y a los tallos, respectivamente, en los que no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$; Figura 3a). Esto podría deberse a que el Ca, por formar parte de la pared celular, presentó una translocación muy baja desde las hojas maduras hacia otros órganos de la planta; por tanto los frutos,

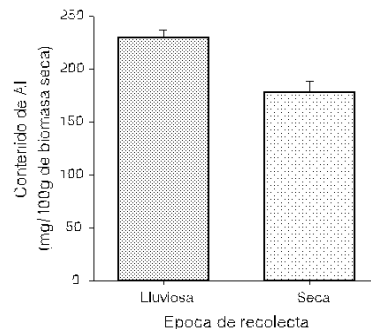


Figura 2. Contenido de Al en mg/100g de biomasa seca de *Amaranthus dubius* en época lluviosa y seca.

hojas jóvenes o partes terminales de las plantas suelen ser bajos en Ca (Underwood y Suttle, 1999).

La concentración del K fue 1,44 y 1,52 veces mayor en los tallos con respecto a hojas y paniculas, respectivamente, en las que no se observaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$) (Figura 3b). Se ha reportado que debido a su alta solubilidad el K se transfiere fácilmente hacia los distintos órganos de la planta después que se alcanza la madurez fisiológica, por lo cual no suele acumularse en las hojas (Guardiola y García, 1990).

Conclusiones

Los resultados obtenidos confirman que el *Amaranthus dubius* cultivado representa una fuente de macro- y micronutrientes que pudieran ser aprovechados para la alimentación humana y animal; lo cual está potenciado por su ausencia o baja concentración de metales pesados.

Los metales se acumularon en distintas concentraciones en los diversos órganos de la planta estu-

diados, en ambas épocas de recolecta. Esto podría deberse a la propia naturaleza del metal, los elementos minerales y su movilidad en el suelo, los mecanismos fisiológicos propios de la planta y las condiciones edafoclimáticas en las cuales se realizó el cultivo.

La concentración de Ca y K fue afectado únicamente por el órgano de la planta estudiada (hojas, tallos y paniculas); además, el contenido de Al fue influenciado por la época de recolecta.

El contenido de micronutrientes (Mg, Fe, Na y Zn) en *A. dubius* difirió según el órgano de la planta y la época de recolecta. En general, las hojas y paniculas recolectadas durante el periodo lluvioso presentaron los mayores contenidos, lo cual sugiere que estas partes de la planta constituyen una fuente importante de minerales y su consumo podría contribuir a

prevenir y mejorar enfermedades como la osteoporosis, osteomalacia y anemias ferropénicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia, Venezuela (CONDES) por el financiamiento de este estudio (proyectos 0800-08 y 0800-01) y a la Fundación para el Desarrollo Endógeno de Caracas, Venezuela (FUNDECA) por permitir la toma de muestras.

REFERENCIAS

- Acevedo I, García O, Acevedo I, Perdomo C (2007) Valor nutricional de bledo (*Amaranthus* spp.) identificado en el municipio Morán, estado Lara. *Agrochimica* 4: 77-93.
- Aletor O, Oshodi AA, Ipinmoroti K (2002) Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. *Food Chem.* 78: 63-68.
- Alfaro MA, Martínez A, Ramírez R, Bressani R (1987) Yield and chemical composition of the vegetative parts of the amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) at different physiological stages. *Arch. Latinoam. Nutr.* 37: 108-121.
- Álvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E (2010) Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chem.* 119: 770-778.
- AOAC (1995) *Official Methods of Analysis*. Methods 925.09, 923.03. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, EEUU.
- Arellano M, Albarracín G, Arce S, Mucciarelli S (2004) Estudio comparativo de hojas de *Beta vulgaris* con *Amaranthus dubius* Mart ex Thell. *Phyton* 1: 193-197.
- Barba de la Rosa A, Fomsgaard I, Laursen B, Mortensen A, Olvera-Martínez L, Silva-Sánchez C, Mendoza-Herrera C, González-Castañeda J, De León-Rodríguez A (2009) Amaranth

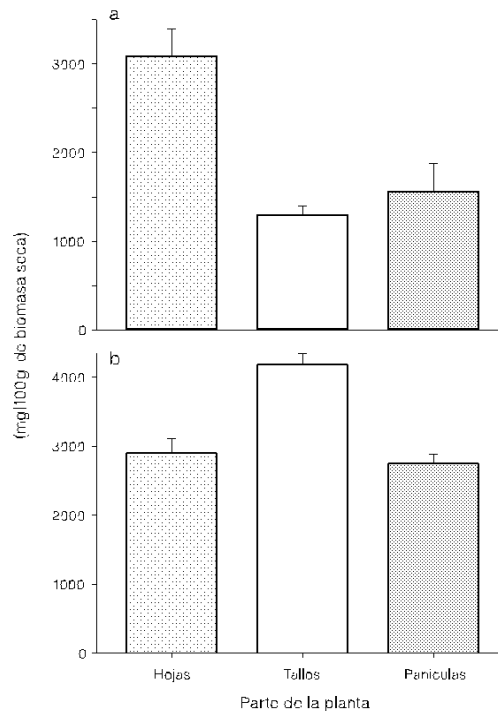


Figura 3. Contenidos de Ca (a) y K (b) en mg/100g de biomasa seca, en hojas, tallos y paniculas de *Amaranthus dubius*.

- (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *J. Cereal Sci.* 49: 117-121.
- Bothwell TH, Baynes RD, MacFarland BJ, Macphail AP (1989) Nutritional requirement and food iron adsorption. *J. Int. Med.* 226: 357-365.
- Carmona W (2007) Las especies del género *Amaranthus* (Amaranthaceae) en Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 24: 190-195.
- Chan ASM, Corke H (2002) Characterization of starch in 10 genotypes of three *Amaranthus* species. En *2002 Annual Meeting and Food Expo*. Anaheim, CA, EEUU.
- Chunilall V, Kindness A, Jonnal SB (2005) Heavy metal uptake by two edible *Amaranthus* herbs grown on soils contaminated with lead, mercury, cadmium, and nickel. *J. Env. Sci. Health* 40: 375-384.
- Del Río M, Fonta R, Almela C, Velez D, Montoro R, De Haro A (2002) A heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar river area after the toxic spill of the Aznalcöllar mine. *J. Biotechnol.* 98: 125-137.
- Fasuyi AO (2007) Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (*Telfairia occidentalis*, *Amaranthus cruentus* and *Talinum triangulare*) as sole dietary protein sources in rat assay. *Food Chem.* 103: 757-765.
- Filho AP, Dutra S, Serrao EA (1992) Productividade estacional e composicao química de *Brachiaria humidicola* e pastagem nativa de Campo Cerrado do Estado do Amapá, Brasil. *Past. Trop.* 14: 11-16.
- Gibson RS, Ferguson EL (1998) Nutrition intervention strategies to combat zinc deficiency in developing countries. *Nutr. Res. Rev.* 11: 115-131.
- Guardiola JL, García A (1990) *Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte*. Síntesis. Madrid, España. 440 pp.
- Guil JL, Giménez JJ, Torija ME (1998) Mineral Nutrient Composition of Edible Wild Plants. *J. Food Comp. and Anal.* 11: 322-328.
- Gupta SH, Lakshmi A, Manjunathb M, Prakash J (2005) Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *Food Sci. Technol.* 38: 339-345.
- Hurrell RF (1997) Bioavailability of iron. *Eur. J. Clin. Nutr.* 51: 4-8.
- Iskander DR, Davis BA (1992) Mineral and trace element content in bread. *Food Chem.* 45: 269-277.
- Mahan LK, Escott-Stump S (2001) *Nutrición y Dietoterapia de Krauser*. 10ª ed. Interamericana McGraw-Hill. Madrid, España. 1274 pp.
- Marcone MF, Jahaniaval F, Aliee H, Kakuda Y (2003) Chemical characterization of *Achyranthes bidentata* seed. *Food Chem.* 81: 7-12.
- Martin de Troiani R, Sánchez T, Anton de Ferramola L (2005) Incidencia de la fertilización en amaranto zona semiárida pampeana (Argentina). *Rev. Fac. Cs. Agr. Univ. Nac. Cuyo* 37: 65-71.
- Masoni A, Ercali L (1994) Influencia de la época de cosecha sobre el rendimiento de concentrado de proteína foliar de amaranto. *El amaranto y su potencial* 1: 17-23.
- Matteucci SD, Pla L, Colma A (1999) Recolección sistemática de germoplasmas de *Amaranthus* spp. en ecosistemas secos del estado Falcón, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 16: 356-370.
- Nabulo G, Oryem-Origab H, Diamond M (2006) Assessment of lead, cadmium, and zinc contamination of roadside soils, surface films, and vegetables in Kampala City, Uganda. *Env. Res.* 10: 42-52.
- Nilsen T, Orcutt DM (1996) *Physiology of Plants under Stress. Abiotic Factors*. Wiley. Nueva York, EEUU. 689 pp.
- Obiajunwa EI, Adebajo AC, Omobuwajo OR (2002) Essential and trace element contents of some Nigerian medicinal plants. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 252: 473-476.
- Odhav B, Beekrum S, Akula U, Bajjnath H (2007) Preliminary assessment of nutritional value traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *J. Food Comp. Anal.* 20: 430-435.
- Okamoto K, Fuwa K (1984) Low contamination digestion bomb method using teflon double vessel for biological materials. *Anal. Chem.* 56: 1750-1760.
- Olivares E, Peña E (2009) Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia* 24: 604-611.
- Olivares E, Peña E, Aguiar G (2002) Nutrición mineral y estrés oxidativo por metales en espinaca y lechuga, en comparación con dos malezas asociadas, en cultivos semi-urbanos. *Interciencia* 27: 454-464.
- Omami EN, Hammes PS, Robbertse PJ (2006) Differences in salinity tolerance for growth and water-use efficiency in some amaranth (*Amaranthus* spp.) genotypes. *New Zeal. J. Crop Hort. Sci.* 34: 11-22.
- Ortega L (1992) Usos y valor nutritivo de los cultivos andinos. *Programa de Investigación de Cultivos Andinos*. Perú. pp. 250-265.
- Ozcan MM, Akbulut M (2007) Estimation of minerals, nitrate and nitrite contents of medicinal and aromatic plants used as spices, condiments and herbal tea. *Food Chem.* 106: 852-858.
- Paško P, Barton H, Folta M, Gwizdz J (2007) Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by products (flour, popping, cereal). *Rocz. Państw. Zakł. Hig.* 58: 35-40.
- Pennington JAT, Shoen SA (1995) Estimates of dietary exposure to aluminium in foodstuffs. *Food Addit. Contam.* 12: 119-128.
- Peralta-Videa JR, Gardea-Torresday JL, Gómez E, Tiemann KJ, Parsons JG, Carrillo G (2002) Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc at different pHs upon alfalfagrowth and heavy metal uptake. *Env. Pollut.* 119: 291-301.
- Reeves RA, Baker JM (2000) Metal accumulating plants. En Raskin I, Ensley BD (Eds.) *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. Wiley. Nueva York, EEUU. pp. 193-229.
- Repo-Carrasco-Valencia R, Peña J, Kallio H, Salminen S (2009) Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extrude kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *J. Cereal Sci.* 49: 219-224.
- Rezaei J, Rouzbehan Y, Fazaeli H (2009) Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151: 153-160.
- Salisbury FB, Ross CW (1994) *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericano. México, DF. 759 pp.
- Srikumar TS (1993) The mineral and trace element composition of vegetables, pulses and cereals of southern India. *Food Chem.* 46: 163-167.
- SAS (2002-2003) *Statistical Analysis System*. Version 9.1. Institute Inc, Cary NC, EEUU.
- Tejada SO, Escalante EA, Soto GM, Rodríguez H, Vibrans GM, Ramirez HM (2004) Inhibidores de la germinación en el residuo seco de tallo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). *Rev. Soc. Quím. Méx.* 48: 118-123.
- Troiani RM, Ferramola L (2005) Elaboración y calidad de cubos compactados realizados con biomasa de amaranto. *Rev. Des. Rural Coop. Agr.* 9: 103-112.
- Underwood J, Suttle F (1999) *The Detection and Correction of Mineral Imbalances. The Mineral Nutrition of Livestock*. 3ª ed. CABI. Wallingford, RU. 600 pp.