

DIVERSIDAD POLÍNICA Y PROPIEDADES BIOACTIVAS DE MIELES MULTIFLORALES DE LA SIERRA DE FLORES MAGÓN, OAXACA, MÉXICO

POLLEN DIVERSITY AND BIOACTIVE PROPERTIES OF MULTIFLORAL HONEYS FROM THE SIERRA DE FLORES MAGÓN, OAXACA, MEXICO

Antonio de Jesús Cenobio Galindo^{1a}, Elizabeth Pérez Soto^{1b}, Uriel González Lemus^{1c}, Arely León López², Jesús Manuel Campos Pastelin^{3a} y Lucio González Montiel^{3b*}

^{1a} Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km 1 Rancho Universitario, Tulancingo 43600, Hidalgo, México.
<https://orcid.org/0000-0003-3098-0487>

^{1ba} Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km 1 Rancho Universitario, CP. 43600, Tulancingo, Hidalgo, México.
<https://orcid.org/0000-0002-5195-6630>

^{1c} Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km 1 Rancho Universitario, CP. 43600, Tulancingo, Hidalgo, México.
<https://orcid.org/0000-0002-7050-0874>

² TecNM Campus Venustiano Carranza, Av. Tecnológico S/N, Col. el Huasteco, CP. 73049, Ciudad Lázaro Cárdenas, Puebla, México
<https://orcid.org/0000-0001-9781-9423>

^{3a} Instituto de Tecnología de los Alimentos, Universidad de la Cañada, CP. 68540, Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca. México.

^{3b} Instituto de Tecnología de los Alimentos, Universidad de la Cañada, CP. 68540, Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca. México
<https://orcid.org/0000-0001-6222-3259>

* Autor para correspondencia: luciogonzalez@unca.edu.mx

RESUMEN

La miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en México es aceptada en el mercado internacional; sin embargo, existen pocos estudios que validen su origen botánico y propiedades funcionales. El objetivo de esta investigación fue determinar el origen botánico, el contenido de compuestos bioactivos, y las propiedades biológicas de mieles producidas en la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México. Un total de 29 muestras de miel de tres municipios (San Jerónimo Tecóatl, San Pedro Ocopetatlillo y San Antonio Eloxochitlán), se analizaron de acuerdo al análisis melisopalinológico. Se determinaron los contenidos de fenoles y flavonoides totales, así como la actividad antioxidante y antibacteriana. De acuerdo a los resultados, las mieles analizadas fueron clasificadas como multiflorales (43 tipos polínicos, pertenecientes a 21 familias) y coincidieron con el tipo de floración de la región. El contenido de fenoles totales fue de 128,78 a 162,25 mg EAG 100 g⁻¹ de miel, mientras que el contenido de flavonoides totales fue de 7,49 a 10,69 mg EAG 100 g⁻¹ de miel. Las muestras presentaron elevada actividad antioxidante mediante la inhibición de radicales ABTS⁺ y DPPH⁺. Todas las muestras presentaron actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y *Salmonella typhi*. Las mieles analizadas pueden ser consideradas como mieles que satisfacen los indicadores de calidad, y presentan importantes niveles de compuestos bioactivos y propiedades biológicas.

Palabras clave: *Apis mellifera*, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Honey bee (*Apis mellifera*) honey produced in Mexico is widely accepted internationally; however, few studies have validated its botanical origin and functional properties. The objective of this research was to determine the botanical origin, bioactive compound content, and biological properties of honeys produced in the Sierra de Flores Magón región, Oaxaca, Mexico. A total of 29 honey samples from three municipalities (San Jerónimo Tecóatl, San Pedro Ocopetatlillo, and San Antonio Eloxochitlán) were analyzed using melissopalynological analysis. Total phenolic and flavonoid contents, as well as antioxidant and antibacterial activities were determined. According to the results, the honeys analyzed were classified as multifloral (43 pollen types, belonging to 21 families) and matched the flowering type of the region. The total phenolic content ranged from 128.78 to 162.25 mg GAE 100 g⁻¹ of honey, while the total flavonoid content ranged from 7.49 to 10.69 mg QE 100 g⁻¹ of honey. The samples exhibited high antioxidant activity through the inhibition of ABTS[•] and DPPH[•] radicals. All samples exhibited inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, and *Salmonella typhi*. The honeys analyzed can be considered to meet quality indicators and exhibit significant levels of bioactive compounds and biological properties.

Keywords: *Apis mellifera*, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

La Norma Oficial Mexicana (NOM, 2018) y el *Codex alimentarius* (Codex, 2019), definen a la miel de abejas *Apis mellifera*, como “la sustancia dulce natural producida por abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure o pueda añejarse”. Desde la antigüedad, la miel de abeja ha sido utilizada en la medicina tradicional por sus diversas propiedades benéficas para la salud (Escuredo y Seijo, 2024). Sin embargo, la calidad y composición química de la miel de abeja (*A. mellifera*) depende de diversos factores, tales como el origen geográfico de la colmena y flora circundante, así como las condiciones climático-ambientales, las condiciones de cosecha, el procesamiento, la manipulación y el almacenamiento (Hulea et al., 2022; Kumari et al., 2022). Diversas investigaciones se han enfocado a la identificación del origen floral de las mieles, con el objetivo de poder tipificarlas y autenticar su origen geográfico; algunos autores refieren que este tipo de investigación, incrementan el valor económico de la miel al momento de su comercialización (Villalpando-Aguilar et al., 2022; Muhati y Wanjiru, 2022). El análisis melisopalínológico consiste en establecer el origen botánico de la miel, mediante la identificación microscópica de los granos de polen recolectados por las abejas durante la producción de la miel (Jiang et al., 2024), además, este tipo de análisis permite autenticar la miel de producción local,

con mieles de otros lugares (estado o país), siempre y cuando existan estudios polínicos del lugar de procedencia (Homrani et al. 2020).

Hasta ahora se han identificado alrededor de 200 compuestos químicos presentes en la miel (Lanjwani, y Channa, 2019), siendo los carbohidratos los principales constituyentes (95% aprox., de la materia seca), seguidos del agua, así como una gran variedad de compuestos minoritarios, tales como: proteínas, enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, pigmentos, vitaminas, minerales, compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, sustancias aromáticas y partículas insolubles en agua provenientes de la recolección y/o manipulación de la miel (Al-Kafaween et al., 2023; Guerzou et al., 2021). El color, aroma y sabor de la miel están directamente relacionados con el tipo de floración, el origen geográfico, las condiciones climáticas de la región y de la especie de abeja (Bobis et al., 2024; Bodor et al., 2021; Pauliuc et al., 2020). Sin embargo, estas características pueden verse afectadas por los cambios en las condiciones climáticas, deficientes condiciones higiénicas durante el proceso de recolección, manipulación, envasado, así como del tiempo de almacenamiento (Sakib et al., 2017). El estado de Oaxaca ocupa el segundo lugar de los estados con mayor biodiversidad de plantas vasculares en México (Dávila-Aranda et al., 2016); se han identificado entre 8.000 y 9.000 especies de plantas vasculares (Mapes y Basurto, 2016). El consumo de miel, incrementó debido a sus propiedades benéficas para la salud, estas incluyen actividad antiinflamatoria, actividad antibacteriana, antiviral, antifúngica, antimutagénica, anticancerígena, antioxidantes, antiproliferativa, antitrombótica, y antidiabética (Al-Rubaie et al.,

2024). También, ejerce un efecto benéfico sobre el sistema inmunológico, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trastornos en el sistema nervioso, enfermedades respiratorias y gastrointestinales (Coppock, 2021).

Los polifenoles son responsables de la actividad antioxidante de la miel, tienen la capacidad de retardar o inhibir la oxidación de otras moléculas (Martinello y Mutinelli, 2021; Sun et al., 2020). Los compuestos fenólicos con actividad antioxidante forman parte del néctar recolectado por las abejas, de las flores o algunas secreciones de las plantas (Becerril-Sánchez et al., 2021). Dichos compuestos son sintetizados como mecanismos de protección contra el ataque de patógenos, depredadores, y otras plantas competitivas, así como posibles daños provocados por la radicación UV, sequías, y temperaturas extremas, por otra parte, sirven para atraer a polinizadores (Jibril et al., 2019). Las mieles mexicanas han sido sujeto de estudio debido a la gran diversidad que hay en el país, reportándose múltiples compuestos con actividad antioxidante (Alcivar-Saldaña et al., 2024; Miranda et al., 2023; Villalpando-Aguilar et al., 2022; Granados-Argüello et al., 2020). Mendoza-Bacilio et al., (2022), mencionan que la diferencia de color otorgada por los compuestos presentes, como los compuestos fenólicos, podría ser considerado un indicador en los beneficios extra nutricionales de este alimento, pues encontraron una elevada correlación entre el color y la actividad antioxidante. La actividad antimicrobiana de la miel atribuye a múltiples características, tales como: bajo contenido de humedad, bajo pH, ácido glucónico, alta osmolaridad (altas concentraciones de azúcares), acidez, metilglioxal, presencia de sustancias no peroxidadas (lisosimas, ácidos fenólicos y flavonoides), H_2O_2 , presencia de péptidos (defensina-1) (Hossain et al., 2022). Almasaudi (2021), refiere que las propiedades antimicrobianas de la miel se han aprovechado en el tratamiento de heridas agudas, crónicas, traumáticas y posquirúrgicas, así como en el tratamiento de úlceras, quemaduras, enfermedades oculares, enfermedades de la piel y problemas de la mucosa oral.

Los recientes estudios relacionados con las propiedades fisicoquímicas, contenido de compuestos bioactivos, origen botánico, origen geográfico y propiedades funcionales (actividad antioxidante y antimicrobiana) de la miel se consideran de gran importancia durante la autenticación y comercialización de la miel. El objetivo de esta investigación fue determinar el origen botánico, contenido de compuestos fenoles y flavonoides totales, actividad antioxidante y actividad antimicrobiana de mieles producidas

en la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México, para otorgar evidencia científica que contribuya al conocimiento de las propiedades biológicas funcionales de las mieles de la región antes mencionada.

MATERIALES y MÉTODOS

Muestras de miel

Se analizó un total de 29 muestras de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México; San Jerónimo Tecóatl (SJ) (n= 12) (18°09'58"N 96°54'45"O), San Pedro Ocopetatlillo (SP) (n= 6) (18°11'05"N 96°54'39"O) y San Antonio Eloxochitlán (SA) (n= 11) (18°12'N 96°52'O), recogidas con el apoyo de las organizaciones de apicultores "Miel Néctar Mazateco" y "Sociedad de Apicultores de Eloxochitlán". Las muestras fueron recolectadas directamente en el apiario, colocadas en recipientes limpios de 1,40 kg aproximadamente, se etiquetaron, se cerraron herméticamente y almacenaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

Análisis melisopalinológico

Se realizó de acuerdo a Louveaux et al. (1978), 10 g de miel fueron disueltos en 20 mL de agua destilada a 40 °C, la mezcla se homogenizó durante 10 min en un Vortex (Kitlab), se centrifugó (CRM Globe, Centrificient^{vi}) durante 10 min a 3.500 rpm, se retiró el sobrenadante y se agregaron 10 mL de agua destilada. Las muestras nuevamente se homogenizaron durante 1 min y luego se centrifugaron en las condiciones antes mencionadas, finalmente el retenido se colocó y fijó en un portaobjetos, agregando medio de montaje (0,75 g de fenol, 7,5 g de grenetina, 39,25 mL de agua y 52,5 g de glicerina). Para la cuantificación e identificación de los granos de polen, se utilizó un microscopio invertido de contraste de fases (Olympus, CKX41, EE. UU). Los granos de polen se clasificaron en: polen predominante (> 45%), polen secundario (16 - 45%), polen minoritario importante (3 - 15,9%) y polen minoritario o traza (< 3%). Se considera miel monofloral cuando una especie o tipo de polen sea predominante y multifloral cuando se registren tres o más tipos de polen con porcentajes secundarios o minoritarios (Ramírez-Arriaga et al., 2011).

Cuantificación de fenoles totales

La cuantificación de fenoles se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con Fratianni et al. (2024) y Kumazawa et al. (2004), con algunas modificaciones; se realizó una dilución de la miel (1:10 p/v) usando agua destilada, las muestras se homogenizaron hasta

completa solubilidad, posteriormente fueron centrifugadas a 6.000 rpm durante 15 min a 4 °C (Hermle, Z 36 HK, Alemania). Se tomaron 300 µL del sobrenadante en un tubo de ensayo y se mezcló con 1,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu 0.2 N, se incubó durante 8 min a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Después se agregaron 1,2 mL de Na₂CO₃ 0.7 M, se homogenizaron e incubaron a temperatura ambiente durante 120 min en ausencia de luz. La absorbancia se midió a 765 nm usando un espectrofotómetro (Jenway 6715, UK), frente a un blanco de agua. Se realizó una curva patrón con ácido gálico, el contenido de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico en 100 g de miel (mg EAG 100 g⁻¹).

Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se determinó de acuerdo a Kumazawa et al. (2004), con algunas modificaciones. Se realizó una dilución de la miel (1:10 p/v) usando metanol, las muestras se homogenizaron hasta completa solubilidad, posteriormente fueron centrifugadas a 6.000 rpm durante 15 min a 4 °C (Hermle, Z 36 HK, Alemania). Se utilizó una solución metanólica de cloruro de aluminio al 2% (AlCl₃). En un tubo de ensayo se colocaron 2 mL del sobrenadante con 2 mL de AlCl₃, se homogenizaron y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 20 min en ausencia de luz. La absorbancia se midió a 415 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715, UK), usando metanol como blanco. Se realizó una curva patrón con ácido gálico, el contenido total de flavonoides se expresó en mg equivalente de quercetina en 100 g de miel (mg EQ 100 g⁻¹).

Actividad antioxidante

*Determinación de la actividad antioxidante mediante la inhibición de radicales libres ABTS**

La actividad antioxidante se determinó utilizando el compuesto cromogénico ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) de acuerdo a Fratianni et al. (2024). Se realizó una dilución de la miel (1:10 p/v) usando agua destilada, las muestras se homogenizaron hasta completa solubilidad utilizando un Vortex, posteriormente fueron centrifugadas a 6.000 rpm durante 15 min a 4 °C (Hermle, Z 36 HK, Alemania). Se prepararon 20 mL de solución stock de ABTS 7 mM (36 mg del reactivo ABTS aforando a 10 mL con agua destilada) y se agregaron 10 mL de persulfato de potasio 2,45 mM (5,83 mg de persulfato de potasio en 10 mL de agua destilada). Para generar los radicales libres ABTS^{•+}, la mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 24 h en oscuridad total. Antes de iniciar la lectura de las muestras, el reactivo de ABTS^{•+} se estandarizó a una absorbancia de

0,7 ± 0,01 utilizando etanol al 20%. En un tubo de ensayo se colocaron 200 µL del sobrenadante con 2 mL de ABTS^{•+} estandarizado, se homogenizaron y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 6 min en ausencia de luz. Las muestras se leyeron a 734 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6715, UK). Se utilizó ácido gálico para la elaboración de la curva estándar (0 a 100 mg L⁻¹) y como blanco etanol al 20%. La actividad antioxidante se expresó como mg equivalentes de ácido gálico en 100 g de miel (mg EAG 100 g⁻¹).

*Determinación de la actividad antioxidante mediante la inhibición de radicales libres DPPH**

Para la actividad antioxidante mediante la inhibición de radicales libres DPPH (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) fue de acuerdo a Kumazawa et al. (2004). Primero se preparó una dilución de miel (1:10 p/v) usando metanol, las muestras se homogenizaron hasta completa solubilidad utilizando un Vortex, posteriormente fueron centrifugadas a 6.000 rpm durante 15 min a 4 °C (Hermle, Z 36 HK, Alemania). Se prepararon 100 mL de solución madre de DPPH 0,2 mM (7,9 mg de DPPH aforando a 100 mL con metanol al 80%), para generar los radicales libres DPPH^{•+}, la mezcla se mantuvo en agitación magnética durante 2 h en oscuridad total. Antes de iniciar la lectura de las muestras, el reactivo de DPPH^{•+} se estandarizó a una absorbancia de 0,7 ± 0,01 utilizando metanol al 80%. A 500 µL del sobrenadante se agregaron 2,5 mL del reactivo DPPH^{•+} estandarizado, se incubaron durante 1 h en ausencia de luz. Las muestras se leyeron a 517 nm con un espectrofotómetro (Jenway 6715, UK), el metanol fue utilizado como blanco. La actividad antioxidante se expresó como mg equivalentes de ácido gálico en 100 g de miel (mg EAG 100 g⁻¹).

Determinación de la actividad antibacteriana

Las cepas bacterianas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Salmonella typhi* y *Streptococcus mutans*. Las cepas fueron activadas en caldo Mueller Hinton a 37 °C durante 24 h. Por último, se procedió a estandarizar la turbidez de los microorganismos activos a 0.5 en la escala de Mc Farland (Montero-Recalde et al. 2018). La actividad inhibitoria de la miel se evaluó con la técnica de difusión en agar por pozo con algunas modificaciones. Una vez solidificado el medio de cultivo con la suspensión bacteriana, se procedió a realizar pozos de 0,55 cm de diámetro. Los pozos fueron distribuidos de la siguiente manera: control positivo, control negativo (agua destilada estéril), miel al 50, 75 y 100% respectivamente. Se colocó 25 µL de la concentración de miel correspondiente en cada uno de los pozos, así

como del control positivo y negativo. Finalmente, las cajas se incubaron a 37°C durante 24 h (Marca: RIOSSA, Modelo: E-41), subsiguiente se midió el halo de inhibición.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media y desviación estándar por municipio, para cada uno de los parámetros evaluados. Cada muestra se analizó por triplicado. Se realizó un ANOVA para cada una de las variables de estudio (por municipio), con un nivel de significancia de $P < 0,05$, cuando hubo diferencia significativa se realizó una comparación de medias por la prueba de Tukey. Los datos fueron analizados en el software Statgraphics Centurion XVI versión 16.1.11 (Stat Point Technologies The Plains, VA, EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis melisopalinológico de la miel de abeja (*A. mellifera*)

En las mieles analizadas, se identificó un total de 43 tipos polínicos, pertenecientes a 21 familias (Tabla 1), 15 familias presentaron granos de polen mayores al 2%; Anacardiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cochlospermaceae Combretaceae, Curcubitaceae, Fabaceae, Fagaceae, Lauraceae, Malvaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Sapindaceae Ulmaceae, y Vitaceae. El 69,09% de los granos de polen en mieles de San Jerónimo Tecoaht fueron granos de polen minoritario o importante y el 30,94% de polen minoritario o traza, mientras que las de San Pedro Ocopetatlillo mostró polen secundario con un 24,38%, polen minoritario o importante con un 53,99 y 21,62% con polen

Tabla 1. Tipos polínicos agrupados en familias, género y especie, en muestras de miel de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México.

Table 1. Pollen types grouped into families, genus and species, in honey samples from the Sierra de Flores Magón region, Oaxaca, Mexico.

Familia	Género y/o especie	Familia	Género y/o especie
Amaranthaceae	<i>Amaranthus spinosus</i>	Euphorbiaceae	<i>Alchornea latifolia</i>
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>		<i>Alchornea</i> tipo
Aquifoliaceae	<i>Ilex</i> sp.		<i>floribunda</i>
			<i>Alchornea</i> tipo
			<i>trewioides</i>
Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i>	Fabaceae	<i>Dalea</i> sp.
	<i>Ambrosia tenuifolia</i>		<i>Desmodium</i> sp.
	<i>Anthemis arvensis</i>		<i>Diphysa carthagenesis</i>
	<i>Asteraceae</i> sp.		<i>Entada gigas</i>
	<i>Baccharis articulata</i>		<i>Genista</i> sp
	<i>Baccharis stenocephala</i>		<i>Inga</i> sp.
	<i>Dyssodia papposa</i>		<i>Lonchocarpus</i> sp.
	<i>Eupatorium</i> sp.		<i>Macroptilium</i> sp.
	<i>Pentacalia ledifolia</i>		
	<i>Praxelis</i> sp.		
	<i>Viguiera dentata</i>		
Betulaceae	<i>Alnus glutinosa</i>	Fagaceae	<i>Quercus</i> sp.
Bixaceae	<i>Cochlospermum</i>	Lauraceae	<i>Beilschmiedia</i> sp.
	<i>vitifolium</i>		<i>Litsea</i> sp.
Brassicaceae	<i>Brassica campestris</i>	Malvaceae	<i>Heliocarpus</i> sp.
Cannabaceae	<i>Trema micrantha</i>	Combretaceae	<i>Combretum lythrum</i>
			<i>Eucalyptus ficifolia</i>
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i>	Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i>
			<i>Psidium</i> sp.
			<i>Prunus domestica</i>
Curcubitaceae	<i>Melothria pendula</i>	Rosaceae	<i>Prunus domestica</i>
Cyperaceae	<i>Cyperaceae</i> sp.	Sapindaceae	<i>Melicoccus ovaliformis</i>
		Vitaceae	<i>Vitis tiliifolia</i>

minoritario o traza. En las mieles de San Antonio Eloxochitlán se encontraron 11 tipos polínicos, el 66,99% fue polen minoritario importante y el 33,31% de polen minoritario o traza. De acuerdo a estos registros solo cinco géneros de distintas familias fueron encontrados con porcentajes superiores al 10%. Las mieles analizadas pueden ser clasificadas como multiflorales. La presencia de una gran variedad de granos de polen en las distintas muestras analizadas, podría deberse a la cercanía entre los municipios, la biodiversidad botánica de la región, así como a las condiciones agroclimáticas similares (clima templado húmedo con lluvia la mayor parte del año). Real-Luna et al (2021), Villaseñor (2016) mencionan que México presenta una gran biodiversidad de plantas vasculares. De acuerdo con la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) la Sierra de Flores Magón, conserva áreas extensas de bosques mesófilos de montaña que aún no son objeto de estudios detallados,

por consiguiente, existe poca o nula evidencia de toda la floración de esta área (Lorea-Hernández, 2024). Las mieles mexicanas tienen una excelente aceptación a nivel mundial. Por otra parte, el estado de Oaxaca, se encuentra en el sureste de México, zona reconocida por su producción de miel de gran calidad. En general *A. mellifera* visita un promedio de 43 especies de plantas, las cuales pertenecen en un rango de 16 a 60 familias (Baena-Díaz et al., 2022). Granados-Argüello et al. (2020) mencionan que las familias Asteraceae y Fabaceae registran el mayor número de géneros y especies en mieles del estado de Veracruz. Varias familias, géneros y especies encontradas en este estudio, coinciden con los granos de polen presentes en mieles provenientes de otras regiones alejadas en el país, como Campeche (Villalpando-Aguilar et al., 2022). En la Figs. 1, 2 y 3 se muestran los nueve géneros de granos de polen presentes en mayor proporción en las muestras de mieles de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México.

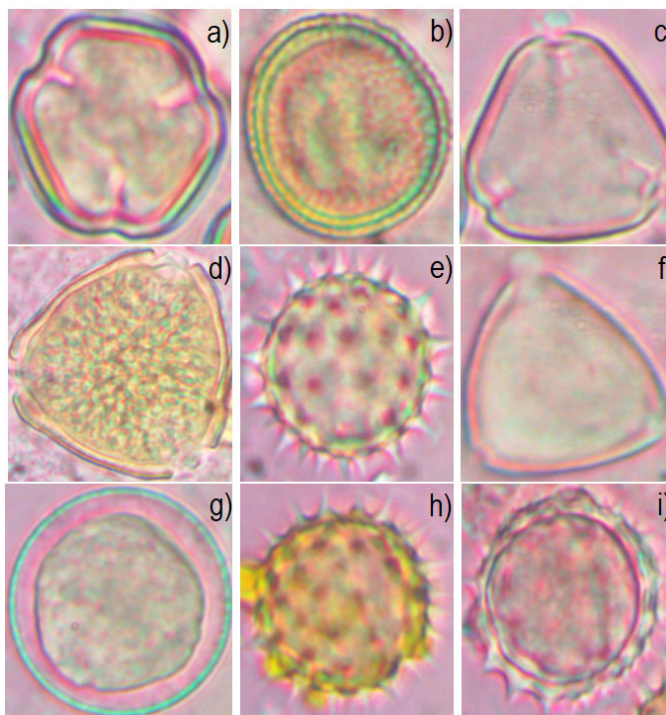


Fig. 1. Micrografías de granos de polen de mieles de San Pedro Ocopetatillo, vistos en un microscopio invertido de contraste de fases (Marca: Olympus, Modelo: CKX41, EE. UU) a 40x. a-l V. P. a). *Vitis tiliifolia*, b). *Brassica campestris*, c). *Melicoccus oviliformis*, d) *Melothria pendula*, e) *Viguiera dentata*, f) *Eucalyptus ficifolia*, g) *Litsea* sp., h) *Montanoa grandiflora*, i) *Pentacalia ledifolia*.

Fig. 1. Micrographs of pollen grains from honey from San Pedro Ocopetatillo, observed under an inverted phase-contrast microscope (Brand: Olympus, Model: CKX41, USA) at 40x. a-l V. P. a). *Vitis tiliifolia*, b). *Brassica campestris*, c). *Melicoccus oviliformis*, d) *Melothria pendula*, e) *Viguiera dentata*, f) *Eucalyptus ficifolia*, g) *Litsea* sp., h) *Montanoa grandiflora*, i) *Pentacalia ledifolia*.

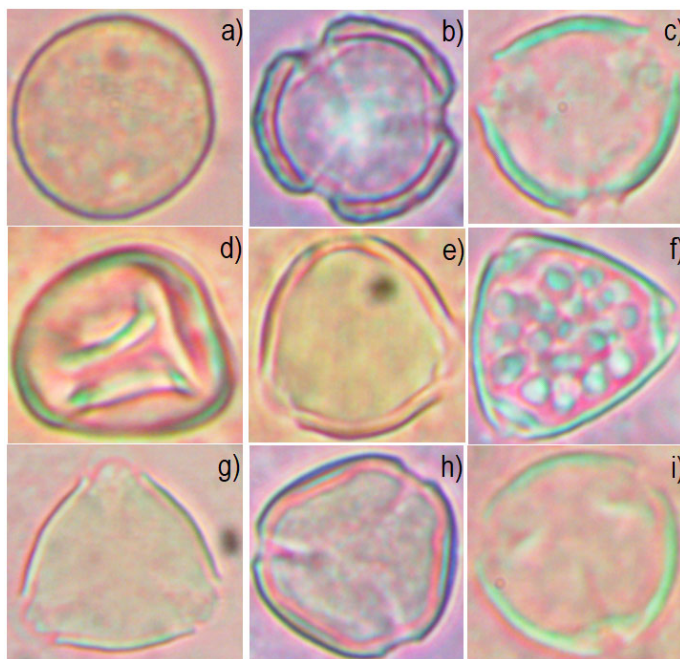


Fig. 2. Micrografías de granos de polen de mieles de San Jerónimo Tecoaht, vistos en un microscopio invertido de contraste de fases (Marca: Olympus, Modelo: CKX41, EE. UU) a 40x. a-l V. P. a). *Trema micrantha*, b). *Ambrosia tenuifolia*, c). *Macroptilium*, d). *Cyperaceae*, e). *Lonchocarpus* sp., f). *Psidium* sp., g). *Quercus* sp., h). *Vitis tiliifolia*, i). *Cochlospermum vitifolium*.

Fig. 2. Micrographs of pollen grains from honey from San Jerónimo Tecoaht, observed under an inverted phase-contrast microscope (Olympus, Model: CKX41, USA) at 40x. a-l V. P. a). *Trema micrantha*, b). *Ambrosia tenuifolia*, c). *Macroptilium*, d). *Cyperaceae*, e). *Lonchocarpus* sp., f). *Psidium* sp., g). *Quercus* sp., h). *Vitis tiliifolia*, i). *Cochlospermum vitifolium*.

Contenido de fenoles y flavonoides totales en miel de abeja (*A. mellifera*)

En la Tabla 2 se presentan los resultados del contenido de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante en muestras de mieles de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca. El contenido de fenoles totales para las muestras de SJ (n= 12) fue de 96,53 a 151,17 mg EAG 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 128,78 ± 15,57 mg EAG 100 g⁻¹ de miel. El rango para las muestras de SP (n= 6) fue de 129,70 a 199,22 mg EAG 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 162,25 ± 23,73 mg EAG 100 g⁻¹ de miel. Para las muestras de SA (n= 11) el rango de fenoles totales fue de 118,39 a 177,29 mg EAG 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 142,64 ± 17,51 mg EAG 100 g⁻¹ de miel. No se encontró diferencia significativa (P <0,05) entre las muestras de cada municipio. Los resultados podrían estar directamente relacionados con la zona geográfica, tipo de floración, condiciones agroclimáticas, así como la época del año, donde las abejas recolectan el néctar y polen (Pauliuc et al., 2020). Fratuanni et al. (2024) reportaron

valores de 11 a 40,80 mg EAG de polifenoles totales por 100 g de miel, en muestras comerciales de miel orgánica de leguminosas. Kivima et al. (2021) reportaron el contenido de fenoles totales en un rango de 13,80 a 88,70 mg EAG 100 g⁻¹ en diversas muestras de miel provenientes de Estonia; destacaron que sus resultados estaban en función del tipo de floración, además dichos valores están relacionados con el color de la miel y están directamente correlacionados con la actividad antioxidante. Los resultados de esta investigación son similares a los reportados en muestras de miel del estado de México con un promedio de 184 mg EAG 100 g⁻¹ de miel (Alcivar-Saldaña et al., 2024). Hegazi et al. (2022) analizaron 376 muestras de miel monofloral de moringa, el contenido de fenoles totales fue de 179,89 a 245,30 mg EAG 100 g⁻¹ de miel, dichos resultados son similares a las mieles provenientes de San Pedro. Además, enfatizan que las mieles multiflorales presentan mayor contenido de compuestos fenólicos.

El contenido de flavonoides totales para las

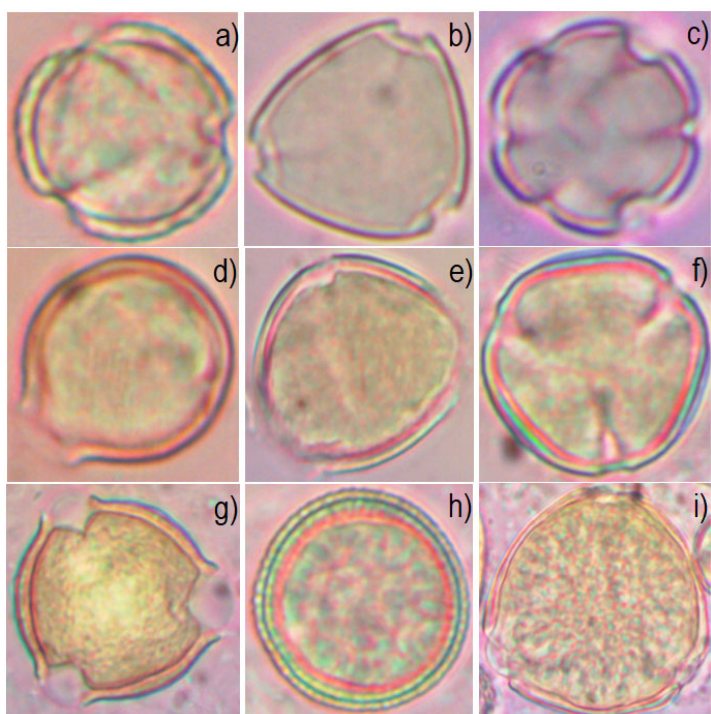


Fig. 3. Micrografías de granos de polen de mieles de San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón, vistos en un microscopio invertido de contraste de fases (Marca: Olympus, Modelo: CKX41, EE. UU) a 40x. a-l V. P. a). *Ambrosia tenuifolia*, b). *Melicoccus oviliformis*, c). *Combretum lythrum*, d). *Lonchocarpus* sp., e). *Prunus domestica*, f). *Vitis tiliifolia*, g). *Mangifera indica*, h). *Brassica campestris*, i). *Melothria pendula*.

Fig. 3. Micrographs of pollen grains from honey from San Antonio Eloxochitlán de Flores Magón, observed under an inverted phase-contrast microscope (Olympus, Model: CKX41, USA) at 40x. a-l V. P. a). *Ambrosia tenuifolia*, b). *Melicoccus oviliformis*, c). *Combretum lythrum*, d). *Lonchocarpus* sp., e). *Prunus domestica*, f). *Vitis tiliifolia*, g). *Mangifera indica*, h). *Brassica campestris*, i). *Melothria pendula*.

muestras de SJ (n= 12) fue de 5,45 a 11,20 mg EQ 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 7,49 ± 1,61 mg EQ 100 g⁻¹ de miel. El rango para las muestras de SP (n= 6) fue de 6,43 a 14,76 mg EQ 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 10,69 ± 2,81 mg EQ 100 g⁻¹ de miel. Para las muestras de SA (n= 11) el rango de flavonoides totales fue de 6,14 a 10,03 mg EQ 100 g⁻¹ de miel, con un promedio de 8,21 ± 1,39 mg EQ 100 g⁻¹ de miel. No hubo diferencia significativa (P > 0,05) entre las muestras de cada municipio. Hegazi et al. (2022) reportan un rango de flavonoides totales de 163,86 a 183,10 mg ER 100 g⁻¹ de miel de moringa, proveniente de Arabia Saudita, enfatizan que las mieles presentaban un color muy oscuro. Por otra parte, Homrani et al. (2020) reportaron valores de flavonoides totales de 1 a 12,90 mg 100 g⁻¹ de miel; refieren que la variabilidad está en función al origen botánico

de la miel, así como de factores bioclimáticos. La miel de Irán presenta un buen contenido de compuestos bioactivos, respecto a los flavonoides totales presenta un rango 2,71 a 23,45 mg EQ 100 g⁻¹ de miel (Akbari et al., 2020). Los flavonoides pertenecen al grupo de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, y juegan un rol importante en la miel, formando parte del aroma, y siendo responsable de las propiedades funcionales, tales como la actividad antioxidante (Bayram et al., 2020). Debido a que el metabolismo para la síntesis de compuestos bioactivos, como los flavonoides, se regula mediante mecanismos enzimáticos, sus necesidades fisiológicas y, el estrés oxidativo al que se encuentran sometidas, entre otras, impactan directamente en la composición del néctar que la abeja forrajea para la producción de miel (Dezmirean et al., 2017),

Tabla 2. Contenido de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en muestras de miel de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México.**Table 2. Total phenolic content, total flavonoids and antioxidant activity of honey samples from the Sierra de Flores Magón region, Oaxaca, Mexico.**

No.	Fenoles totales (mg EAG 100 g ⁻¹)	Flavonoides		
		totales (mg EQ 100 g ⁻¹)	ABTS+ (mg EAG 100 g ⁻¹)	DPPH+ (mg EAG 100 g ⁻¹)
SJ1	117,16 + 2,71	7,98 + 0,18	85,86 + 0,50	172,35 + 4,00
SJ2	136,24 + 6,18	8,13 + 0,68	100,52 + 1,17	183,31 + 1,43
SJ3	127,21 + 3,33	5,45 + 0,37	114,93 + 3,81	147,24 + 61,10
SJ4	121,78 + 0,32	8,39 + 0,15	94,64 + 1,05	149,20 + 4,07
SJ5	123,60 + 4,89	5,82 + 0,10	93,38 + 1,11	161,23 + 1,54
SJ6	118,68 + 2,73	9,05 + 0,67	92,71 + 1,16	181,51 + 0,93
SJ7	135,07 + 4,28	6,54 + 0,82	101,01 + 2,52	166,06 + 18,74
SJ8	146,92 + 5,61	11,20 + 0,46	112,44 + 0,25	176,79 + 1,58
SJ9	151,18 + 2,49	6,25 + 0,06	92,77 + 0,72	163,13 + 2,32
SJ10	96,53 + 3,45	6,80 + 0,11	71,79 + 6,78	116,37 + 1,25
SJ11	126,82 + 15,52	6,36 + 0,36	91,16 + 2,02	169,91 + 3,25
SJ12	144,14 + 7,85	7,87 + 0,15	130,07 + 22,06	163,90 + 14,40
SJ (n = 12)	128,78 + 15,57a	7,49 + 1,61a	98,44 + 15,72a	162,58 + 23,79a
SP1	159,99 + 2,21	8,69 + 0,00	134,96 + 1,34	198,70 + 1,35
SP2	158,39 + 1,28	11,67 + 0,12	133,00 + 1,62	207,96 + 0,52
SP3	129,71 + 0,96	6,43 + 0,63	94,53 + 1,23	164,67 + 3,76
SP4	145,00 + 8,57	11,68 + 0,38	134,00 + 2,23	188,93 + 1,86
SP5	199,22 + 5,96	10,92 + 2,35	194,86 + 1,27	241,25 + 1,55
SP6	181,20 + 4,15	14,76 + 0,38	180,24 + 1,18	228,07 + 1,74
SP (n = 6)	162,25 + 23,73a	10,69 + 2,81a	145,27 + 34,25a	204,93 + 25,88a
SA1	177,30 + 1,56	9,57 + 0,12	179,76 + 1,08	206,76 + 8,45
SA2	132,82 + 2,27	6,67 + 0,15	84,24 + 2,90	178,10 + 1,34
SA3	143,32 + 6,85	9,02 + 0,33	97,72 + 1,13	163,97 + 2,92
SA4	163,64 + 1,13	8,64 + 0,06	148,39 + 2,05	190,59 + 4,43
SA5	158,80 + 0,95	6,14 + 0,26	136,56 + 2,07	196,30 + 4,07
SA6	141,70 + 1,25	10,03 + 1,36	111,03 + 1,54	130,38 + 2,83
SA7	118,40 + 3,08	6,73 + 0,12	95,44 + 0,62	154,46 + 0,50
SA8	129,62 + 2,48	7,26 + 0,15	98,69 + 1,75	183,75 + 2,97
SA9	145,08 + 4,04	7,96 + 0,47	131,71 + 2,88	191,46 + 2,74
SA10	123,00 + 1,08	9,92 + 0,35	100,21 + 1,95	182,79 + 4,37
SA11	135,32 + 2,80	8,42 + 0,37	91,65 + 3,19	168,25 + 1,38
SA (n = 11)	142,64 + 17,51a	8,21 + 1,39a	115,95 + 28,64a	176,98 + 21,15a

Diferentes letras minúsculas en las columnas representan diferencia significativa ($P < 0,05$) con una comparación de medias por la prueba de Tukey. SJ= San Jerónimo Tecóatl; SP= San Pedro Ocopetatlillo; SA= San Antonio Eloxochitlán

entonces, de acuerdo a Miranda et al. (2023) además de la temporada, otra causa para la síntesis de polifenoles y flavonoides, podría ser que los años cada vez son más cálidos, lo que se traduce en el aumento de estos compuestos bioactivos en plantas que están sometidas a estrés

hídrico, y los compuestos posteriormente pasarán a formar parte de la miel.

Actividad antioxidante en miel de abeja (*A. mellifera*)

La actividad antioxidante determinada por el

método ABTS y DPPH, se presenta en la Tabla 2. La actividad antioxidante en el método ABTS para las muestras SJ ($n=12$) fue de $71,79 \pm 130,07$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $98,44 \pm 15,72$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. Para SP ($n=6$) fue de $94,53 \pm 194,86$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $145,27 \pm 34,25$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. Mientras que las muestras de SA ($n=11$) presentaron un rango de $84,24$ a $179,76$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $115,95 \pm 28,64$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. No se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$) entre las muestras de cada municipio. La actividad antioxidante en el método DPPH para las muestras SJ ($n=12$) fue de $116,37$ a $183,31$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $162,58 \pm 23,79$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. Para SP ($n=6$) fue de $164,67$ a $241,25$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $204,93 \pm 25,88$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. Mientras que las muestras de SA ($n=11$) presentaron un rango de $130,38$ a $206,76$ mg EAG 100 g^{-1} de miel, con un promedio de $176,98 \pm 21,15$ mg EAG 100 g^{-1} de miel. Al igual que en la determinación realizada por el método ABTS, no se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$) entre las muestras de cada municipio. Los resultados de esta investigación son superiores a los reportados por Peláez-Acero et al. (2022) y Alcivar-Saldaña et al., (2024) de $18,30$ a $29,85$ y 26 a 36 mg EAG 100 g^{-1} de miel respectivamente, estos autores destacan la importancia del origen botánico de las mieles, sobre esta propiedad funcional. Se ha reportado que mieles de color claro presentan menor actividad antioxidante en comparación con mieles más oscuras, además, el color de la miel está en función del origen botánico (Pauliuc et al., 2020). Por otra parte, mieles multiflorales presentan mayor actividad antioxidante en comparación con mieles monoflorales (Akgün et al., 2021). Cabe destacar que, la actividad antioxidante de la miel, mantiene una relación directa con el contenido de compuestos fenólicos (Becerril-Sánchez et al., 2022). Es reconocido el potencial que los compuestos fenólicos tienen para propiciar una elevada actividad antioxidante, sin embargo, hay que reconocer que esto va más allá, pues los mecanismos antioxidantes también incluyen otros compuestos como péptidos, ácidos orgánicos, enzimas e incluso productos de la reacción de Maillard, por mencionar algunos, lo que podría sugerir incluso algún posible efecto sinérgico para potenciar este fenómeno (Miranda et al., 2023).

Actividad antibacteriana en miel de abeja (*A. mellifera*)

Se evaluó la actividad antibacteriana contra *S. aureus*, *S. mutans* y *S. typhi* en muestras de miel provenientes de tres municipios de la Sierra de Flores Magón, Oaxaca. Respecto a *S. aureus*

(Fig. 4 (a)) los halos de inhibición en mieles de SJ fue de $26,17$ a $30,42$ mm, para SP fue de $26,23$ a $29,85$ y para las mieles de SA fue $26,21$ a $29,74$ mm, no se encontró diferencia significativa ($P > 0,05$) entre las muestras de los tres municipios a la concentración del 100% respecto al control positivo +. No se encontró diferencia entre la concentración del 100 y 75% para las muestras de los tres municipios. Los resultados de esta investigación fueron superiores a los reportados en mieles de Zambia, con halos de inhibición de 13 a 20 mm, en concentraciones de miel del 25 al 100% (Mudenda et al., 2023). Como se puede observar en la Fig. 4, la actividad antibacteriana de la miel aumenta conforme aumenta su concentración. Kassym et al. (2024), Mudenda et al. (2023), Hegazi et al. (2022), Deglovic et al. (2022), Almasaudi (2021), demuestran que la miel presenta adecuada actividad antimicrobiana (bacterias Gram -, Gram+, aerobias y anaerobias, hongos, virus, entre otros), y esta propiedad mantiene una fuerte relación con las zonas geográficas y el origen botánico donde las abejas obtienen sus nutrientes.

En la Fig. 4 (b), se muestran los resultados de la actividad inhibitoria para *S. mutans*. Los halos de inhibición para las mieles de SJ fueron de $26,30$ a $30,78$ mm; para las mieles de SP de $26,38$ a $29,71$ mm y para las muestras de SA de $25,90$ a $29,37$ mm. Los resultados presentaron un comportamiento de inhibición similar al observado para *S. aureus*; además, no se encontró diferencia entre la concentración del 100 y 75% para las muestras de los tres municipios. Por otra parte, los halos de inhibición del control positivo fueron superiores a los de las muestras analizadas. La miel presenta excelente actividad antibacteriana contra *S. mutans*, además de inhibir la formación de biopelículas, dicha inhibición está fuertemente relacionada con el contenido de compuestos fenólicos y el contenido de peróxido de hidrógeno de la miel (Grabek-Lejko y Hyrczel, 2023). Yu et al. (2024); enfatizan que el efecto antimicrobiano de la miel sobre *Streptococcus pyogenes*, es atribuido a algunos compuestos bioactivos presentes en la miel como apigenina, quercetina, genisteína y ácido 4-hidroxibenzoico, proponiendo que el mecanismo de acción puede estar relacionado con la inhibición de enzimas antioxidantes (glutatión peroxidasa y tirosil ARNt sintetasa), con lo que el microorganismo aumentó significativamente el estrés oxidativo, lo que se traduce en inhibición del crecimiento microbiano. La miel de *A. mellifera*, es eficaz en su aplicación tópica en diversas áreas de la medicina; dermatología, oftalmología y estomatología; su eficiencia clínica es menor que los enjuagues bucales convencionales (Deglovic et al., 2022).

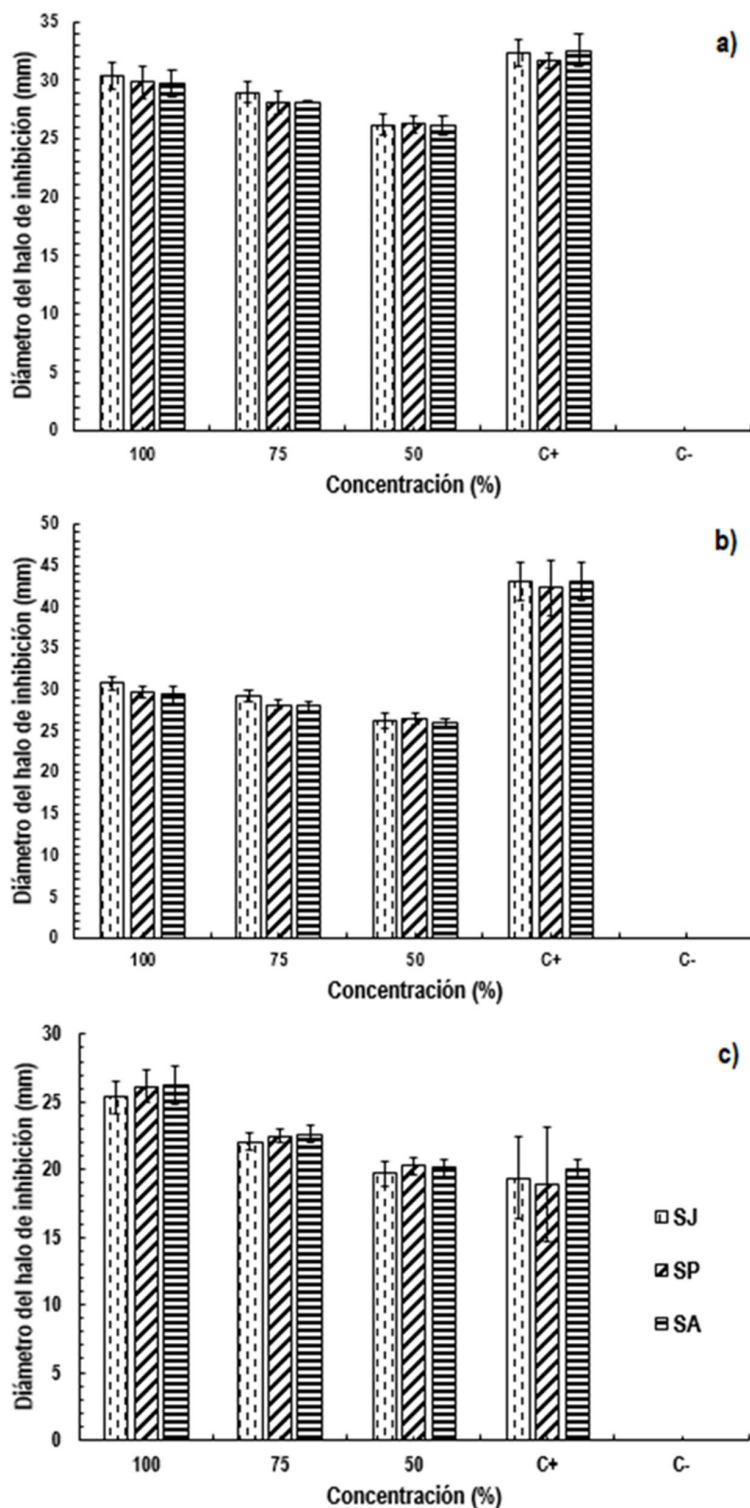


Fig. 4. Actividad antibacteriana de muestras de miel de la región Sierra de Flores Magón, Oaxaca, México. a) *S. aureus*, b) *S. mutans*, y c) *S. typhi*.

Fig. 4. Antibacterial activity of honey samples from the Sierra de Flores Magón region, Oaxaca, Mexico. a) *S. aureus*, b) *S. mutans*, y c) *S. typhi*.

Por lo tanto, es necesario, buscar alternativas de aplicación y/o desarrollo de formulaciones farmacéuticas.

Respecto a la inhibición de *Salmonella*, se obtuvieron halos de inhibición de 19,74 a 25,34 mm para las mieles de SJ, de 20,26 a 26,16 mm para las mieles de SP y de 20,13 a 26,3 para las muestras de SA. Cabe hacer mención, que muestras al 100% presentaron mayores halos de inhibición que el control positivo. Esto podría indicar que las mieles de los tres municipios de la Sierra de Flores Magón, son más eficientes contra *S. typhi*. Ayub et al. (2020) mencionan que la miel de Paquistán ejerce un efecto antimicrobiano contra *Salmonella* a partir de una concentración del 25%. Por otra parte, Ejaz et al. (2023), reportaron valores máximos de 13 mm en halos de inhibición de cepas de *Salmonella*, aisladas de pacientes pediátricos; destacan que las mieles de Paquistán pueden ser empleadas de manera efectiva en el tratamiento de este tipo de microorganismos responsables de enfermedades asociadas al consumo de agua y alimentos contaminados. De acuerdo con İstanbullugil et al. (2023), la miel es una excelente alternativa en el tratamiento de diversas enfermedades, especialmente contra cepas microbianas resistentes a antibióticos. Las propiedades antimicrobianas de la miel son atribuidas a diversos factores, entre lo que destacan: el alto contenido de azúcares (osmolaridad), bajo pH, contenido de compuestos fenólicos, peróxido de hidrógeno, así como defensina-1 (İstanbullugil et al., 2023). Otros factores fitoquímicos, como la presencia de; tetraciclina, peróxidos, amilasa, ácidos grasos, fenoles, ácido ascórbico, terpenos, alcoholes bencílicos y ácido benzoico (Almasaudi, 2021).

CONCLUSIONES

El presente estudio demuestra la diversidad botánica entre las mieles de la Sierra de Flores Magón, Oaxaca, debido a que se identificaron más de 43 tipos de polen, lo que hace destacar su carácter multifloral. Además, estas mieles presentaron elevadas concentraciones de compuestos bioactivos, responsables de la actividad antioxidante, al igual que demostraron ser eficientes contra *S. aureus*, *S. mutans* y *S. typhi*. Se confirma la calidad de la miel mexicana, resalta su importancia como alimento funcional y demuestra una vez más por qué es tan utilizada en la medicina tradicional.

Contribución de autores

Participación activa en la revisión bibliográfica: Arely León López; Participación activa en

la elaboración de la metodología: Elizabeth Pérez Soto y Jesús Manuel Campos Pastelin; Participación activa en la discusión de los resultados: Antonio de Jesús Cenobio Galindo y Uriel González Lemus; Revisión y aprobación de la versión final del artículo: Lucio González Montiel

LITERATURA CITADA

- Ahmed, M.M., S.E. Makawi and A.S. Jubara. 1998. Synchronization of oestrus in Nubian goats. *Small Ruminant Research* 30(2):113-120.
- Al Yacoub, A.N., M. Gaulty, B. Sohnrey and W. Holtz. 2011. Fixed-time deep uterine insemination in PGF₂α-synchronized goats. *Theriogenology* 76(9):1730-1735.
- Bruno-Galarraga, M., V. Cano-Moreno, B. Lago-Cruz, T. Encinas, A. Gonzalez-Bulnes and P. Martinez-Ros. 2021. The use of hCG for inducing ovulation in sheep estrus synchronization impairs ovulatory follicle growth and fertility. *Animals* 11:984.
- Burutaran, M., S. Fierro, F. Negrín, M. Minteguiaga, J. Gil and J. Olivera-Muzante. 2024. Estrous, ovulation and reproductive responses of ewes synchronized with a long interval prostaglandin-based protocol for timed AI. *Theriogenology* 214:187-191.
- Cox, J.F., A. Carrasco, F. Navarrete, A. Bocic, F. Saravia and J. Dorado. 2024. A subovulatory dose of human chorionic gonadotropin (hCG) may sustain terminal follicle development and reproductive efficiency during anestrus in sheep. *Animals* 14(7):1096.
- Cueto, M.I., M.M. Bruno-Galarraga, J. Fernandez, S. Fierro and A.E. Gibbons. 2020. Addition of eCG to a 14 d prostaglandin treatment regimen in sheep FTAI programs. *Animal Reproduction Science* 221:106597.
- Dias, J.H., V.O. Miranda, F.C. Oliveira, S.V. Junior, C.S. Haas, V.G.G. Costa, T. Lucia Jr, A.D. Vieira, C.D. Corcini and B.G. Gasperin. 2020. Treatment with eCG and hCG to induce onset of estrous cycles in ewes during the non-breeding season: Effects on follicular development and fertility. *Animal Reproduction Science* 212:106232.
- Doğan, İ.B.R.A.H.İ.M., M. Toker, A. Aktar, M. Yılmaz and D.U.Y.G.U. Udum. 2023. Effect of hCG administration on ovulation and estrus in Saanen goats subjected to short-term estrus synchronization protocol during the breeding season. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 74(2):[sin paginación].

- Esteves, L.V., F.Z. Brandão, R.C. Cruz, J.M.G. Souza, E. Oba, O. Facó and J.F. Fonseca. 2013. Reproductive parameters of dairy goats submitted to estrus synchronization with prostaglandin $F_{2\alpha}$ associated or not to hCG at estrous onset. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 65:1585-1592.
- FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching, 3rd ed. Federation of Animal Science Society, Champaign, IL, USA. 177 p.
- Fatet, A., M.T. Pellicer-Rubio and B. Leboeuf. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science* 124(3-4):211-219.
- Fierro, S., J. Gil, C. Viñoles and J. Olivera-Muzante. 2013. The use of prostaglandins in controlling estrous cycle of the ewe: A review. *Theriogenology* 79(3):399-408.
- Fierro, S., C. Viñoles and J. Olivera-Muzante. 2016. Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. *Animal Reproduction Science* 167:74-82.
- Fonseca, J.F., J.H. Bruschi, I.C.C. Santos, J.H.M. Viana and A.C.M. Magalhaes. 2005. Induction of estrus in non-lactating dairy goats with different estrous synchrony protocols. *Animal Reproduction Science* 85(1-2):117-124.
- Gonzalez-Bulnes, A., A. Menchaca, G.B. Martin and P. Martinez-Ros. 2020. Seventy years progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: Where we are and where we should go. *Reproduction Fertility and Development* 32:441-452.
- Letelier, C.A., I. Contreras-Solis, R.A. García-Fernández, M.A. Sánchez, P. García-Palencia, B. Sánchez, C. Ariznavarreta, J.A.F. Tresguerres, J.M. Flores and A. Gonzalez-Bulnes. 2011. Effects of oestrus induction with progestagens or prostaglandin analogues on ovarian and pituitary function in sheep. *Animal Reproduction Science* 126(1-2):61-69.
- Light, J.E., W.J. Silvia and R.C. Reid. 1994. Luteolytic effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ and two metabolites in ewes. *Journal of Animal Science* 72(10):2718-2721.
- Martinez-Ros, P. and A. Gonzalez-Bulnes. 2019. Efficiency of CIDR-based protocols including GnRH instead of eCG for estrus synchronization in sheep. *Animals* 9(4):146.
- Menchaca, A., V. Miller, J. Gil, A. Pinczak, M. Laca and E. Rubianes. 2004. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reproduction in Domestic Animals* 39(5):352-355.
- Menchaca, A. and E. Rubianes. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction Fertility and Development* 16(4):403-413.
- NAM. 2010. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 1st ed. National Academy of Medicine-Mexico and AAALAC International, Harlan, Mexico City, Mexico.
- Olivera-Muzante, J., S. Fierro and M.A. Minteguiaga. 2020. Long interval prostaglandin-based treatment regimens do not affect ovulatory or prolificacy rates of multiparous ewes after cervical fixed timed AI. *Animal Reproduction Science* 218:106482.
- Parmar, S.C. 2015. Anovulation, delayed ovulation and luteal insufficiency. *Trends in Biosciences* 8:1203-1206.
- Romano, J. E., Alkar, A., and Amstalden, M. 2017. Onset of luteolytic action of exogenous prostaglandin $F_{2\alpha}$ during estrous cycle in goats. *Theriogenology*, 92, 45-50.
- Rodrigues, J.N.D., J.D. Guimarães, M.E.F. Oliveira, J.H. Dias, A.M. Arrais, M.A.P. de Sousa, R. Bastos, B. Ahmadi, P.M. Bartlewski and J.F. Fonseca. 2022. Human chorionic gonadotropin affects original (ovulatory) and induced (accessory) corpora lutea, progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous dairy goats. *Reproductive Biology* 22(1):100591.
- Rubianes, E., A. Menchaca and B. Carbajal. 2003. Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Animal Reproduction Science* 78(1-2):47-55.
- Santos-Jimenez, Z., S. Guillen-Gargallo, T. Encinas, F. Berlinguer, F.G. Veliz-Deras, P. Martinez-Ros and A. Gonzalez-Bulnes. 2020. Use of propylene-glycol as a cosolvent for GnRH in synchronization of estrus and ovulation in sheep. *Animals* 10:897.
- Santos-Jimenez, Z., C.A. Meza-Herrera, G. Calderon-Leyva, P. Martinez-Ros, J.M. Guillen-Muñoz and A. Gonzalez-Bulnes. 2021. Efficiency of hCG for inducing resumption of ovarian cyclicity and synchronized ovulations during the seasonal anestrous in sheep. *Animals* 11(11):3159.

- Silva, S.R., L. Sacarrão-Birrento, M. Almeida, D.M. Ribeiro, C. Guedes, J.R. González Montaña, A.F. Pereira, K. Zaralis, A. Geraldo, O. Tzamaloukas et al. 2022. Extensive sheep and goat production: The role of novel technologies towards sustainability and animal welfare. *Animals* 12:885.
- Sun, S., M. Lv, H. Niu and J. Luo. 2024. Influence of repeated estrus synchronization treatment on hormone secretion, growth, and development of dairy goats. *Frontiers in Veterinary Science* 10:1333633.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science* 77(Suppl. 2):47–53.
- Yu, X., Y. Bai, J. Yang, X. Zhao, L. Zhang and J. Wang. 2022. Comparison of five protocols of estrous synchronization on reproductive performance of Hu sheep. *Frontiers in Veterinary Science* 9:843514.

