

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo de Souza
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista
(Organizadores)



Investigación, tecnología e innovación
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

3

Atena
Editora
Ano 2022

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo de Souza
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista
(Organizadores)



Investigación, tecnología e innovación
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

3

Atena
Editora
Ano 2022

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremona

Daphynny Pamplona

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição-Não-Comercial-Não-Derivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Universidade do Estado de Mato Grosso

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria



Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^o Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^o Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^o Dr^a Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^o Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^o Dr^a Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas



Investigación, tecnología e innovación en ciencias agrícolas 3

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo De Sousa
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

l62 Investigación, tecnología e innovación en ciencias agrícolas 3 / Organizadores Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos, Luiz Alberto Melo De Sousa, Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografía
ISBN 978-65-258-0454-5
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.545220208>

1. Ciências agrícolas. I. Silva-Matos, Raissa Rachel Salustriano da (Organizadora). II. Sousa, Luiz Alberto Melo De (Organizador). III. Evangelista, Raimundo Cleidson Oliveira (Organizador). IV. Título.

CDD 338.1

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br



DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.



DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



APRESENTAÇÃO

O processo que decorre sobre a investigação científica ocorre concomitantemente a necessidade de solucionar problemas e encontrar respostas para métodos que necessitam ser validados junto a fenômenos que requerem explicações assertivas e com bases sólidas. Desta forma, a importância do método científico está assegurada à uma constante carência de respostas e confirmações não sustentadas apenas pelo empirismo.

Existe uma grande necessidade de soluções que possam solucionar a demanda por alimentos, criada com o crescente aumento populacional. Uma das principais preocupações para os próximos anos será aumentar a produtividade sem aumentar o espaço produzido, tornando a agricultura mais sustentável e isto será fruto de investigações científicas, por exemplo.

Por isso, é inevitável notar que grandes são os desafios para tornar a agricultura mais pujante e eficaz, respeitando o meio ambiente e conseguindo suprir as demandas da sociedade. Para isso, há muito tempo pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de colaborar para o aprimoramento das atividades agrícolas, em busca de um equilíbrio constante entre os elos.

Desta forma, nota-se a importância do questionamento dentro do processo investigativo. As respostas obtidas através destes métodos são de suma importância, pois, muitas vezes, acabam por derivar elucidações significativas para as demandas existentes.

Portanto, a presente obra traz em sua composição pesquisas inovadoras com o intuito de difundir ideias relevantes para o cenário agrícola mundial, com informações de considerável valor para leitores, no que se refere a inovações tecnológicas e outros assuntos.

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos

Luiz Alberto Melo De Sousa


Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA MELHORAR A GERMINAÇÃO E PROTEÇÃO CONTRA *Fusarium* sp


Yareni Anaya Flores
Jesus Magallon Alcazar
Mariana Corona Márquez
Jessica Guadalupe Zepeda García
Gabriela Espinoza Gálvez
Isaac Zepeda Jazo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202081>

CAPÍTULO 2..... 8

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE UN AISLADO DE *Bacillus subtilis* CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS


Paul Edgardo Regalado-Infante
Norma Gabriela Rojas- Avelizapa
Rosalía Núñez Pastrana
Daniel Tapia Maruri
Gabriela Lucero Cuatra Xicalhua
Régulo Carlos Llarena Hernandez
Luz Irene Rojas-Avelizapa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202082>

CAPÍTULO 3..... 21

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POLIEXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES EN BACTERIAS ASOCIADAS A INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS (IRAS)

Rosa Iris Mayo Tadeo
Mónica Espinoza Rojo
Javier Jiménez Hernández
Flaviano Godínez Jaimes
Agustín Damián Nava
Dolores Vargas Álvarez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202083>

CAPÍTULO 4..... 34

CAMBIOS EN LA FERTILIDAD DEL SUELO POR EFECTO DE MONOCULTIVOS EN UN SUELO REGOSOL

Alejandro Otlica Rosario
Antonio Elvira Espinosa
José Felipe Fausto Juárez Cadena
Adriana Moreno Crispín
Juan Contreras Ramos


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202084>

CAPÍTULO 5..... 46

CARACTERÍSTICAS DE LAS FAMILIAS QUE INTEGRAN LA RED DE MERCADOS AGROECOLÓGICOS CAMPESINOS DEL VALLE DEL CAUCA – REDMAC

Carlos Arturo Aristizábal-Rodríguez

Diego Iván Ángel Sánchez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202085>


CAPÍTULO 6..... 51

COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO EN LABORES AGRÍCOLAS MECANIZADAS ENTRE AGRICULTURA DE PRECISIÓN Y MANEJO CONVENCIONAL EN GRANJAS DE TOLIMA Y HUILA

Juan José Ortiz-Rodríguez

Juan Gonzalo Ardila-Marin

Diana Carolina Polania-Montiel

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202086>

CAPÍTULO 7..... 68

COMPORTAMIENTO ESTRAL EN CABRAS ANÉSTRICAS ALOJADAS INDIVIDUALMENTE O EN GRUPO DURANTE EL PRIMER CONTACTO CON EL MACHO FOTO-ESTIMULADO EN MARZO

Fernández García., I. G.

González Romero., F. J.


Sifuentes Meléndez., L. A.

Duarte Moreno., G.

Ulloa Arvizu., R.

Fitz Rodríguez., G.

Martínez Alfaro., J. C.

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202087>

CAPÍTULO 8..... 71

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON TRES NIVELES DE INCLUSIÓN DE HARINA DE HOJAS DE *Thitonia diversifolia*

Carlos Augusto Martínez Mamian

Sandra Lorena López Quintero

Ximena Andrea Ruiz Erazo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202088>

CAPÍTULO 9..... 82

EFFICIENCY EVALUATION OF DIFFERENT COAGULANT AGENTS ASSOCIATED WITH A DIRECT FILTRATION SYSTEM IN WATER TREATMENT

Higor Aparecido Nunes de Oliveira

Edilaine Regina Pereira

Mariana Fernandes Alves

Dandley Vizibelli

Fellipe Jhordã Ladeia Janz

Julio Cesar Angelo Borges

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5452202089>

CAPÍTULO 10..... 90

EL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN XY EN LA ALIMENTACIÓN DE CERDOS Y SU EFECTO EN LA GANANCIA DE MASA MUSCULAR

Ávila-Cisneros; R.

González-Avalos; R.

Castro-Aguilar; C.

Rocha-Quifiones; J.L.

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020810>

CAPÍTULO 11 99

ESTUDIO GENÓMICO COMPARATIVO DE CEPAS ATENUADA Y VIRULENTE DE *Babesia bigemina*

Bernardo Sachman Ruiz

Luis Lozano Aguirre

José Juan Lira Amaya


Rebeca Montserrat Santamaría Espinosa

Grecia Martínez García

Jesús Antonio Álvarez Martínez

Carmen Rojas Martínez

Julio Vicente Figueroa Millán

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020811>

CAPÍTULO 12..... 111

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO Y DETERMINACIÓN DE LA EDAD A LA PUBERTAD DE MACHOS Y HEMBRAS DE YAQUE (*Leirius marmoratus*) BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO

Eduardo Castillo-Losada


Nubia Estella Cruz-Casallas

Tatiana María Mira-López

Juan Antonio Ramírez-Merlano

Víctor Mauricio Medina-Robles

Pablo Emilio Cruz-Casallas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020812>

CAPÍTULO 13..... 133

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE HARINA OBTENIDA DE LA TORTA RESIDUAL DE SACHA INCHI (*Plukenetia Volubilis* L.) PARA SU POTENCIAL USO EN EL SECTOR AGROALIMENTARIO

Leidy Andrea Carreño Castaño

Cristian Giovanni Palencia Blanco

Mónica María Pacheco Valderrama

Ana Milena Salazar Beleño

Héctor Julio Paz Díaz


Dally Esperanza Gáfaró Álvarez

Miguel Arturo Lozada Valero

Sandra Milena Montesino Rincón

Olga Cecilia Alarcón Vesga

Seidy Julieth Prada Miranda
Adriana Patricia Casado Pérez

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020813>

CAPÍTULO 14..... 147

IDENTIFICACION BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA EN SUELOS AGRÍCOLAS


Martha Lidya Salgado-Siclán
Guadalupe Milagros Muzquiz Aguilar
Ma. Magdalena Salgado- Siclán
Ana Tarín Gutiérrez-Ibañez
José Francisco Ramírez-Dávila
Martín Rubí Arriaga

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020814>

CAPÍTULO 15..... 159

MORFOFISIOLOGIA DE FEIJÃO-MUNGO EM RESPOSTA À SALINIDADE DA ÁGUA DE IRRIGAÇÃO


Antônio Aécio de Carvalho Bezerra
Romário Martins da Costa
Marcos Renan Lima Leite
Sâmia dos Santos Matos
José Valdenor da Silva Júnior
Kathully Karoline Brito Torres
Francisco Reinaldo Rodrigues Leal

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020815>

CAPÍTULO 16..... 171

PERSPECTIVAS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LA SECADERA DEL CULTIVO DE CHILE


Omar Jiménez-Pérez
Gabriel Gallegos-Morales
Juan Manuel Sanchez-Yañez
Miriam Desiree Dávila-Medina
Francisco Castillo-Reyes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020816>

CAPÍTULO 17..... 190

RETOS DE INNOVACIÓN EN LA CADENA PRODUCTIVA DE LA PANELA

Jaime Vente Garces
Derly Tatiana Marin Tosne
Damar Daniela Valencia Hernández

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020817>

CAPÍTULO 18..... 204

REVISÃO: BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA

Luiz Alberto Melo de Sousa

Fernando Freitas Pinto Junior
Janine Quadros Castro
Fabiola Luzia de Sousa Silva
Karolline Rosa Cutrim Silva
João Lucas Xavier Azevedo
Igor Alves da Silva
Maria Raysse Teixeira
Lidia Ferreira Moraes
Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.54522020818>

SOBRE OS ORGANIZADORES	219
ÍNDICE REMISSIVO.....	220

ESTUDIO GENÓMICO COMPARATIVO DE CEPAS ATENUADA Y VIRULENTE DE *Babesia bigemina*

Data de aceite: 19/07/2022

Data de submissão: 06/07/2022

Julio Vicente Figueroa Millán

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Bernardo Sachman Ruiz

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Luis Lozano Aguirre

Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, México

José Juan Lira Amaya

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Rebeca Montserrat Santamaría Espinosa

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Grecia Martínez García

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Jesús Antonio Álvarez Martínez

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Carmen Rojas Martínez

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

RESUMEN: En este estudio se comparó el viruloma de una cepa atenuada de *Babesia bigemina*, la cual se ha mantenido bajo condiciones de cultivo in vitro durante varios años en el laboratorio, con reducida virulencia para el hospedero bovino, e incapacidad de ser transmitida por la garrapata vector, con el viruloma de una cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida en México por garrapatas *Rhipicephalus microplus* a bovinos. Se realizó un mapeo de genes de virulencia contra un genoma de referencia: Cepa Bond de Australia. El análisis de los resultados preliminares obtenidos con la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST) demostró que de 27 genes de virulencia descritos para *Babesia spp.* e identificados en la cepa mexicana virulenta de *B. bigemina* transmitida por la garrapata, solo cinco fueron completamente identificados en la cepa atenuada de laboratorio. En todos los casos, los porcentajes de cobertura e identidad de los genes identificados en la cepa virulenta de *B. bigemina* fueron más altos que los identificados en la cepa atenuada de laboratorio. Este hallazgo está supuestamente asociado con la pérdida parcial continua de genes de virulencia en la cepa de laboratorio después de múltiples pasajes de la población de parásitos bajo condiciones óptimas de cultivo in vitro. La pérdida de algunos de los factores de virulencia podría reflejarse en la ausencia de síntomas de la enfermedad en

ganado inoculado con la cepa atenuada, a pesar de la presencia de infección en los eritrocitos del hospedero bovino. Esto, tendrá que ser corroborado por el análisis transcripcional en futuros estudios de investigación. El análisis del repertorio de genes expresados diferencialmente en la cepa atenuada de *B. bigemina* y estudios del transcriptoma están en curso para determinar si se mantiene la expresión génica diferencial o si varía con respecto a la cepa virulenta.

PALABRAS CLAVE: *Babesia bigemina*; cepa virulenta; cepa atenuada; genes de virulencia.

COMPARATIVE GENOMIC STUDY OF ATTENUATED AND VIRULENT STRAINS OF *Babesia bigemina*

ABSTRACT: In this study, the viruloma of an attenuated strain of *Babesia bigemina*, which has been maintained under in vitro culture conditions for several years in the laboratory, with reduced virulence for the bovine host, and inability to be transmitted by the tick vector, was compared with the viruloma of a virulent strain of *B. bigemina* transmitted in Mexico by *Rhipicephalus microplus* ticks to cattle. Virulence gene's mapping was performed against a reference genome: *B. bigemina* Bond strain from Australia. Analysis of preliminary results obtained with the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) showed that out of 27 virulence genes described for *Babesia* spp. and identified in the virulent Mexican tick-borne strain of *B. bigemina*, only five were fully identified in the laboratory attenuated strain. In all cases, the percentages of coverage and identity of the genes identified in the virulent strain of *B. bigemina* were higher than those identified in the laboratory attenuated strain. This finding is putatively associated with continued partial loss of virulence genes in the laboratory strain after multiple passages of the parasite population under optimal in vitro culture conditions. The loss of some of the virulence factors could be reflected in the absence of symptoms of the disease in cattle inoculated with the attenuated strain, despite the presence of infection in the erythrocytes of the bovine host. This will have to be corroborated by transcriptional analysis in future research studies. Analysis of the differentially expressed gene repertoire in the attenuated strain of *B. bigemina* and transcriptome studies are ongoing to determine whether differential gene expression is maintained or varies from the virulent strain.

KEYWORDS: *Babesia bigemina*; virulent strain; attenuated strain; virulence genes.

11 INTRODUCCIÓN

La babesiosis del ganado es una enfermedad transmitida por garrapatas de elevada importancia socioeconómica, la cual es causada por protozoarios Apicomplexa del género *Babesia* considerados como parásitos intraeritrocíticos obligados (Bock et al., 2004). En México, la babesiosis bovina es causada por *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*. La enfermedad se distribuye en zonas tropicales y es transmitida por garrapatas *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus* (Rojas et al., 2018). La presentación de la babesiosis bovina causada por *Babesia bigemina* (*B. bigemina*) es 12-16 días después de que las garrapatas se alimentan del bovino, coincidente con la presencia del parásito intraeritrocítico en sangre periférica. La temperatura se eleva paralelamente al incremento en parasitemia hasta 41-42°C en 2 o 3 días. Los animales infectados están tristes, anoréxicos y con pelo hirsuto. Se

presenta hemoglobinemia y hemoglobinuria seguida por palidez de las mucosas junto con otros signos que pueden incluir constipación, deshidratación, temblor muscular, debilidad, postración y, si no se instaura el tratamiento adecuado, la muerte (Dalglish et al., 1981).

Se han generado diversos estudios sobre el bovino hospedero, el agente y sus relaciones tratando de reconocer sus características biológicas, así como su distribución, con el objeto de establecer programas de prevención y/o control de la enfermedad. Estas actividades han requerido la replicación del ciclo biológico logrado mediante el crecimiento artificial de estos parásitos en condiciones in vitro (Levy y Ristic, 1980; Vega, et al., 1985). Se han reportado diversos métodos para disminuir la virulencia de las especies patógenas en bovinos: Pases rápidos por inoculación parenteral en becerros esplenectomizados (Callow et al., 1979), pases lentos por inoculación parenteral en becerros intactos (Dalglish et al., 1981), y la metodología de cultivo in vitro para las especies de *Babesia* que afectan a los bovinos (Levy y Ristic, 1980; Figueroa et al., 1984; Vega et al., 1985; Fish et al., 2008). La atenuación de patógenos intracelulares por cultivo in vitro es un fenómeno bien conocido y patógenos como *B. bovis* y *B. bigemina* se han tornado avirulentos o menos patógenos mediante prolongado crecimiento en cultivo celular (Yunker et al., 1987; Kuttler et al., 1988; Schuster, 2002). Trabajos de nuestro grupo de investigación han permitido demostrar que una cepa de *B. bigemina* mantenida por pases continuos en cultivo in vitro, se ha comportado como población atenuada al no afectar en forma importante los valores hematológicos en animales inoculados (Hernández et al., 1990; Figueroa et al., 1998). La cepa atenuada de *B. bigemina* ha inducido protección al desafío heterólogo con sangre infectada o con garrapatas infectadas bajo condiciones controladas y de campo (Hernández et al. 1990; Figueroa et al., 1998; Álvarez et al., 2004). Las cepas vacunales han sido desarrolladas para conferir una adecuada protección sin ser transmitidas por garrapatas, un rasgo considerado ecológicamente deseable ya que previene la aparición de casos clínicos debido a la transmisión de la cepa vacunal por garrapatas (Mangold et al., 1993). Esta capacidad ha sido demostrada después de un pase en ganado susceptible (Dalglish et al., 1983; O'Sullivan y Callow, 1966; Hernández et al., 1990; Timms et al., 1990; Mangold et al., 1993). Además, este tipo de vacunas vivas atenuadas tiene la gran ventaja conferida por su producción in vitro: un bajo riesgo de contaminación con otros agentes infecciosos (Pipano, 1995; Rojas et al., 2018a; 2018b); una suspensión de glóbulos rojos altamente parasitada, y la posibilidad de producción de la vacuna en relativamente gran escala (Timms y Stewart, 1989). Se demostró que la cepa mexicana de *Babesia bigemina* atenuada no fue transmitida por garrapatas después de varios pases en bovinos susceptibles. Se demostró ausencia de reversión a la virulencia de esta cepa después de tres pases sucesivos en bovinos susceptibles y se confirmó que los parásitos mantenidos en cultivo in vitro perdieron la capacidad para multiplicarse en la garrapata vector durante un segundo pase por sub-inoculación en bovinos susceptibles (Rojas et al., 2011). En este estudio se confirmó que los parásitos mantenidos en cultivo in vitro perdieron la capacidad

para multiplicarse en la garrapata vector durante un segundo pase por sub-inoculación en bovinos susceptibles. Esto, evidenciado por la ausencia de quinetos en la hemolinfa de garrapatas alimentadas en bovinos con parasitemia patente. Además, se demuestra que aun cuando es sujeta a tres pases sucesivos en bovinos altamente susceptibles, la población de parásitos mantiene su característica biológica de reducida virulencia manifestada por los valores clínicos determinados en los bovinos sub-inoculados, los cuales no mostraron cambios relevantes.

Por otro lado, se desconocen hasta el momento los componentes del parásito responsables de la inducción de la hemólisis y otros efectos fisiopatológicos en los bovinos infectados. Resulta evidente que se requiere de estudios adicionales e investigación de frontera con metodologías de nueva generación para determinar los mecanismos involucrados en la determinación de virulencia para el desarrollo del parásito dentro del eritrocito infectado (y provocar la enfermedad en un bovino inoculado), así como para el desarrollo de estadios de *Babesia* subsecuentes y necesarios para la infección del intestino de *Rh. microplus* (formas sexuales) que permiten al parásito adquirir nuevamente la capacidad infectiva hacia la garrapata vector y, consecuentemente, ser transmitidos de forma trans-ovárica. Solo a través de la utilización de innovadores métodos de secuenciación masiva y el análisis del genoma y del transcriptoma, se podrá probar la hipótesis que algunos cambios genéticos (rearrreglos cromosomales, deleciones o inserciones génicas) han ocurrido en el genoma de la cepa atenuada sujeta de estudio y mantenida en cultivo in vitro, los cuales se ven reflejadas en un fenotipo atenuado y carente de la capacidad de ser transmitido por la garrapata vector *R. microplus*. El análisis comparativo del genoma de la cepa virulenta mexicana con el genoma de la cepa virulenta australiana denominada Bond y de otras cepas (Jackson et al, 2014), permitirá demostrar que los cambios observados con las cepas mexicanas no se derivan de polimorfismos en genoma asociados al origen geográfico de las cepas. La genómica comparativa permite identificar genes únicos de ciertas cepas patógenas los cuales pueden estar ausentes en las cepas apatógenas.

La patogenicidad de *Babesia* para el ganado bovino está determinada en parte por la interacción con el sistema inmunológico del huésped y la presencia de genes de virulencia del parásito. En este estudio, se comparó el viruloma de una cepa atenuada de *B. bigemina*, la cual se ha mantenido bajo condiciones de cultivo in vitro durante varios años en el laboratorio, con reducida virulencia para el hospedero bovino, e incapacidad de ser transmitida por la garrapata vector, con el viruloma de una cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida por garrapatas *Rhipicephalus microplus* a bovinos.

2 | MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Parásitos

La cepa atenuada de *B. bigemina* es una población de parásitos originalmente derivada de un aislado virulento de México recolectado de un caso clínico de babesiosis. La cepa se adaptó a un cultivo in vitro usando un sistema estacionario microaerófilo (Vega et al, 1985). Una vez establecida en cultivo in vitro se cultivó continuamente durante casi cinco años consecutivos en laboratorio con pases cada 72 o 96 hrs (al menos 500 subcultivos en cultivo). Posteriormente, el cultivo in vitro de la *B. bigemina* se realizó de forma discontinua y con un número indefinido de pasadas en cultivo; se cultivó por períodos cortos de tiempo (uno o dos meses), justo hasta obtener material suficiente para los experimentos que se realizaron durante el desarrollo de la vacuna viva atenuada (períodos 1991-1998 y 2001-2006) y se congeló inmediatamente en líquido nitrógeno hasta que se realizaron otros experimentos en el período 2011-2017 en los que se cultivó para los últimos experimentos (transmisibilidad de garrapatas) y validación de inmunogenicidad (Figuroa et al, 1998; Álvarez et al, 2004; Rojas-Martínez et al, 2018a;2018b; Rojas-Ramírez et al, 2011) hasta ahora, cuando se realizó la secuenciación. Más importante para tener en cuenta es que el material biológico atenuado no ha pasado a través de un hospedero bovino desde su aislamiento original a diferencia del aislado virulento (del que se seleccionó la cepa atenuada) y que se replica en animales siempre que se requiere. Morfológicamente, la cepa atenuada no ha cambiado; sigue infectando eritrocitos tanto in vivo como in vitro, pero no provoca enfermedad cuando se inocula en el ganado y se ha mantenido en forma alterna en cultivo continuo y crioconservación desde entonces (Figuroa et al, 1998; Álvarez et al, 2004; Rojas-Martínez et al, 2018a;2018b; Rojas-Ramírez et al, 2011). La cepa virulenta, originalmente aislado de un caso clínico de campo, se ha mantenido a través de pasajes de garrapatas en susceptibles animales y criopreservación en nitrógeno líquido (Vega et al, 1985; Figuroa et al, 1998; Rojas-Ramírez et al, 2011).

2.2 Extracción de ADN genómico

Se utilizaron eritrocitos bovinos infectados con las diferentes poblaciones de *B. bigemina* para llevar a cabo la extracción de ADN genómico por métodos convencionales (Strauss 2001; Genis et al, 2008). Se utilizaron entre 20 y 30 µg de ADN genómico para preparar las dos bibliotecas clonales requeridas para cada cepa.

2.3 Secuenciación del genoma de *B. bigemina*, cepas atenuada y virulenta

La secuenciación del genoma completo se realizó con la plataforma Illumina de secuenciación de próxima generación Mi-Seq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.) en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado en Cuernavaca, Morelos. Las lecturas de secuencias obtenidas con el sistema Illumina se

ensamblaron de novo utilizando el Programa SPAdes (versión 3.1.1, Laboratorio de Biología Algorítmica, Universidad Académica San Petersburgo, San Petersburgo, Rusia) (Bankevich et al, 2012). Los contigs generados se ordenaron con la herramienta MUMmer (Kurtz et al, 2004). El esfuerzo de secuenciación del genoma de *B. bigemina* permitió obtener una cobertura de 264 X y 89 X para la cepa atenuada y virulenta, respectivamente. La lista de genes seleccionados se basó inicialmente en la consideración de artículos anteriores sobre inmunología clásica y estudios del transcriptoma donde se menciona que son genes atribuidos a la virulencia o posibles factores de virulencia (Bastos et al, 2013; Eichenberger et al, 2018). El mapeo de secuencias de genes virulentos contra un genoma de referencia (genoma australiano de *B. bigemina*) se realizó con BLAST (Altschul, 1990). Esto permitió un primer análisis de la composición del genoma de cada cepa e identificó posibles cambios (deleciones o inserciones) o reordenamientos cromosómicos que ocurrieron en los genomas de las cepas virulentas y atenuadas de *B. bigemina*.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuenciación del genoma y el análisis del ensamble mostraron que la cepa atenuada de *B. bigemina* contenía 9,180,241 pb, mientras que la cepa virulenta 11,852,459 pb, una diferencia de 22.54% (Cuadro 1). El esfuerzo de secuenciación obtuvo una cobertura de 264X y 89X para las cepas atenuada y virulenta, respectivamente. Las secuencias de genes de virulencia se obtuvieron a partir de una búsqueda BLAST y las diferencias entre las cepas fueron notables; mientras que la cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida por la garrapata presentó 27 genes con un promedio de cobertura del 98.06%, la cepa atenuada sólo presentó cinco de esos genes, con 81.2% de cobertura (Cuadro 2). En todos los casos, los porcentajes de cobertura e identidad de los genes identificados en la cepa virulenta de *B. bigemina* fueron más altos que los identificados en la cepa atenuada de laboratorio (Cuadro 3). Este hallazgo de virulencia en la cepa de laboratorio después de múltiples pasajes de la población de parásitos bajo condiciones óptimas de cultivo in vitro.

Las secuencias de los genes de virulencia se obtuvieron de una búsqueda de alineación local básica con la herramienta BLAST, y las diferencias entre las cepas fueron notables; mientras que la cepa virulenta presentó 27 genes con una cobertura promedio de 98.06%, la cepa atenuada solo presentó cinco de esos genes con 81.2% de cobertura (Cuadro 2). El tipo más común de genes identificados en ambas cepas fueron genes parciales putativos; 18 para el tipo virulento y tres para la cepa atenuada. El único gen hipotético identificado con la secuencia más corta observada y sin diferencias en las bases pertenece a la cepa virulenta (107 pb; Cuadro 2). El gen más grande (6117 pb) presente en la cepa virulenta mostró el mayor número de diferencias en bases (216 pb; Cuadro 2). Se hicieron intentos para predecir si esos genes se traducirían en proteínas. Para las predicciones de los genes eucariotas, generalmente se utiliza el programa Augustus, que predice el marco

de lectura abierta de las proteínas en las seis posibles formas. Desafortunadamente para nosotros, el ensamblaje del genoma se realizó con la secuencia de lecturas aún conteniendo demasiados contigs, lo que dificultó la realización de un adecuado análisis bioinformático. Esto se resolverá mediante la realización de genoma de alto rendimiento secuenciación en una plataforma de secuenciación de lecturas mas largas como la denominada “PacBio Single Molecule Real Time (English et al, 2012) o la tecnología de Oxford Nanopore, con el objeto de cerrar huecos o extender los extremos de los contigs obtenidos en el ensamblaje de Illumina.

Datos de Secuenciación \ Cepa	<i>B. bigemina</i> atenuada	<i>B. bigemina</i> virulenta
# Contigs	4,017	1,537
Longitud total genoma	9,272,266	11,852,459
Contenido GC (%)	52.3	50.74
Cobertura (X)	264	89
GenBank No. de acceso	PRJNA685856	PRJNA685857

Cuadro 1. Cepas de *Babesia bigemina* analizadas en el estudio.

Identificación de genes	No. De Acceso	No. de Contig	% identidad	Valor E
Cepa virulenta de <i>Babesia bigemina</i>				
calcium-dependent protein kinase 4	XM_012911530.1	contig00169	99.08	0
calmodulin-domain protein kinase 2	XM_012910710.1	contig00134	98.75	0
cAMP-dependent protein kinase	XM_012914446.1	contig00026	98.88	0
casein kinase I	XM_012913338.1	contig00174	98.62	0
cGMP dependent protein kinase	XM_012914849.1	contig00056	99.21	0
cyclin 4	XM_012914402.1	contig00018	98.62	0
diphosphate kinase family, putative	XM_012913759.1	contig00012	99.34	1E-166
dnaJ C terminal region domain	XM_012910446.1	contig00220	98.74	0
glycerol kinase	XM_012914443.1	contig00026	98.99	4E-160
glycogen synthase kinase-3 alpha	XM_012910925.1	contig00076	98.86	4E-141
Hypotetical gene	XM_012911455.1	contig00674	100	2E-54
merozoite surface glycoprotein	AF298630.1	contig00098	92.31	2E-106
mitogen-activated protein kinase	XM_012912499.1	contig00013	98.23	0
phosphatidylinositol 3-and 4-kinase	XM_012912148.1	contig00156	97.66	0
phosphatidylinositol 4 kinase	XM_012911128.1	contig00059	97.19	0
phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase	XM_012914497.1	contig00063	99.10	0
phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase	XM_012910512.1	contig00138	96.47	0
Probable fructokinase	XM_012910446.1	contig00220	98.74	0
protein kinase domain	XM_012914171.1	contig00006	98.32	0

putative rhopty protein	NC_027216.1	contig00167	96.66	0
RAP-1 related antigen	NC_027216.1	contig00003	97.46	0
related serine/threonine protein kinase	XM_012911485.1	contig00028	95.70	0
Ser/Thr protein kinase	XM_012910695.1	contig00064	96.96	0
serine/threonine kinase	XM_012914264.1	contig00171	98.78	0
serine/threonine kinase 1	XM_012914521.1	contig00041	98.23	0
transcription factor TFIIIB	XM_012912762.1	contig00016	98.16	0
transcription initiation factor TFIIIB	XM_012910684.1	contig00064	98.67	0
			98.06*	

*Cobertura promedio

Cuadro 2. Genes de virulencia identificados en el genoma de la cepa virulenta de *B. bigemina*

Identificación de Genes				
cGMP dependent protein kinase	XM_012914849.1	contig00032	84.55	1E-15
calcium-dependent protein kinase 4	XM_012911530.1	contig00066	78.68	6E-32
phosphatidylinositol 4 kinase	XM_012911128.1	contig00009	80.52	2E-46
serine/threonine kinase	XM_012914264.1	contig00035	83.54	4E-24
transcription factor TFIIIB	XM_012912762.1	contig00023	78.73	2E-41
			81.20*	

*Cobertura promedio

Cuadro 3. Genes de virulencia identificados en el genoma de la cepa atenuada de *B. bigemina*

Además, considerando que las diferencias fenotípicas entre la cepa atenuada de cultivo y la cepa virulenta incluye la falta de transmisión por garrapatas de la cepa cultivada, se realizó un análisis comparativo de la codificación de genes específicos de quinetos para proteínas involucradas en el desarrollo de la etapa sexual, u otros genes requeridos para la transmisión de *Babesia* por garrapatas. Varios de los genes que están involucrados en el desarrollo del parásito en la garrapata vector están bien descritos en la literatura, tales como los genes de la familia hap2 y CCp (Cuadro 3) (Bastos et al, 2013; Alzan et al, 2016; Camacho-Nuez et al, 2017; Bohaliga et al, 2018; 2019). Se encontró que estos genes estaban bien conservados en ambos genomas analizados con una secuencia ligeramente superior identidad en la cepa atenuada. Curiosamente, los genes CCp2 y BBBOND fueron identificado en dos contigs diferentes y aparentemente faltaban algunos nucleótidos (406 pb y 61 pb, respectivamente). El gen CCp1 descrito en *B. bovis* (Alzan et al, 2016) aparentemente falta tanto en el genoma de *B. bigemina* de la cepa virulenta como de la atenuada (Cuadro 3). En cuanto al desarrollo genes descritos en el Cuadro 3 que parecían tener una homología similar sin importar si pertenecían al aislado avirulento o al virulento, estudios previos han demostrado que los miembros de la familia del gen CCp de *Babesia* se expresan diferencialmente a lo largo del ciclo de vida y los datos presentados en esos

estudios demostraron que los genes CCcp de *Babesia* se expresan predominantemente durante la replicación del parásito en la garrapata vector (Bastos et al, 2013; Alzan et al, 2016; Camacho-Nuez et al, 2017; Bohaliga et al, 2018; 2019). Si este es el caso de los genes CCp identificados en este estudio de genómica comparativa necesita más investigación y actualmente estamos preparando estudios apropiados in vivo y experimentos in vitro para probar eso por RT-PCR.

4 | CONCLUSIONES

La pérdida de algunos de los factores de virulencia podría reflejarse en la ausencia de síntomas de la enfermedad en ganado inoculado con la cepa atenuada, a pesar de la presencia de infección en los eritrocitos de un hospedero bovino. Esto, tendrá que ser corroborado por el análisis transcripcional en futuros estudios de investigación. Será interesante analizar el repertorio de genes expresados diferencialmente en la cepa atenuada de *B. bigemina* y estudios del transcriptoma están en curso para determinar si se mantiene la expresión génica diferencial o si varía con respecto a la cepa virulenta de *B. bigemina*.

AGRADECIMIENTOS Y FUENTE FINANCIERA

El apoyo técnico fue brindado por la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática, Instituto de Biotecnología, UNAM. Trabajo parcialmente financiado por CONACYT, Proyecto CB2017-2018 No. A1-S-43508; e INIFAP, Proyecto SIGI No. 1672534936.

REFERENCIAS

Altschul, S.F.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E.W.; Lipman, D.J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 1990, 215, 403–410, doi:10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

Alvarez, J.A.; Ramos, J.A.; Rojas, E.E.; Mosqueda, J.J.; Vega, C.A.; Olvera, A.; Figueroa, J.V.; Canto, G.J. (2004). Field challenge of cattle vaccinated with a combined *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* frozen immunogen. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004, 1026, 277-283.

Alzan, H.F.; Lau, A.O.T.; Knowles, D.P.; Herndon, D.R.; Ueti, M.W.; Scoles, G.A.; Kappmeyer, L.S.; Suarez, C.E. (2016). Expression of 6-Cys gene superfamily defines *Babesia bovis* sexual stage development within *Rhipicephalus microplus*. *PLoS ONE.* 11,e0163791.

Bankevich, A.; Nurk, S.; Antipov, D.; Gurevich, A.A.; Dvorkin, M.; Kulikov, A.S.; Lesin, V.M.; Nikolenko, S.I.; Pham, S.; Pribelski, A.D.; et al. (2012). SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012, 19, 455-477.

Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; Laughery, J.M.; Johnson, W.C.; Ueti, M.W.; Knowles, D.P. (2013). Differential expression of three members of the multidomain adhesion CCp family in *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Theileria equi*. *PLoS ONE.* 8, e67765.

- Bock, R.; Jackson, J.; de vos, A.; Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitol.* 129: 247-269.
- Bohaliga, G.A.R.; Johnson, W.C.; Taus, N.S.; Hussein, H.E.; Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; Scoles, G.A.; Ueti, M.W. (2019). Identification of proteins expressed by *Babesia bigemina* kinetes. *Parasites Vectors.* 12, 271.
- Bohaliga, G.A.R.; Johnson, W.C.; Taus, N.S.; Hussein, H.E.; Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; O'Connor, R.; Ueti, M.W. (2018). Identification of a putative methyltransferase gene of *Babesia bigemina* as a novel molecular biomarker uniquely expressed in parasite tick stages. *Parasites Vectors.* 11, 480.
- Camacho-Nuez, M.; Hernández-Silva, D.J.; Castañeda-Ortiz, E.J.; Paredes-Martínez, M.E.; Rocha-Martínez, M.K.; Alvarez-Sánchez, M.E.; Mercado-Curiel, R.F.; Aguilar-Tipacamu, G.; Mosqueda, J. (2017). Hap2, a novel gene in *Babesia bigemina* is expressed in tick stages, and specific antibodies block zygote formation. *Parasites Vectors.* 10, 568.
- Dalgliesh, R.J.; Callow, L.L.; Mellors, L.T.; McGregor, W. (1981). Development of a highly infective *Babesia bigemina* vaccine of reduced virulence. *Aust. Vet. J.* 57(1): 8-11.
- Eichenberger, R.M.; Ramakrishnan, C.; Russo, G.; Deplazes, P.; Hehl, A.B. (2017). Genome-wide analysis of gene expression and protein secretion of *Babesia canis* during virulent infection identifies potential pathogenicity factors. *Sci. Rep.* 7, 3357.
- English A.C., Richards S., Han Y., Wang M., Vee V., Qu J., Qin X., Muzny D.M., Reid J.G., Worley K.C., et al. (2012). Mind the gap: Upgrading genomes with Pacific Biosciences RS long-read sequencing technology. *PLoS ONE.* 7:e47768
- Figuroa-Millán JV, Cantó-Alarcón, G.J.; Juárez-Flores, J.; Ruíz-López, F. (1984). Cultivo in vitro de *Babesia bovis*: establecimiento y condiciones óptimas de multiplicación. *Téc. Pecu. Mex.* 46: 46-52.
- Figuroa-Millán, J.V.; Cantó-Alarcón, G.J.; Álvarez-Martínez J.A.; Loza-Galván, R.; Ramos-Aragón, J.A.; Vega y Murguía, C.A. (1998). Capacidad protectora en bovinos de una cepa de *Babesia bigemina* derivada del cultivo in vitro. *Tec. Pecu. Mex.* 36:95-107.
- Fish L, Fish L., Leibovich B., Krigel Y., McElwain T., Shkap V. (2008). Vaccination of cattle against *B. bovis* infection with live attenuated parasites and non-viable immunogens. *Vaccine.* 265: G29-G33.
- Genis, A.D.; Perez, J.; Mosqueda, J.J.; Alvarez, J.A.; Camacho, M.; Muñoz, M.D.L.; Rojas, C.; Figuroa, J.V. (2009). Using msa-2b as a molecular marker for genotyping Mexican isolates of *Babesia bovis*. *Infect Genet. Evol.* 9:1102-1107.
- Hernández-Ortiz R., Álvarez-Martínez J.A., Buening G.M., Cantó-Alarcón G., Monroy-García M., Ramos-Aragón J.A., Vega y Murguía C.A. (1990). Diferencias en la virulencia y en la inducción de protección de aislamientos de *Babesia bigemina* derivados de cultivo in vitro. *Tec. Pecu. Mex.* 28: 51-61.
- Jackson A.P., Otto T.D., Darby A., Ramaprasad A., Xia D., Echaide I.E., Farber M., Gahlot S., Gamble J., Gupta D., et al. (2014). The evolutionary dynamics of variant antigen genes in *Babesia* reveal a history of genomic innovation underlying host-parasite interaction. *Nucleic Acids Res.* 42: 7113-7131.

Kuttler K.L., Zaugg J.L., Yunker C.E. (1988). The pathogenicity and immunologic relationship of a virulent and a tissue-culture-adapted *Babesia bovis*. *Vet. Parasitol.* 27: 239–244.

Levy MG, Ristic, M. (1980). *Babesia bovis*: continuous cultivation in a microaerophilous stationary phase culture. *Science.* 207: 1218-1220.

Mangold A.J., Aguirre D.H., Cafrune M.M., de Echaide S.T., Guglielmone A.A. (1993). Evaluation of the infectivity of a vaccinal and a pathogenic *Babesia bovis* strain from Argentina to *Boophilus microplus*. *Vet. Parasitol.* 51: 143–148.

Kurtz, S.; Phillippy, A.; Delcher, A.L.; Smoot, M.; Shumway, M.; Antonescu, C.; Salzberg, S.L. (2004). Versatile and open software for comparing large genomes. *Genome Biol.* 5, R12.

O'Sullivan P.J., Callow L.L. (1966). Loss of infectivity of a vaccine strain of *Babesia argentina* for *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 42: 252–254.

Pipano E. (1995). Live vaccines against hemoparasitic diseases in livestock. *Vet. Parasitol.* 57: 213–231.

Rojas-Martínez, C.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Figueroa-Millán, J.V.; Bautista-Garfias, C.R.; Castaneda-Arriola, R.O.; Lira-Amaya, J.J.; Vargas-Uriostegui, P.; Ojeda-Carrasco, J.J.; Álvarez-Martínez, J.A. (2018a). Bovine babesiosis: Cattle protected in the field with a frozen vaccine containing *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* cultured in vitro with a serum-free medium. *Parasitol. Intl.* 67:190-195.

Rojas-Martínez, C.; Rodríguez-Vivas, R.I.; Figueroa-Millán, J.V.; Acosta-Viana, K.Y.; Gutierrez-Ruiz, E.J.; Bautista-Garfias, C.R.; Lira-Amaya, J.J.; Polanco-Martínez, D.J.; Álvarez-Martínez, J.A. (2018b). *Babesia bigemina*: Advances in continuous in vitro culture using serum free medium, supplemented with insulin, transferrin, selenite and putrescine. *Parasitol. Intl.* 67:294-301.

Rojas-Ramírez, E.E.; Mosqueda-Gualito, J.J.; Álvarez Martínez, J.A.; Hernandez-Ortiz, R.; Ramos-Aragón, J.A.; Rojas-Martínez, C.; Canto-Alarcón, G.J.; Vega y Murguía, C.A.; Figueroa-Millán, J.V. (2011). Transmissibility of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* attenuated strains by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 2, 267-281.

Schuster F.L. (2002). Cultivation of *Babesia* and *Babesia*-like blood parasites: Agents of an emerging zoonotic disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 365–373.

Stewart N.P. (1978). Differences in the life cycles between a vaccine strain and an unmodified strain of *Babesia bovis* (Babes, 1889) in the tick *Boophilus microplus* (Canestrini) *J. Protozool.* 25: 497–501.

Strauss, W.M. (2001). Preparation of genomic DNA from mammalian tissue. In *Current Protocols in Mol Biol*; Ausubel, F.M., Ed.; Jhon Wiley & Sons: West Sussex, UK; Volume 42, Chapter 2: Unit 2.2.

Timms P., Stewart N.P. (1989). Growth of *Babesia bovis* parasites in stationery and suspension cultures and their use in experimental vaccination of cattle. *Res. Vet. Sci.* 47: 309–314.

Timms P., Stewart N.P., de Vos A.J. (1990). Study of virulence and vector transmission of *Babesia bovis* by use of cloned parasite lines. *Infect. Immun.* 58: 2171–2176.

Vega, C.A.; Buening, G.M.; Green, T.J.; Carson, C.A. (1985). In vitro cultivation of *Babesia bigemina*. Am. J. Vet. Res. 46: 416-420.

Yunker C.E., Kuttler K.L., Johnson L.W. (1987). Attenuation of *Babesia bovis* by in vitro cultivation. Vet. Parasitol. 24: 7-13.

ÍNDICE REMISSIVO

A

A. chroococcum 147, 151, 152, 153, 154

Ácidos orgánicos 1

Actividad antagónica 8, 9, 13, 14, 18

Actividad antibacteriana 21, 23, 24, 25, 30, 32

Actividad antioxidante 21, 23, 29, 31

Agente biológico 205

Agricultura 2, 7, 10, 32, 34, 37, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53, 59, 62, 65, 66, 72, 80, 81, 149, 157, 161, 185, 188, 191, 193, 200, 205, 206, 207, 208, 209, 212, 213, 214, 216, 217

Agricultura de precisión 51, 52, 53, 59, 62, 65

Agricultura familiar 46, 47, 49, 50, 200

Agricultural Management Solutions (AMS) 51

Agroecología 43, 46, 47, 48, 49, 50

Alimentación alternativa 71

Alimentación de cerdos 90, 98

Análisis de correlación 90

Análisis microbiológico 134, 143

B

Babesia bigemina 99, 100, 101, 105, 107, 108, 109, 110

Bacillus 8, 9, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 30, 80, 137, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 156, 157, 158, 171, 179, 180, 181, 182, 185, 186, 187, 188, 189, 211, 213, 214, 216, 217

Bacillus subtilis 8, 9, 17, 18, 80, 147, 150, 156, 157, 158, 181, 182, 185, 213

Bacterias 2, 8, 9, 10, 13, 18, 21, 23, 25, 29, 30, 134, 142, 143, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 201

Bioestimulantes 205, 208, 209, 213, 217

Biofertilizantes 148, 157, 200, 205, 209, 214

Bioinsumos 204, 205, 206, 207, 211, 212, 214, 216, 217, 218, 219

B.megaterium 147

Botón de oro 71, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 81

B.subtilis 30, 147

C

Cabras 68, 69, 70

Cabras anéstricas 68, 69, 70
Cadena productiva 190, 192, 193, 195, 198, 199, 201, 203
Caracterización 17, 32, 81, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 142, 146, 147, 157, 185, 186, 188, 190, 202
Cautiverio 111, 112, 113, 126, 128, 129, 130
Cepa atenuada 99, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 107
Cepas atenuada 99, 103, 104
Cepa virulenta 99, 100, 102, 103, 104, 105, 106, 107
Circuitos cortos de comercialización 46
Coagulant agents 82
Coagulantes 82, 83, 89
Competitividad 53, 190, 191, 195, 198, 199, 201
Comportamiento estral 68, 70
Comportamiento productivo 71, 79
Comportamiento reproductivo 111, 113, 116, 129
Control biológico 10, 18, 157, 171, 179, 180, 188, 189
Cultivo de chile 171, 172, 186
Cultivos 6, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 23, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 43, 44, 45, 52, 65, 159, 179, 193, 194, 195, 196, 199, 200, 201, 203, 214

D

Defensivos agrícolas 204, 205

E

Espectrofotometría 74, 134, 135, 140
Estresse salino 159, 161, 163, 166, 167, 169
Estudio genómico 99
Evaluación fisicoquímica 133, 135, 144
Extractos vegetales 21, 184, 189

F

Familias 46, 47, 48, 49, 191, 203
Feijão-mungo 159, 161, 163, 164, 165, 166, 167
Fertilidad 34, 35, 38, 39, 43, 73, 148
Fertilidad del suelo 34, 35, 38, 39, 43, 148
Filtração 82, 83
Filtration system 82

Fitopatógenos 2, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 147, 148, 158, 171, 173, 176, 177, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 188, 189, 209, 218

Fungi 1, 9, 157

Fusarium sp. 1, 3, 5, 6, 9, 10, 15, 17, 174, 185

G

Genes de virulencia 99, 100, 102, 104, 106

Germinação 1, 208, 213, 217

Gónadas 111, 112, 126, 127, 129

Granjas de Tolima 51

H

Harina 71, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145

Harina obtenida 133, 134, 135, 139, 140, 142

Hembras de Yaque 111

Hongos fitopatógenos 2, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 148, 188, 189

Huila 51, 52, 65

I

Inclusión de Harina 71, 75, 77, 78, 79, 80

Inducción hormonal 112, 113, 115, 119, 120, 121, 122, 123, 127, 128, 129, 130

Infecciones respiratorias 21, 31

Inhibition 1, 7, 9, 168

Innovación 190, 191, 192, 195, 199, 203

Inoculantes biológicos 205, 210

In Vitro 1, 2, 5, 6, 8, 9, 77, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 107, 108, 109, 110, 176, 183, 184, 186, 187, 188, 189

Irrigação 159, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167

L

Leiaris marmoratus 111, 112, 130, 131

M

Manejo convencional 51

Masa muscular 90, 93

Mecanización agrícola 51, 52

Mercados agroecológicos 46, 47, 49

Metabolitos secundarios 21, 33, 183, 184, 185, 187

Microorganismos antagonistas 19, 171, 179, 182, 183, 184
Molecular 108, 147, 149, 150, 153, 157, 185, 188
Monocultivos 2, 34, 37, 41
Morfofisiología 159

P

Panela 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203
PCR 107, 147, 148, 150, 152, 153, 185
Plukenetia volubilis 133, 134, 135, 137, 139, 145, 146
Poliextractos de plantas 21
Pollos de engorde 71, 72, 73, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 146
Producción 2, 8, 10, 12, 13, 15, 17, 18, 34, 35, 36, 37, 38, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 65, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 90, 91, 92, 98, 101, 127, 128, 152, 171, 172, 173, 174, 176, 177, 179, 180, 183, 185, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203
Producción agrícola 10, 36, 38, 51, 65, 189
Pruebas bioquímicas 9, 12, 17, 147, 148, 149, 151, 158
Pubertad 111, 112, 114, 126
Pubertad de machos 111

Q

Quitosano 171, 179, 183, 184, 186, 187, 188

R

REDMAC 46, 47, 49
Rendimiento 2, 34, 39, 43, 44, 51, 59, 60, 62, 63, 66, 76, 92, 93, 105, 176, 185, 186, 199
Resposta morfofisiológica 160
Rotación 2, 34, 36, 39, 42, 44, 179

S

Sacha inchi 133, 134, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146
Salinidade 159, 160, 161, 162, 163, 166, 167
Scarification 1, 7
Secadera 171, 173, 174, 175, 177, 178, 180, 184
Sector agroalimentario 133
Silúridos nativos 112
Soberanía alimentaria 46, 48

Soja 204, 205, 206, 207, 208, 213, 214, 215, 216, 217, 218

Suelo 2, 10, 11, 15, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 41, 42, 43, 45, 139, 147, 148, 156, 174, 175, 177, 179, 181, 186, 188, 199, 200

Suelo regosol 34

Suelos agrícolas 13, 41, 53, 147, 149

Sustentabilidade 161

T

Tecnologias 206

Thitonia diversifolia 71

Tolerância à salinidade 160, 162, 166





Tratamento de água 82, 83

V

Vigna radiata 159, 160, 167, 168, 169

W

Water 1, 47, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 123, 132, 160, 168

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Investigación, tecnología e innovación
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

3


Ano 2022

🌐 www.atenaeditora.com.br
✉ contato@atenaeditora.com.br
📷 @atenaeditora
📘 www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Investigación, tecnología e innovación
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

3

Atena
Editora
Año 2022