

KAHUN

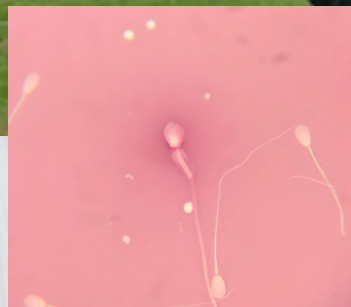
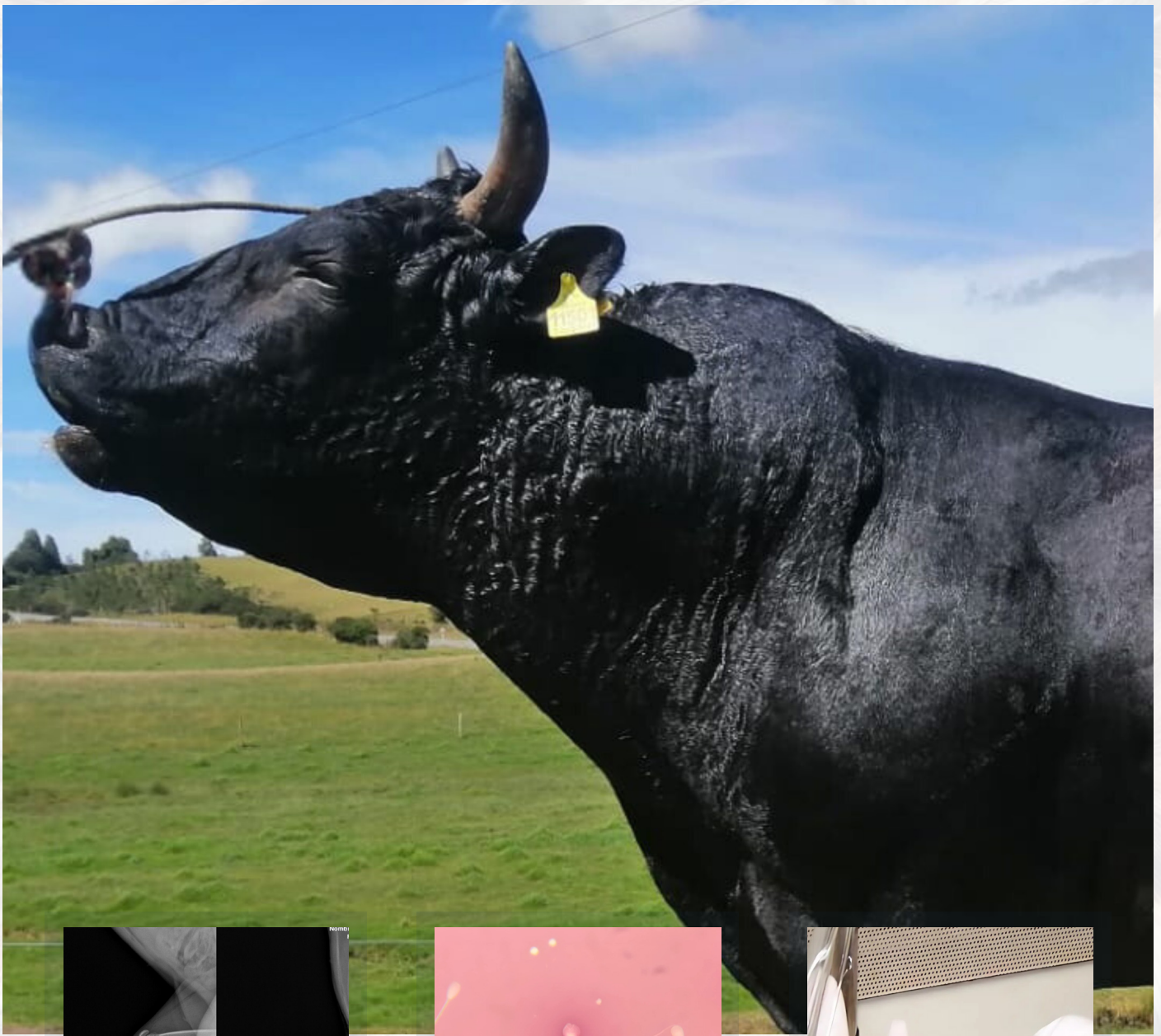
Revista Científica

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Oct. 2024

Vol. 1

ISSN 3028-6697



Directivos

Consejo Superior

Luis Javier Giraldo Múnera – Presidente
Alejandro Olaya Dávila – Miembro externo
María Juliana Araujo Oñate – Miembro externo
Oscar Manco López – Miembro externo
Arley Gómez López – Miembro externo
Javier Pérez Montenegro – Decano miembro del Consejo
Javier Felipe Ruíz Rodríguez – Representante de los profesores
Julio Farid Mejía – Representante de los estudiantes
Catalina del Pilar Ariza Hernández – Representante de los egresados

Rector y Representante Legal

Fernando José Restrepo Escobar

Vicerrector Académico

Javier Daza Lesmes

Vicerrectora Financiera y Administrativa

María Fernanda Juliao Ferreira

Vicerrector de Desarrollo Estratégico

Yezid Orlando Pérez Alemán

Secretario General

Alejandro Suárez Parada

Director de Docencia y Gestión de Profesores

Fernando Locano Botero

Directora de Investigación y Extensión

Margarita Cárdenas Poveda

Decano Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Javier Pérez Montenegro

Coordinadora de Investigación

Giovana Rodríguez Caro

Comité Editorial

Área de Ciencias Animales y Ambientales

Giovana Rodríguez Caro

Zoot., Esp. MSc. (c) PhD. Docente Investigador y Coordinadora de investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Nacional.

Deivis Suárez Rivero

Ingeniero Agrónomo de la Universidad Agraria de La Habana, con Maestría en Biología Vegetal y énfasis en Biología Vegetal de la Universidad de La Habana. Doctor en Ciencias Naturales para el Desarrollo de la Universidad Nacional de Costa Rica.

Área de Medicina Veterinaria

Angélica Castellanos

VMD., MSc. PhD. Docente Investigadora de la Fundación Universitaria San Martín.

Shirley Andrea Flórez Rodríguez

Médica Veterinaria y Zootecnista. MSc en Reproducción Animal de la Universidad de São Paulo, Brasil. Diplomado en Extensión Rural de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Comité Científico

Diego Chamorro Viveros

Zootecnista de la Universidad de Nariño, con tesis meritoria. Especialista en Pastos y Forrajes de CIAT. Magíster en Ciencias de Producción Animal de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, con tesis meritoria. Estudiante de Doctorado en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Docente de planta e investigador en el CCAV de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Sede Pasto.

Carlos Alberto Martínez Niño

Zootecnista de la Universidad Nacional de Colombia. MSc en Producción Animal con énfasis en Genética Cuantitativa. Magíster en Estadística. PhD en Genética-Estadística.

Rodrigo Morchón García

Licenciado en Ciencias Biológicas y Doctor en Biología de la Universidad de Salamanca. Profesor Titular del Área de Parasitología y responsable del grupo de investigación Enfermedades Zoonóticas y Una Sola Salud de la Universidad de Salamanca. Vicepresidente de la European Society of Dirofilariosis and Angiostrongylosis y miembro colaborador de instituciones y grupos de investigación en España, Italia, Grecia, Serbia, Colombia, México y miembro de la American Heartworm Society.

KAHUN

Número de volumen: 1

Periodicidad: Anual

Formato: Digital

ISSN: 3028-6697

Año: 2024

Diseño de cubierta y diagramación:

Paula Delgado Rodríguez

URL de la publicación:

Las opiniones y contenidos reflejados en los artículos de esta publicación no necesariamente reflejan la posición de la Fundación Universitaria San Martín por lo que son responsabilidad exclusiva de los autores que aportaron su conocimiento para el desarrollo de esta edición.

Dirección de Investigación y Extensión

Carrera 18 # 80-75

Bogotá D.C., Colombia.

PBX: 4322671

Correo electrónico de la revista: revistaveterinaria@sanmartin.edu.co

CONTENIDO

KAHUN

Vol. 1

01

EDITORIAL

7-8

Evolución de la producción y escritura científica en las ciencias animales.

7-8

Citar como: Pérez-Montenegro J. Evolución de la producción y escritura científica en las ciencias animales. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 7 a 8. ISSN 3028-6697

02

ARTÍCULOS ORIGINALES DE INVESTIGACIÓN

9-66

Uso de herramientas diagnósticas para el análisis de gases sanguíneos y electrolitos en corderos de la raza Columbia como método de enseñanza práctica en la asignatura de Bioquímica para médicos veterinarios zootecnistas.

10-17

Citar como: Cuenca-Verde C, Rico-Mejía E, De la Cruz H, Reséndiz- González G, Sánchez-Mendoza A, Cuéllar-Ordaz J, Higuera-Piedrahita R, Uso de herramientas diagnósticas para el análisis de gases sanguíneos y electrolitos en corderos de la raza Columbia como método de enseñanza práctica en la asignatura de Bioquímica para médicos veterinarios zootecnistas. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 10 a 17. ISSN 3028-6697

Adición de *Bacillus subtilis* en parámetros intestinales en aves expuestas a Lipopolisacarido de *E.coli*.

18-26

Citar como: Rodríguez-González S, López-Herrera A, Parra-Suescun J, Adición de *Bacillus subtilis* en parámetros intestinales en aves expuestas a Lipopolisacarido de *E.coli*. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 18 a 26. ISSN 3028-6697

La hoja de bijao (*Calathea lutea*) como estrategia pedagógica para la reducción del uso de plásticos en la Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA) del Municipio de Barbacoas Nariño, Colombia.

27-37

Citar como: Burgos A, Revelo-Cuaspud H. La hoja de bijao (*Calathea lutea*) como estrategia pedagógica para la



reducción del uso de plásticos en la Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA) del Municipio de Barbacoas Nariño, Colombia. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 27 a 37. ISSN 3028-6697

Efecto del glicerol en la producción de leche, cuerpos cetónicos y actividad ovárica en vacas en pastoreo.

38-47

Citar como: Cardozo-Osorio J, Cucunubo-Santos L. Efecto del glicerol en la producción de leche, cuerpos cetónicos y actividad ovárica en vacas en pastoreo. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 38 a 47. ISSN 3028-6697

Las gallinas de traspatio como estrategia sostenible para la reconversión a la actividad del Carboneo en el Municipio del Encano, Departamento Nariño, Colombia.

48-56

Citar como: Cuaspud-Huertas J, Revelo-Cuaspud H. Efecto del glicerol en la producción de leche, cuerpos cetónicos y actividad ovárica en vacas en pastoreo. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, pag 48 a 56. ISSN 3028-6697

57-66

Efecto de polipéptidos linforeticulares, en los valores hemáticos e inmunoglobulina g en un grupo de equinos de paso colombiano en Tabio, Cundinamarca.

Citar como: Pacheco-González DP, Bermúdez-Rodríguez AP, Acero-Plazas VM., Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, pag 57 a 66. ISSN 3028-6697

03

ARTÍCULOS DE CASO CLÍNICO

67-76

Criopreservación espermática mediante recuperación de espermatozoides de conductos deferentes y epidídimo en un equino: Reporte de caso.

68-76

Citar como: Villamil-Alemán S, Pinzón-Porras J, Buitrago-Hortua R, Criopreservación espermática mediante recuperación de espermatozoides de conductos deferentes y epidídimo en un equino: Reporte de caso. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 68 a 76. ISSN 3028-6697

Evolución de la producción y escritura científica en las ciencias animales

Evolution of Scientific Production and Writing in the Animals Sciences

Javier Pérez Montenegro

Director del grupo de investigación PROSAVEZ, decano de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Fundación Universitaria San Martín.

E-mail: javier.perez@sanmartin.edu.co

Citar como: Pérez-Montenegro J. Evolución de la producción y escritura científica en las ciencias animales. Revista de Investigación *KAHUN*. 2024: Vol 1, págs. 7 a 8. ISSN 3028-6697

Las ciencias animales han acompañado el desarrollo de la humanidad, desde civilizaciones muy antiguas hasta lo que se conoce actualmente, y conceptos como “una sola salud, un solo bienestar” muestran esa cercanía entre la salud y el bienestar animal con su entorno.

El origen de la medicina veterinaria se remonta a muchos siglos atrás y evidencia de ello son las pinturas, los jeroglíficos y los escritos hallados en diversos puntos de importancia arqueológica; sin embargo, solo fue en el antiguo Egipto, cerca del año 1900 a. C., donde se obtuvo evidencia del primer escrito que aborda la salud animal. En ese momento existía una gran preocupación: un número importante de animales se encontraban en espacios muy pequeños, lo que empezó a generar transmisión de enfermedades infectocontagiosas, que debían ser tratadas para evitar la mortalidad y, además, evitar su contagio en el ser humano.

El *Papiro de Kahun* revela la profunda conexión entre los humanos y los animales, y muestra que, desde tiempos ancestrales, el bienestar de los segundos ha sido esencial para la supervivencia humana. Este manuscrito es un testimonio de los primeros intentos por diagnosticar y tratar enfermedades en animales domésticos, como los bovinos, caprinos, equinos y caninos¹. En este documento se describían los tratamientos, principalmente en el ganado, que era crucial para la agricultura y la economía de aquella época. Las técnicas y los conocimientos contenidos en este texto han evolucionado enormemente, pero el espíritu detrás de ellos, como es el deseo de cuidar y mejorar la vida animal, sigue siendo de gran importancia en las ciencias

animales modernas.

Hoy, en pleno siglo XXI, la medicina veterinaria y las ciencias animales han avanzado significativamente, abordando no solo la salud animal, sino temas como la salud pública, la producción sostenible, la biodiversidad, la seguridad alimentaria y el bienestar animal. Todos estos elementos componen el concepto “una sola salud”, que desde los años setenta ha evolucionado hacia “una sola medicina”.

En él se encuentran elementos articuladores entre la salud humana y animal, pero solo fue hasta 2008 cuando la Organización Mundial de la Salud acogió el término, bajo el cual se identifican elementos que afectan la salud del humano, la animal y su entorno o ambiente².

Así, desde el mismo inicio de la producción científica reflejado en el *Papiro de Kahun* hasta nuestros tiempos, hay preocupación por la salud humana, la animal y cómo esta afecta el ambiente. Ahora, el siglo XXI, este concepto es mucho más importante por el compromiso del hombre con el mantenimiento del planeta donde vive.

Por lo descrito anteriormente, la revista *Kahun* quiere dar reconocimiento a una historia en las ciencias animales y generar divulgación científica de calidad. Esta última juega un papel importante en la constante actualización de los profesionales de la rama, en un mundo que evoluciona muy rápidamente y en el cual la información revisada proporciona herramientas de atención en el marco de una sola salud y un solo bienestar.

Referencias

1. Payan Jaime. La veterinaria en la Antigüedad y en la Edad Media. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. 1985; pág. 7.
2. Urbizu-González Ana Lucía y colaboradores. Una sola salud: una perspectiva veterinaria, *Revista Ciencias veterinarias y producción animal*. 2023; Vol:1. Pág.: 59 – 69.



1.

ARTÍCULOS ORIGINALES
DE INVESTIGACIÓN

Uso de herramientas diagnósticas para el análisis de gases sanguíneos y electrolitos en corderos de la raza Columbia como método de enseñanza práctica en la asignatura de Bioquímica para médicos veterinarios zootecnistas

Use of diagnostic tools for blood gas and electrolyte analysis in Columbia breed lambs as a practical teaching method in the Biochemistry course for veterinary medicine and animal science students

Recibido: 17 de septiembre de 2024 • **Aprobado:** 13 de octubre de 2024

César Cuenca Verde

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Eduardo Rico Mejía

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Héctor Alejandro de la Cruz Cruz

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Guillermo Reséndiz González

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Ana Elvia Sánchez Mendoza

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Jorge Alfredo Cuéllar Ordaz

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

Rosa Isabel Higuera Piedrahita

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Carr. Cuautitlán-Teoloyucan km 2.5 Col. San Sebastián Xhala. Cuautitlán. Estado de México, México, C.P. 54840.

E-mail: rhiguera05@comunidad.unam.mx

Resumen

El estudio e interpretación de los desequilibrios ácido-base permiten al estudiante de medicina veterinaria y zootecnia (MVZ) acercarse a un conocimiento basado en evidencias, lo cual facilita el desarrollo de conflicto cognitivo que a su vez es un recurso fundamental para el diagnóstico y establecimiento de terapias hidroelectrolíticas. Los objetivos de este trabajo fueron demostrar el uso de herramientas diagnósticas para el análisis de gases sanguíneos y electrolitos en corderos de la raza Columbia como método de enseñanza

práctica en la asignatura de Bioquímica para MVZ y explicar desde la enseñanza práctica la ecuación de Henderson–Hasselbach para estudiantes de licenciatura de MVZ. Se utilizaron diez corderos Columbia de cuatro meses de edad, machos y hembras, recolectando muestras sanguíneas a partir de la vena yugular y se evaluaron valores como $t\text{CO}_2$, CO_2 , pH, HCO_3^- , K^+ , Na^+ , Cl^- , Ca^+ , Mg, P y anión gap. Los electrolitos y el valor de $t\text{CO}_2$ fueron evaluados a través de un equipo de bioquímica sanguínea utilizando el disco para electrolitos, el pH fue determinado a través de un potenciómetro y los demás valores fueron calculados a través de ecuaciones matemáticas. Como resultados se obtuvieron valores comparables con los reportados por la literatura, donde no se observaron diferencias significativas entre machos y hembras, sin embargo, el ejercicio matemático e interpretación de los valores permiten al estudiante obtener valores reales para la realización de cálculos e interpretación con el animal *in situ*. Así mismo, la relación de los mecanismos compensadores y la interpretación del anión gap para establecer posibles desequilibrios ácido-básicos e incluso los parámetros para el establecimiento de una terapia electrolítica.

Palabras clave: Desequilibrios ácido-base, gases sanguíneos, corderos Columbia, ecuación de Henderson–Hasselbach.

Abstract

The study and interpretation of acid-base imbalances allow veterinary medicine and zootechnics (MVZ) students to approach evidence-based knowledge, which facilitates the development of cognitive conflict—a fundamental resource for diagnosing and establishing hydroelectrolytic therapies. The objectives of this work were to demonstrate the use of diagnostic tools for the analysis of blood gases and electrolytes in Columbia lambs as a practical teaching method in the Biochemistry course for MVZ students and to explain, through practical teaching, the Henderson–Hasselbach equation for undergraduate MVZ students. Ten four-month-old Columbia lambs, both males and females, were used. Blood samples were collected from the jugular vein, and values such as $t\text{CO}_2$, CO_2 , pH, HCO_3^- , K^+ , Na^+ , Cl^- , Ca^+ , Mg, P, and anion gap were evaluated. Electrolytes and $t\text{CO}_2$ values were measured using a blood biochemistry analyzer with an electrolyte disc, pH was determined using a potentiometer, and other values were calculated using mathematical equations. The results were comparable to those reported in the literature, with no significant differences observed between males and females. However, the mathematical exercise and interpretation of the values allow students to obtain accurate values for calculations and interpretation with the animal *in situ*. Additionally, understanding the compensatory mechanisms and interpreting the anion gap helps identify potential acid-base imbalances and even establish parameters for electrolyte therapy.

Keywords: Acid-base imbalances, blood gases, Columbia lambs, Henderson-Hasselbalch equation.

Introducción

Los desequilibrios ácido-base son cruciales en la práctica de la medicina veterinaria, ya que pueden afectar de forma notable la salud y el bienestar general de los animales. Los desórdenes ácido-base resultan de condiciones patológicas como alteraciones renales, respiratorias e incluso metabólicas. Entender los desequilibrios y las

compensaciones permite a los médicos veterinarios diagnosticar y tratar adecuadamente a los animales, mejorando así sus posibilidades de recuperación y calidad de vida (Santarosa et al., 2019). Así mismo, la enseñanza práctica en animales es fundamental para que los estudiantes de medicina veterinaria y zootecnia (MVZ) adquieran las habilidades clínicas esenciales.

La determinación de desequilibrios de pH y de la brecha aniónica en animales es una competencia crítica para los estudiantes de la medicina veterinaria, misma que pueden adquirir a través, de la enseñanza con animales y bajo estrictas normas de bienestar animal, esto permitirá aplicar sus conocimientos teóricos en situaciones reales, mejorando su capacidad para tomar decisiones clínicas informadas y efectivas (Kaae, 2008).

Los desequilibrios en el pH del organismo es un indicador importante del estado ácido-base del organismo y puede revelar la presencia de trastornos metabólicos o respiratorios. La capacidad de medir y analizar estos desequilibrios permite intervenir de manera oportuna y adecuada, previniendo complicaciones graves y mejorando los resultados clínicos (Mioč et al., 2022).

Un desequilibrio ácido-base se refiere a una alteración en el equilibrio normal de ácidos y bases en el organismo, lo que puede afectar el pH de la sangre. Este equilibrio es crucial para el funcionamiento adecuado de las células y los procesos metabólicos. Los desequilibrios pueden ser de dos tipos principales: acidosis, cuando el pH de la sangre es demasiado bajo, y alcalosis, cuando el pH es demasiado alto. Estos pueden ser causados por diversas condiciones, como enfermedades renales, problemas respiratorios o trastornos metabólicos (Santarosa et al., 2019).

Los principales mecanismos compensatorios en animales para corregir estos desequilibrios incluyen respuestas respiratorias y renales. El sistema respiratorio puede ajustar la eliminación de dióxido de carbono (CO_2) a través de la respiración, lo que ayuda a regular el pH de la sangre. Por otro lado, los riñones pueden modificar la excreción de ácidos y la reabsorción de bicarbonato para mantener el equilibrio ácido-base. Estos mecanismos trabajan en conjunto para restaurar el pH a niveles normales y asegurar el funcionamiento óptimo del organismo (Vázquez-Rodríguez, 2022).

Los valores de referencia de gases arteriales en ovinos adultos y corderos son esenciales tanto para la enseñanza como para el diagnóstico clínico. Estudios recientes han determinado parámetros hematológicos y de química sanguínea en ovinos, proporcionando datos cruciales para la evaluación de la salud animal y la identificación de patologías (Herrera-Arias, 2021; Trujillo-Jurado, 2014). Además, se ha desarrollado material de apoyo a la docencia que incluye va-

lores de referencia de exámenes de laboratorio clínico, lo cual es fundamental para la formación de futuros profesionales en MVZ (Trujillo-Jurado, 2014).

El anión gap es una herramienta clínica utilizada para evaluar el equilibrio ácido-base del organismo. Se determina restando la suma de los aniones medidos (cloruro y bicarbonato) de la suma de los cationes medidos (sodio y potasio) en la sangre. Este parámetro es fundamental para detectar la acidosis metabólica, una condición caracterizada por un exceso de ácido en el cuerpo. La acidosis metabólica puede originarse por diversas causas, como, por ejemplo, la insuficiencia renal, cetoacidosis diabética o intoxicación por sustancias como metanol o etilenglicol (Kaae, 2008). La detección temprana de un anión gap elevado es crucial para el diagnóstico y tratamiento oportuno de estas afecciones (Han et al., 2021).

La importancia de diagnosticar la brecha aniónica radica en su capacidad para ofrecer información detallada sobre el estado metabólico del paciente; una elevación puede indicar la presencia de ácidos no medidos en la sangre, lo que permite identificar la causa subyacente de la acidosis metabólica. Además, el seguimiento de este parámetro a lo largo del tiempo permite evaluar la efectividad del tratamiento y la evolución de la condición del paciente (Singh & Kohli, 2010; Trujillo-Jurado, 2014). Por lo tanto, el anión gap es una herramienta esencial en el diagnóstico y manejo de trastornos metabólicos (Kaae, 2008). El valor normal del anión gap en ovinos generalmente se encuentra en el rango de 7 a 14 mEq/L. Es de anotar que existen calculadoras para determinar el anión gap, incluso con albúmina corregida, esta herramienta está disponible en línea (<https://www.rccc.eu/calculadoras/AGAP.html>).

Los objetivos de este trabajo fueron demostrar el uso de herramientas diagnósticas para el análisis de gases sanguíneos y electrolitos en corderos de la raza Columbia como método de enseñanza práctica en la asignatura de Bioquímica para MVZ y explicar desde la enseñanza práctica la ecuación de Henderson-Hasselbach para estudiantes de licenciatura de MVZ.

Materiales y métodos

Corderos de la raza Columbia

La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de Méxi-

co posee un rebaño de ovinos raza Columbia, se utiliza para las prácticas de los estudiantes de la licenciatura de MVZ. Los corderos para el presente trabajo se seleccionaron completamente al azar con los siguientes criterios de inclusión: cinco machos y cinco hembras, de cuatro meses de edad, clínicamente sanos. Los corderos se encuentran en la Ciudad de Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México a una altura (2312msnm). La alimentación de los corderos se basa en alfalfa achicalada y agua *ad libitum*.

Diseño experimental

Se colectó sangre completa en tubos tapa verde (heparina de litio) de cinco corderos machos y cinco hembras de la raza Columbia. La toma de muestra sanguínea se realizó en la vena yugular, en la mañana, en la sombra y con los corderos después del consumo de alimento. La figura 1 muestra la toma de muestra sanguínea y el procesamiento inmediato en campo.



Figura 1. Toma y procesamiento de muestras sanguíneas en corderos Columbia.

Los corderos fueron evaluados clínicamente, se determinó la condición corporal con promedio de 2.5 – 3.0, coloración de la mucosa ocular de uno (1) según la tarjeta del sistema FAMACHA y peso promedio de 25 kilos.

La muestra de sangre fue procesada inmediatamente en el analizador de bioquímica sanguínea Celercare V (MNChip) utilizando el panel de electrolitos, en donde se obtuvo el valor de tCO_2 , K^+ , Na^+ , K/Na , Cl^- , Ca^{2+} , Mg , P . El pH de la muestra fue obtenido a través de la evaluación por potenciómetro (pHep Hanna).

Al identificar el valor de pH de la muestra se despejó el valor del bicarbonato por medio de la ecuación de Henderson -Hasselbach (Carrillo Esper, 2006):

$$pH = pka + \log \frac{[HCO_3^-]}{[CO_2]} \dots\dots\dots (1)$$

Donde:

- pH es el valor de pH de la muestra sanguínea.
- pKa es el logaritmo negativo de la constante de disociación ácida.
- $[HCO_3^-]$ es la concentración de la base conjugada (bicarbonato en este caso).

- $[CO_2]$ es la concentración de la especie ácida (total de bióxido de carbono en este caso).

La ecuación (1) fue despejada para determinar el bicarbonato de la siguiente forma $[HCO_3^-]$ (2):

$$[HCO_3^-] = 10^{(pH - pKa)} * [CO_2] \dots\dots\dots (2)$$

La cantidad total de dióxido de carbono (tCO_2) se multiplicó por el factor de conversión para obtener la concentración de CO_2 . El tCO_2 representa la suma de todas las formas de dióxido de carbono en una solución, incluyendo CO_2 disuelto, H_2CO_3 y HCO_3^- .

El factor de conversión está sujeto al equilibrio químico entre las diferentes formas de CO_2 en la sangre y puede modificarse según las condiciones específicas. Bajo condiciones normales, el factor de conversión típico es de aproximadamente 0.55. En este caso, el valor de tCO_2 fue multiplicado por el factor de conversión, utilizando la siguiente ecuación:

$$[CO_2] = tCO_2 * \text{factor de conversión (0.55)} \dots\dots\dots (3)$$

Determinación de anión gap

La determinación del anión gap fue hecha siguiendo la ecuación reportada por Kaae, (2008)

de la siguiente forma:

$$\text{Anión gap} = [(Na + K + Ca) - (HCO_3 + Cl)] \dots (4)$$

Análisis estadístico

Las variables obtenidas se analizaron mediante una prueba *t* student para muestras de distribución normal. Para comprobar los supuestos de igualdad de varianzas. La prueba de Kolmo-

gorov Smirnov permitió determinar diferencias significativas ($p < 0.05$). El análisis se realizó en el programa estadístico SAS.

Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados para los 10 ovinos. Dentro de los parámetros evaluados no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 1. Variables asociadas al equilibrio ácido base y electrolitos de ovinos de cuatro meses de raza Columbia.

Variable	Método	Varianzas	Grados de libertad	Valor t	Pr> t
pH	Pooled	Equal	8	-0.91	0.3887
HCO ₃	Satterthwaite	Unequal	4.78	-1.41	0.2211
K ⁺	Pooled	Equal	8	-1.21	0.26
Na ⁺	Pooled	Equal	8	-0.77	0.4609
Na/K	Pooled	Equal	8	0.57	0.5871
Cl ⁻	Pooled	Equal	8	1.82	0.1055
Ca ⁺	Pooled	Equal	8	0.11	0.9121
Mg	Pooled	Equal	8	1.12	0.2945
P	Pooled	Equal	8	-0.07	0.9441
Anión gap	Pooled	Equal	8	1.27	0.2403

Para HCO₃ se usó la prueba de satterthwaite porque presentó una varianza desigual, sin embargo, no se encontraron diferencias entre grupos (P)

res de pH, anión gap, tCO₂, bicarbonato y electrolitos entre machos y hembras de la raza Columbia, en donde no se observaron diferencias significativas entre los grupos.

En la tabla 2 se observa la comparación de valo-

Tabla 2. Comparación de valores de pH, anión gap, tCO₂, bicarbonato y electrolitos entre machos y hembras de la raza Columbia de cuatro meses de edad.

Género	Variable	n	Media	Intervalo al 95%	Error	Valores de referencia (mmol/l)
Macho	Ca	5	2.21	2.01-2.40	0.07	2.32-2.92
Hembra		5	2.22	2.07-2.36	0.05	
Macho	Cl	5	99.60	94.22-104.98	1.94	99-113
Hembra		5	103.80	100.35-107.25	1.24	
Macho	CO ₂	5	11.99	10.87-13.11	0.40	
Hembra		5	11.33	10.72-11.94	0.22	
Macho	HCO ₃	5	248.74	229.51-267.96	6.92	
Hembra		5	216.30	155.23-277.38	22.00	
Macho	K	5	5.07	4.80-5.35	0.10	3.8-6.3

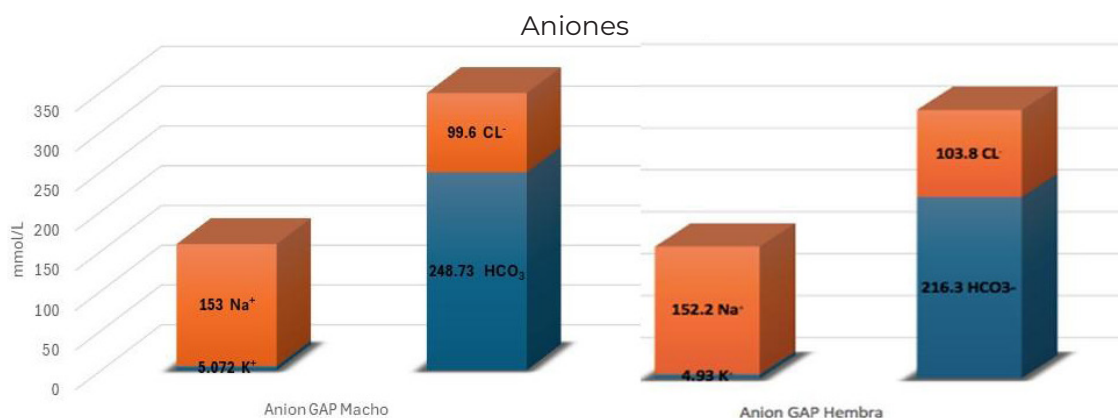
Hembra	K	5	4.93	4.80-5.09	0.06	3.8-6.3
Macho	Na/K	5	30.40	28.73-32.07	0.60	n/a
Hembra		5	30.80	29.76-31.84	0.37	
Macho	Mg	5	0.87	0.81-0.93	0.02	0.82-1.48
Hembra		5	0.90	0.84-0.97	0.02	
Macho	Na	5	153.40	151.14-155.66	0.81	142-159
Hembra		5	152.20	148.54-155.86	1.32	
Macho	Anión	5	-189.90	-37.9	6.81	
Hembra	gap	5	-163.00	-111.5	20.08	
Macho	P	5	2.78	2.20-3.37	0.21	1.29-2.87
Hembra		5	2.76	2.27-3.26	0.18	
Macho	pH	5	7.42	7.36-7.48	0.02	7.35-7.45*
Hembra		5	7.37	7.24-7.50	0.05	
Macho	tCO ₂	5	21.80	19.76-23.84	0.73	20-28
Hembra		5	20.60	19.49-21.71	0.40	

*Valor en la escala de Sorensen.

Los valores de anión gap se muestran en la figura 2. En donde se describen las diferencias entre los valores encontrados entre aniones y

cationes. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de machos y hembras de la raza.

Figura 2. Distribución de cationes y aniones en sangre entre machos y hembras de corderos de cuatro meses de edad de raza Colombia.



Discusión

Los valores de gases arteriales obtenidos en este estudio muestran algunas desviaciones significativas en comparación con los rangos de referencia establecidos en la bibliografía. Por ejemplo, el pH de 7.418 y 7.37 se encuentran dentro del rango normal de 7.35 a 7.45, lo que indica un equilibrio ácido-base relativamente estable (Herrera-Arias, 2021). Sin embargo, los valores de dióxido de carbono (CO₂) de 11.99 y 11.33 mmHg están considerablemente por debajo del rango normal de 35 a 45 mmHg, lo que podría sugerir

una hipocapnia, posiblemente debido a una hiperventilación (Herrera-Arias, 2021). En cuanto al bicarbonato (HCO₃), los valores de 248.74 y 216.3 mEq/L son extremadamente altos en comparación con el rango normal de 22 a 26 mEq/L (Carrillo Esper, 2006). Hay que tener en cuenta que el valor del HCO₃ fue determinado a través de cálculos matemáticos y por ende para aplicar la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

En el presente trabajo, el despeje de la fórmula permite obtener un valor de HCO₃ de 248.1 mmol/L, al transformarlo a una relación de 20

moléculas de HCO_3^- , se utiliza la relación estándar de 20:1 para HCO_3^- y CO_2 en sangre. Esto significa que por cada 20 moléculas de HCO_3^- , hay 1 molécula de CO_2 . En este entendido, se necesita convertir la concentración de HCO_3^- a una relación molar (5):

$$\frac{12.405 \text{ mmol de CO}_2}{L} = \frac{248.1 \text{ mmol/L}}{20} \dots\dots\dots (5)$$

Al aplicar los valores encontrados a la ecuación de Henderson-Hasselbalch (6):

$$7.4 = 6.1 + \log \frac{248.1 \dots\dots\dots (6)}{12.40}$$

El valor encontrado de pH en la sangre es normal respecto a lo reportado en los valores de referencia.

Es importante anotar que el valor de CO_2 pudo verse ligeramente alterado por la contención del animal y la hiperventilación que presentó al momento de la toma de la muestra, sin embargo, es de anotar que el valor no es significativamente alterado, dado que los mecanismos compensadores son efectivos en milisegundos, permitiendo el restablecimiento de los valores normales.

Otros electrolitos como el K^+ y el Na^+ también presentan valores elevados, con el K^+ en 5.072 y 4.932 mEq/L (rango normal: 3.5-5.0 mEq/L) y el Na^+ en 153.4 y 152.2 mEq/L (rango normal: 135-145 mEq/L) (Santarosa et al., 2019). Estos desequilibrios electrolíticos pueden tener implicaciones importantes para el diagnóstico clínico, ya que niveles elevados de K^+ pueden llevar a arritmias cardíacas, mientras que niveles altos de Na^+ pueden indicar hipernatremia, una condición que puede causar deshidratación y alteraciones neurológicas (Trujillo-Jurado, 2014). Así mismo, estos iones con carga positiva hacen parte de los cationes que pueden verse incrementados en sangre debido al mecanismo de reabsorción renal de cationes en casos de ligeras alcalosis (Kaae, 2008). Esto en el entendido de la disminución del valor de CO_2 encontrada por la sujeción de los corderos, la reabsorción de cationes puede entenderse como un mecanismo compensador inmediato.

En este sentido la hiperventilación es una condición en la que se respira más rápido y profundo de lo normal, lo que provoca una disminución en los niveles de CO_2 en la sangre. Esta disminución de CO_2 lleva a una condición llamada alcalosis respiratoria, donde el pH de la sangre se eleva por encima de lo normal (Carrillo Es-

per, 2006). Los mecanismos compensadores pueden ser descritos de manera general de la siguiente forma:

1. Disminución de la frecuencia respiratoria: puede intentarse la hipoventilación para retener más CO_2 y normalizar el pH
2. Excreción renal de HCO_3^- : Los riñones juegan un papel crucial en la compensación a largo plazo. El riñón puede aumentar la excreción de HCO_3^- y reabsorber iones de H^+ y cationes, así mismo, si se evalúa el pH de la orina, obtener un valor ligeramente básico.
3. Intercambio de iones en las células: A nivel celular, puede haber un intercambio de iones donde los H^+ se mueven fuera de las células y los iones de K^+ se mueven dentro de las células, esto como mecanismo de equilibrio del pH extracelular (Han et al., 2021; Mioč et al., 2022; Santarosa et al., 2019).

Como hallazgo incidental se observó un cordero macho con disminución del valor de fósforo, lo cual se puede atribuir a una demanda creciente particularmente en periodos de crecimiento acelerado, dado que la demanda de este material es muy alta. Así mismo, puede estar asociada a un desequilibrio de minerales, por ejemplo, un exceso de calcio o magnesio en la dieta puede interferir con la absorción de fósforo. Es importante aclarar que fue un solo animal del rebaño, por lo cual, puede ser un caso aislado, dado que los desequilibrios en las formulaciones de dietas se observan en medicina de población, es decir, si fuera el caso se observaría en más de un animal (Han et al., 2021).

Conclusiones

El presente estudio permitió llevar a cabo una demostración teórico-práctica sobre la evaluación de gases sanguíneos, la determinación del pH y la brecha aniónica en corderos Columbia de cuatro meses de edad, destacando los siguientes puntos: El pH sanguíneo normal en ovinos generalmente oscila entre 7.35 y 7.45. Un pH fuera de este rango puede indicar un desequilibrio ácido-base, como acidosis (pH < 7.35) o alcalosis (pH > 7.45). La presión parcial de CO_2 es un indicador de la función respiratoria, los valores elevados de pCO_2 pueden sugerir hipoventilación y acidosis respiratoria, mientras que valores bajos pueden indicar hiperventilación y alcalosis respiratoria. La concentración de HCO_3^- refleja la capacidad del sistema renal para compensar los cambios en el pH. Los valores bajos de HCO_3^- pueden estar asociados con acidosis metabólica, mientras que valores altos pueden indicar alcalosis metabólica. La evaluación e in-

interpretación de los electrolitos para determinar la brecha aniónica permite diagnosticar y establecer una terapia de balance electrolítico adecuado para trastornos metabólicos.

Agradecimientos

Al proyecto PIAPIME denominado: Desarrollo de herramientas pedagógicas para mejorar la comprensión y potenciar el aprendizaje de la bioquímica metabólica en estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, con clave 2.11.23.24.

Referencias

1. Carrillo Esper, R. V. P. P. (2006). Equilibrio ácido base. Conceptos actuales. *Revista de La Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*, 20(4), 184–192.
2. Han, G., Gao, X., Duan, J., Zhang, H., Zheng, Y., He, J., Huo, N., Pei, C., Li, H., & Gu, S. (2021). Effects of yeasts on rumen bacterial flora, abnormal metabolites, and blood gas in sheep with induced subacute ruminal acidosis. *Animal Feed Science and Technology*, 280, 115042. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115042>
3. Herrera-Arias, L. U.-L. M. (2021). *Determinación de parámetros hematológicos y química sanguínea en ovinos*.
4. Kaae, J. A. de M. H. (2008). Anion gap and strong ion gap: A quick reference. *Veterinary Clinic Small Animal*, 38, 443–447.
5. Mioč, B., Klir Šalavardić, Ž., Širić, I., Držaić, V., Šerić, V., Mandić, S., Novoselec, J., & Antunović, Z. (2022). The changes in the blood's acid-base balance of the lactating sheep during different lactation stages. *Poljoprivreda*, 28(2), 58–65. <https://doi.org/10.18047/poljo.28.2.8>
6. Santarosa, B. P., Dantas, G. N., Ferreira, D. O. L., Carvalho, M. G., Rodrigues, M., Pereira, P. F. V., Silva, A. A., & Gonçalves, R. C. (2019). Comparison of electrolyte and acid-base balances of Dorper breed ewes between single and twin pregnancies. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(10), 789–795. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-5952>
7. Singh, J., & Kohli, R. N. (2010). Acid-Base Status and Blood Gases in Normal Buffalo Calves (*Bubalis bubalis*). *Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A*, 27(4), 343–345. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1980.tb02014.x>
8. Trujillo-Jurado, Carlos Andrés, Dalmau Barros, Ernesto Andrés, Venegas Cortés, Carlos Alberto, & Díaz Rojas, César Augusto. (2014). Valores de referencia de gases arteriales y de electrolitos en caninos de la sabana de Bogotá. *Revista Medicina Veterinaria*, 27, 59–71. Retrieved October 13, 2024, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542014000100006
9. Vázquez-Rodríguez, Juan Gustavo, Ortíz-Vargas, Viridiana Abigahil, Díaz-Aguilar, Francisco Alonso, Chablé-Chan, Fabián Guadalupe, Serrano Rodríguez, Juan, & Arredondo-Andrade, Silvia Acened. (2022). Valores de la gasometría arterial en pacientes embarazadas con preclampsia severa. *Ginecología y Obstetricia de México*, 90(8), 639–646. Epub 26 de septiembre de 2022. <https://doi.org/10.24245/gom.v90i8.7796>

Adición de *Bacillus subtilis* en parámetros intestinales en aves expuestas a Lipopolisacarido de *E.coli*

Addition of *Bacillus subtilis* in intestinal parameters of birds exposed to *E. coli* lipopolysaccharide

Recibido: 19 de septiembre de 2024 • Aprobado: 18 de octubre de 2024

Sandra Paola Rodríguez

Profesor Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
Tunja, Colombia.

E-mail: sandrapaola.rodriguez@uptc.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1037-7843>

Albeiro López Herrera

Profesor Asociado Departamento de Producción Animal Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín, Colombia.

E-mail: alherrera@unal.edu.co; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1444-3470>

Jaime Eduardo Parra

Profesor Asociado Departamento de Producción Animal Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín, Colombia.

E-mail: jeparrasu@unal.edu.co ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4772-1326>

Resumen

Introducción. La exposición de los pollos a bacterias indeseables a través del contacto con alimentos y materia fecal puede causar alteraciones en el epitelio intestinal, los antibióticos promotores del crecimiento han sido utilizados en las producciones animales, pero el uso indiscriminado, ha llevado a generar resistencia en la salud humana y animal. **Objetivo.** Establecer el efecto de la adición de *Bacillus subtilis* sobre la morfometría intestinal en aves expuestas al Lipopolisacarido de *E.coli*. **Metodología.** Se utilizaron 144 pollos machos Avian Cobb500. El período experimental tuvo una duración de 42 días. Los animales se alimentaron con una dieta comercial con y sin adición de antibiótico, LPS y *B. subtilis*:(DB): Dieta comercial sin la adición de antimicrobiano, LPS y *B. subtilis*, (D2): DB más Avilamicina, (D3): DB y 1,0µg de LPS/mg, (D4): DB y *B. subtilis* (50gr/ton alimento), (D5): DB y 1,0µg de LPS/mg y antimicrobiano, (D6): DB y 1,0µg de LPS/mg y *B. subtilis*. Se realizaron eutanasias los días 14, 28, y 42, se disectaron los segmentos intestinales, se procesaron con la técnica de Hematoxilina-Eosina para medir el alto, ancho de la vellosidad y profundidad de la cripta. **Resultados.** Se encuentra diferencia significativa estadística ($P<0.05$), entre las dietas con D3 con los mejores resultados. **Conclusión.** La suplementación con *B. subtilis* influye de manera positiva en el desarrollo de la morfometría en aves que han sido retadas a LPS de *E. coli*.

Palabras clave: *Bacillus*, intestinal, microbiota, vellosidad.

Abstract

Introduction. Exposure of chickens to undesirable bacteria through contact with food and feces can cause alterations in the intestinal epithelium. Antibiotic growth promoters have been used in animal production, but indiscriminate use has led to resistance in human and animal health. **Objective.** To establish the effect of the addition of *Bacillus subtilis* on intestinal morphometry in birds exposed to *E. coli* lipopolysaccharide. **Methodology.** 144

male Avian Cobb500 chickens were used. The experimental period lasted 42 days. Animals were fed a commercial diet with and without the addition of antibiotic, LPS and *B. subtilis*: (DB): Commercial diet without the addition of antimicrobial, LPS and *B. subtilis*, (D2): DB plus Avilamycin, (D3): DB and 1.0 µg of LPS/mg, (D4): DB and *B. subtilis* (50 g/ton feed), (D5): DB and 1.0 µg of LPS/mg and antimicrobial, (D6): DB and 1.0 µg of LPS/mg and *B. subtilis*. Euthanasia was performed on days 14, 28, and 42, intestinal segments were dissected, processed with the Hematoxylin-Eosin technique to measure height, villus width and crypt depth. **Results.** A statistically significant difference ($P < 0.05$) was found between diets with D3 with the best results. **Conclusion.** Supplementation with *B. subtilis* positively influences the development of morphometry in birds that have been challenged with *E. coli* LPS.

Keywords: *Bacillus*, intestinal, microbiota, villus.

Introducción

Está bien documentado que la estructura y morfología de las vellosidades juegan un papel sustancial en la digestión-absorción de nutrientes en el tracto gastrointestinal, y que dicho proceso es más eficiente al aumentar el tamaño y la altura de las vellosidades. Factores ambientales, nutricionales y microbianos, influyen en los índices productivos y la edad de la reproductora intervienen en la morfología de la vellosidades intestinales¹. Las últimas horas de la fase embrionaria, son considerados períodos críticos y de extrema importancia para el desarrollo de las aves. Este período se caracteriza por la sucesión de diferentes eventos fisiológicos como la maduración del sistema digestivo: el aumento, y desarrollo de las vellosidades; maduración de células intestinales y la producción enzimática; y por último, el desarrollo del sistema inmunitario².

La longitud del intestino se incrementa durante la primera semana de vida, aun en ausencia de alimento; en las siguientes dos semanas de vida en las aves, el intestino tiende a alcanzar parte de la función digestiva y de absorción. La longitud de la vellosidad y la profundidad de las criptas, se relaciona con una mayor superficie de absorción, mejor acción enzimática que facilita de esta forma el transporte y asimilación de los nutrientes³.

El crecimiento y la salud del tracto gastrointestinal son requisitos claves en la producción del pollo de engorde; sin embargo, el medio ambiente, la nutrición, los aditivos alimenticios, los estímulos inmunitarios y el equilibrio de la microbiota pueden influir en el desempeño de la producción. Por lo anterior, se consideran a las disfunciones digestivas como los factores más limitantes para el rendimiento de esta especie⁴.

En las producciones avícolas que presentan un manejo intensivo, las aves son sometidas a diferentes tipos de estrés que provocan desequilibrio intestinal, caracterizado por el aumento en las poblaciones patógenas, como es el caso de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, y *Salmonella*⁵.

Las aves que son expuestas a LPS, muestran signos de inflamación intestinal, la cual se caracteriza por un leve edema multifocal en la submucosa, infiltración de algunos heterófilos y linfocitos en el lámina propia, y la presencia de moco y células epiteliales desprendidas en la luz intestinal⁶.

Durante la prohibición en los sistemas pecuarios de los antibióticos como promotores del crecimiento en algunos países, se viene prestando mucha atención a los probióticos como una alternativa a estos antibióticos. Los probióticos son bacterias beneficiosas con efectos positivos sobre la salud y la eficacia del crecimiento de los animales hospederos al mejorar la salud intestinal⁷.

Actualmente, los miembros de los géneros *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* y levadura⁸ se utilizan principalmente como probióticos en alimentación de aves tanto de corral como de engorde y gallinas de postura. Entre estos microorganismos, los miembros del género *Bacillus sp* han sido considerados como los más prometedores, debido a la alta resistencia de las esporas a las duras condiciones del tracto gastrointestinal⁹⁻¹⁰. Estudios indican que la suplementación dietética de *Bacillus* podría tener un efecto beneficioso sobre la microbiota y la morfología intestinal, por tanto, mejoraría el rendimiento productivo y los índices de conversión alimenticia en animales¹¹. Teniendo en cuenta lo descrito, el objetivo de esta investi-

gación fue establecer el efecto de la adición de *Bacillus subtilis* sobre la morfometría intestinal en aves expuestas a LPS de *E. coli*.

Métodos

Consideraciones éticas. Los procedimientos experimentales se llevaron a cabo siguiendo las guías propuestas por “The International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals”¹². Esta investigación fue avalada por El Comité Institucional Para El Cuidado Y Uso De Los Animales-CICUA de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (CEMED-013. Mayo 04 de 2016).

Localización. El trabajo de campo se llevó a cabo en la Estación Agraria San Pablo, perteneciente a la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, ubicada en el municipio de Rionegro, vereda “El Tablacito”, localizado a 2100 msnm, temperatura entre 12 y 18°C, correspondiendo a una zona de vida bosque muy húmedo Montano bajo (bmh-MB).

Animales. 54 pollos machos de un día de nacidos de la línea Avian Cobb 500 se utilizaron, fueron alojados en corrales en piso. El experimento duró 42 días. La cría se llevó a cabo bajo los procedimientos experimentales de una granja comercial.

Manejo Sanitario. Durante la recepción de las aves se llevaron a cabo los procedimientos de preparación del galpón como se describe a continuación: lavado, limpieza y desinfección de las instalaciones, cortinas, comederos y bebederos; se realizó control de roedores e insectos con productos obtenidos en casas comerciales. Las criadoras fueron encendidas antes de la llegada de las aves, con el fin de realizar el precalentamiento del galpón a 32°C en el momento de la recepción de las aves. Durante los 42 días de experimentación se realizó de forma diaria el de aseo de comederos y bebederos, cambio de la cama cuando se encontró sucia o mojada y manejo de las cortinas dependiendo de la temperatura del galpón¹³.

Dietas Experimentales. Los animales se alimentaron con una dieta que contenía suplemento de antibiótico, LPS y *Bacillus subtilis*, y una dieta sin adición de antibiótico, las cuales se suministraron directamente en el alimento de la siguiente manera:

- Dieta Basal (DB): Dieta comercial sin antimicrobiano, LPS y *Bacillus subtilis*.
- Dieta 2 (D2): DB con adición de antimicro-

biano (Avilamicina, 10ppm).

- Dieta 3 (D3): DB con adición de *Bacillus subtilis* a razón de 50 ppm.
- Dieta 4 (D4): DB con adición de 1,0µg de LPS/mg de alimento.
- Dieta 5(D5): DB con adición de 1,0µg de LPS/mg de alimento y antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm).
- Dieta 6 (D6): DB con adición de 1,0µg de LPS/mg de alimento y *Bacillus subtilis* (50 ppm).

Se fabricó una dieta multietapa: inicio (1-21 días) y finalización (22-42 días) que llenaba los requerimientos mínimos nutricionales para la línea comercial (Rostagno *et al.* 2017). El alimento utilizado en el estudio estaba libre de antibióticos (excepto la dieta D2 y D5), donde se utilizó Avilamicina como APC, como se realiza a nivel comercial. El LPS utilizado en este estudio fue LPS *E. coli*, serotipo 0111:B4 (Sigma-Aldrich, Sigma-Aldrich St Louis, MO, EE.UU.). El *Bacillus subtilis* se utilizó según la recomendación del fabricante, 50 gramos por tonelada de alimento para garantizar una dosis de 10⁸ UFC. El alimento en los primeros 21 días del experimento fue ofrecido como alimento denominado de “Iniciación” y los siguientes 21 días se les suministró a las aves el alimento denominado de “finalización”.

Eutanasias Humanitarias. Durante la fase de experimentación se realizaron eutanasias escalonadas de las aves de la siguiente forma: los días 14, 28, y 42. Todas las aves se sacrificaron 2 horas y 30 minutos después de su última comida. A excepción del día 1 donde fue por dislocación cervical. Los animales estuvieron sedados por inhalación de Nitrox®, posteriormente, se llevó a cabo la eutanasia humanitaria con dióxido de carbono durante 3 minutos¹⁴.

Evaluación de Parámetros Morfométricos Intestinales. De las mismas aves mencionadas anteriormente, se disectaron los segmentos intestinales utilizando tijeras de disección con punta recta, así: 2 segmentos de duodeno desde el píloro hasta la porción distal de la vuelta duodenal, yeyuno desde la porción distal del giro duodenal al divertículo de Meckel, íleon desde el divertículo de Meckel hasta el inicio de los ciegos) y ciegos, cada uno con una longitud de 2cm⁴. Una vez cortadas estas secciones, se realizó un lavado por infusión con solución salina fría de cada porción removida para eliminar impurezas y digesta contenida¹⁴; luego se almacenaron en formol que se encontraba buferado al 10% hasta su procesamiento.

Después de 48 horas de la colecta, las muestras obtenidas del intestino delgado se enviaron a

un laboratorio privado donde se les realizó un procesamiento histotécnico; donde los tejidos fueron fijados en formol buferado al 10% por 24 horas, e incluidos en parafina, cortados a 4 μm de espesor los cuales fueron coloreados con Hematoxilina-Eosina para ser lavados, almacenados en etanol: agua (75:25, v:v) de acuerdo con el método reportado por⁴⁻¹⁴. Estos cortes fueron microdisecionados para determinar el promedio de la altura y ancho de las vellosidades intestinales, como la profundidad y ancho de las criptas.

Los cortes histológicos se analizaron cuantitativamente mediante un procesamiento de imágenes digitales computarizadas, así: la identificación de las zonas tisulares se utilizó un microscopio óptico Leica DLMB (Meyer, Houston, TX, USA), se capturaron las imágenes correspondientes con una cámara para microscopía digital instantánea Motican 2300 (Motic, Hong Kong, China) con una resolución de 3 megapíxeles, en un aumento de 200x y se analizaron dichas imágenes con el software para tratamiento de imágenes Motic Images plus2.0® (Motic, Hong Kong, China). Para la medición de las variables morfométricas, se visualizaron 10 vellosidades y sus criptas por cada campo de microscopio, de la siguiente manera:

- Altura: desde la base de la vellosidad (lámina propia), desde su punto medio se trazó una línea hasta el ápice.
- Ancho: con una línea se unieron los bordes apicales de las células epiteliales de lados opuestos, ubicadas aproximadamente en la mitad de la vellosidad.

También se determinó la profundidad y el ancho de las criptas intestinales, conforme a lo descrito previamente⁴:

- Profundidad: se obtuvieron trazando una línea, o segmentos continuos, desde su apertura hasta el fondo de la misma.
- Ancho: con una línea se unen los bordes apicales de las células epiteliales ubicadas

en lados opuestos, a nivel de la porción media de la cripta.

Diseño Experimental. El experimento se realizó con un diseño completamente al azar en un arreglo de parcelas divididas. Cada animal fue asignado a una de seis dietas experimentales. Cada uno de los tratamientos (dieta*edad de sacrificio) con un total de 3 repeticiones. Se realizó el análisis estadístico según el procedimiento GLM (Modelos Lineales Generales) PROC MIXED del SAS® software, versión 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2011).

Las diferencias entre las medias de cada tratamiento, se determinó por LS means (media de mínimos cuadrados) y se analizaron con la prueba de ANOVA. Se utilizó una prueba de Duncan para detectar significancia ($p < 0.05$) entre las medias entre cada tratamiento. En este experimento no se presentó interacción estadística entre las diferentes dietas, días de evaluación y edad para las variables respuesta en el estudio, por lo tanto, no fue necesario analizar y desglosar dichos factores de manera independiente.

Resultados

Las aves que consumieron cada una de las dietas durante el experimento no manifestaron signo alguno de enfermedad que determinara su retiro o eutanasia inmediata, además, al nivel que se fijó el suministro de alimento y agua no se generaron sobrantes.

Para la dieta DB se presenta diferencia estadística ($P < 0,05$) para la altura de la vellosidad y los diferentes segmentos, así es como D2 y D3 no presentan diferencias en los segmentos duodeno y yeyuno, pero si hay diferencias estadística ($P < 0,05$) al compararlas en el íleon. Para la D4 en comparación con D5 se presenta diferencia estadística ($P < 0,05$) en los segmentos de duodeno e íleon y entre D5 y D6 las diferencias estadísticas se presentan en el yeyuno e íleon, datos (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de la altura (μm) de las vellosidades en los diferentes segmentos intestinales de aves que consumieron las dietas experimentales.

Altura							
Segmento	DB	D2	D3	D4	D5	D6	EEM
Duodeno	1317,8 ^{A,X}	1424,5 ^{BD,X}	1481,8 ^{B,X}	1036,8 ^{C,X}	1256,0 ^{A,X}	1340,8 ^{AD,X}	14,7
Yeyuno	1168,0 ^{A,Y}	1217,8 ^{A,Y}	1357,8 ^{B,Y}	964,3 ^{C,X}	991,0 ^{C,Y}	1139,3 ^{A,Y}	
Íleon	823,8 ^{AC,Z}	842,0 ^{AC,Z}	908,3 ^{A,Z}	665,3 ^{B,Y}	699,8 ^{BC,Z}	789,0 ^{C,Z}	

Dieta Basal (DB): Dieta comercial sin antimicrobiano, LPS y Bacillus subtilis; Dieta 2 (D2): DB con adición de antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 3 (D3): DB con adición de Bacillus subtilis a razón de 50 ppm; Dieta 4 (D4): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento; Dieta 5 (D5): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 6 (D6): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y Bacillus subtilis (50 ppm). A,B,C,D Dentro de una misma fila, medias con diferente superíndice son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P > 0.05$). x,y,z Dentro de una misma columna, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0.05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0.05$). EEM: Error estándar de la media.

El cambio para la altura en las vellosidades entre cada una de las dietas y los diferentes segmentos intestinales se presentan en la tabla 2. Se observa una diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) entre segmento intestinal duodeno a los días 1 y 42 y donde se reporta mayor longitud para al día 28 y 42 al igual que para el yeyuno.

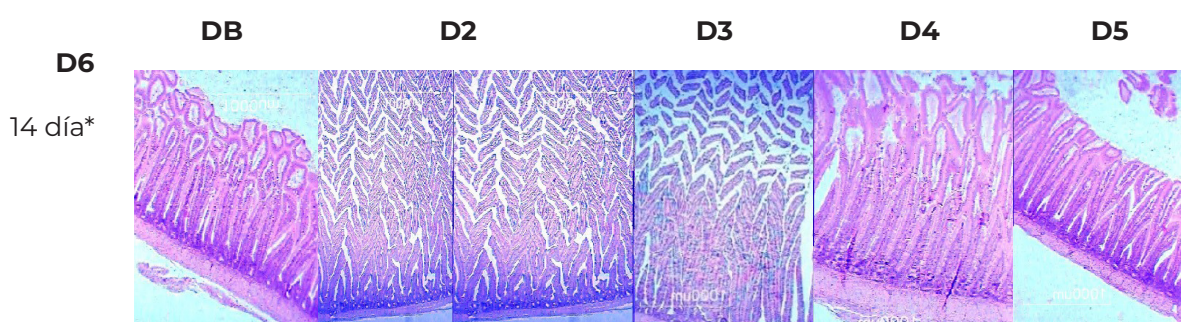
Tabla 2. Comparación de la altura (µm) por día de muestreo de las vellosidades en los diferentes segmentos intestinales.

Segmento	1	14	28	42	EEM
Duodeno	964,0 ^{A,X}	1238,5 ^{B,X}	1318,0 ^{B,X}	1717,8 ^{C,X}	14,7
Yeyuno	360,0 ^{A,Y}	1069,3 ^{B,Y}	1448,3 ^{C,Y}	1681,0 ^{D,X}	
Íleon	271,0 ^{A,Z}	657,3 ^{B,Z}	1036,3 ^{C,Z}	1187,3 ^{D,Y}	

A,B,C,D Dentro de una misma fila, medias con diferente superíndice son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). X,Y,Z Dentro de una misma columna, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0.05$). EEM: Error estándar de la media.

Para esta variable altura de la vellosidad, se encontraron diferencia estadística significativa entre los diferentes segmentos intestinales en cada una de las edades de muestreo ($P < 0,05$) y el segmento intestinal duodeno mostró los valores más altos en comparación con yeyuno e íleon (figura 1).

Figura 1. Comparación de vellosidades intestinales (µm) de pollos de engorde que consumieron las dietas experimentales.



Dieta Basal (DB): Dieta comercial sin la adición de antimicrobiano, LPS y Bacillus subtilis, Dieta 2 (D2): DB más la adición de antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 3 (D3): DB más la adición con Bacillus subtilis se adicionó a razón de 50 ppm de alimento; Dieta 4 (D4): DB más la adición de 1,0 µg de LPS/mg; Dieta 5 (D5): DB más la adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y antimicrobiano; Dieta 6 (D6): DB más la adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y Bacillus subtilis a razón de 50 ppm de alimento.

*Presencia de vellosidades en forma de zigzag para las dietas D2,D3,D4.

Para la variable ancho de las vellosidades entre cada una de las dietas y los diferentes segmentos intestinales se presentan en la tabla 3. Se presenta una diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) entre segmento intestinal y la dieta suministrada, no presentan diferencias significativa estadística ($P < 0,05$) frente a la D2 en comparación con la D3 para duodeno, yeyuno e íleon;

pero si hay diferencias estadísticas entre D3 y D4; entre D4 y D5 no se presentaron diferencias ($P > 0,05$) entre las dietas, en D5 con la dieta D6 e

presenta los mayores valores para esta variable intestinal en aves con dietas adicionadas con el *Bacillus subtilis*.

Tabla 3. Comparación del ancho (μm) de las vellosidades en los diferentes segmentos intestinales de aves que consumieron las dietas experimentales durante 42 días

Segmento	DB	D2	D3	D4	D5	D6	EEM
Duodeno	82,8 ^{A,X}	95,0 ^{B,X}	96,0 ^{B,X}	73,3 ^{C,X}	76,0 ^{C,X}	82,8 ^{A,X}	1,12
Yeyuno	78,5 ^{A,X}	82,0 ^{AB,Y}	87,3 ^{B,Y}	59,5 ^{C,Y}	63,8 ^{C,Y}	76,5 ^{A,X}	
Íleon	63,5 ^{AD,Y}	82,5 ^{B,Y}	78,0 ^{B,Z}	49,8 ^{C,Z}	55,5 ^{CD,Z}	61,8 ^{D,Y}	

Dieta Basal (DB): Dieta comercial sin antimicrobiano, LPS y *Bacillus subtilis*; Dieta 2 (D2): DB con adición de antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 3 (D3): DB con adición de *Bacillus subtilis* a razón de 50 ppm; Dieta 4 (D4): DB con adición de 1,0 μg de LPS/mg de alimento; Dieta 5 (D5): DB con adición de 1,0 μg de LPS/mg de alimento y antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 6 (D6): DB con adición de 1,0 μg de LPS/mg de alimento y *Bacillus subtilis* (50 ppm).^{A,B,C,D} Dentro de una misma fila, medias con diferente superíndice son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P > 0,05$).^{xyz} Dentro de una misma columna, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0,05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0,05$). EEM: Error estándar de la media.

Con respecto para la variable ancho de la vellosidad se observa diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) para duodeno en los distintos días de edad, para el segmento yeyuno no se presenta diferencia ($P > 0,05$) en los días 14 y 28 al igual que el segmento de íleon en los días 28

y 42 donde no se presentan diferencias ($P > 0,05$), además de presentarse una diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) entre cada segmento intestinal y día de sacrificio siendo el día 28 y 42 donde se presenta la mayor diferencia.

Tabla 4. Comparación de ancho (μm) por día de muestreo de las vellosidades en los diferentes segmentos intestinales.

Segmento	1	14	28	42	EEM
Duodeno	60,0 ^{A,X}	84,8 ^{B,X}	94,0 ^{C,X}	98,3 ^{D,X}	1,12
Yeyuno	60,0 ^{A,X}	71,2 ^{B,Y}	75,5 ^{B,Y}	91,7 ^{C,X}	
Íleon	38,0 ^{A,Y}	64,8 ^{B,Y}	78,2 ^{C,Y}	79,7 ^{C,Y}	

^{A,B,C,D} Dentro de una misma fila, medias con diferente superíndice son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$).

^{xyz} Dentro de una misma columna, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0,05$). EEM: Error estándar de la media.

Para la profundidad de la cripta, se presenta diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) a nivel del duodeno entre cada una de las dietas; entre la dieta D2 y D3 se presenta diferencia estadística para esta variable a nivel de los diferentes segmentos; entre las dietas D4, D5 y D6 se presentan diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en la profundidad de la cripta para cada segmento

intestinal, como se presenta en la tabla 5. Para cada segmento intestinal la profundidad de la cripta presenta diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en los días de edad de las aves. Al día 14 y 28 no se presentan diferencias ($P > 0,05$) en los segmentos yeyuno, íleon y ciegos, pero en todos los segmentos si se observa diferencia ($P < 0,05$) al día 42 de edad.

Tabla 5. Comparación de la profundidad de las criptas (μm) en los diferentes segmentos intestinales de aves que consumieron las dietas experimentales.

Segmento	DB	D2	D3	D4	D5	D6	EEM
Duodeno	58,0 ^{A,W}	44,4 ^{B,W}	35,1 ^{C,W}	63,3 ^{D,W}	53,5 ^{E,W}	48,8 ^{F,W}	0,66

Yeyuno	67,9 ^{A,X}	59,6 ^{B,X}	55,2 ^{C,X}	75,1 ^{D,X}	66,3 ^{AE,X}	62,9 ^{EB,X}	0,66
Íleon	76,2 ^{A,Y}	65,9 ^{B,Y}	61,5 ^{C,Y}	82,7 ^{D,Y}	72,9 ^{AE,Y}	71,1 ^{E,Y}	
Ciego	116,0 ^{A,Z}	101,3 ^{B,Z}	94,3 ^{C,Z}	159,5 ^{D,Z}	114,2 ^{AE,Z}	110,7 ^{E,Z}	

Dieta Basal (DB): Dieta comercial sin antimicrobiano, LPS y *Bacillus subtilis*; Dieta 2 (D2): DB con adición de antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 3 (D3): DB con adición de *Bacillus subtilis* a razón de 50 ppm; Dieta 4 (D4): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento; Dieta 5 (D5): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y antimicrobiano (Avilamicina, 10ppm); Dieta 6 (D6): DB con adición de 1,0 µg de LPS/mg de alimento y *Bacillus subtilis* (50 ppm).^{A,B,C,D} Dentro de una misma fila, medias con diferente superíndice son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P > 0.05$).^{xy,z} Dentro de una misma columna, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0.05$). Dentro de una misma fila, medias con un superíndice común (por variable en estudio) no difieren estadísticamente ($P < 0.05$). EEM: Error estándar de la media.

Discusión

Existen varios indicadores que describen el funcionamiento intestinal adecuado, entre ellos, la integridad de las vellosidades, por lo que se reportó que al suministrar *B. subtilis*, no presentaron significancia en las variables altura de vellosidades y profundidad de criptas, lo que sugiere un efecto positivo de los probióticos para favorecer la integridad intestinal y la función digestiva¹⁵. Lo anterior, puede corroborarse en este trabajo, ya que las aves que consumieron las dietas con suplemento de *B. subtilis* mostraron no solo un aumento de la altura y en el ancho de las vellosidades, sino, además, una disminución en la profundidad y ancho de la cripta, frente a las aves que consumieron la dieta con y sin la adición de antibióticos.

La mejora observada en las aves suplementadas con *Bacillus subtilis* durante el experimento, puede ser debido a que estos aditivos benefician al hospedero, generan un equilibrio microbiano intestinal, y modulan el sistema inmune¹⁶. El crecimiento (altura) de las vellosidades sugiere un incremento en la superficie de absorción, por ende, un alto aprovechamiento de los nutrientes disponibles y una mayor eficiencia de la alimentación¹⁷⁻¹, tal como se evidenció en este estudio donde se desarrolló más rápido el duodeno seguido del yeyuno con el uso de *Bacillus subtilis*, mejorando la superficie de absorción de los nutrientes.

Los grupos de animales que se suplementaron con *B. subtilis*, indicaron una maduración y funcionalmente activo del epitelio intestinal a pesar del desafío con LPS. Esto a su vez, sugiere un área de superficie aumentada y mejora en la absorción de nutrientes disponible¹⁸ lo que podría deberse a que el *B. subtilis* actúa de forma independiente de la infección (LPS) para mejorar así la salud e integridad intestinal. La suplementación de *B. subtilis* a pollos de engorde

incrementa los parámetros de morfometría intestinal, como son altura y, área de la cripta¹⁹. Este supuesto es apoyado por la mejora en la longitud de la vellosidad obtenida con la adición de *B. subtilis* sobre el grupo alimentado con la DB.

Cada segmento intestinal presenta un desarrollo morfométrico diferente, es así como para el íleon muestra una diferencia estadística significativa con los demás segmentos ($p < 0,05$) en este estudio, tanto en altura como en ancho de sus vellosidades. Resultados similares a los que reportan²⁰, donde el menor desarrollo de las vellosidades del íleon se relacionan a que la capa mucosa es más engrosada con el fin de mejorar la integridad de la parte final del intestino delgado, ya que impide infecciones causadas por microorganismos que puedan afectar el desarrollo y funcionamiento de este segmento intestinal. Estos resultados son similares a lo evidenciado en este estudio en relación con el reto que se realizó con LPS de *E. coli*, donde los animales expuestos a LPS mostraron signos de inflamación caracterizada por un leve edema multifocal en la submucosa; infiltración de algunos heterófilos y linfocitos en la lámina propia y; la presencia de moco y células epiteliales desprendidas en la luz intestinal⁶. Estos resultados pueden indicar que la adición de *B. subtilis* en la dieta puede disminuir estas lesiones debido a los efectos antimicrobianos y propiedades inmunomoduladoras de este probiótico, mejorando la velocidad de regeneración del epitelio intestinal²¹.

El intestino es un tejido dinámico y flexible, debido a su capacidad de alternar las tasas de proliferación celular en criptas y la rotación de enterocitos, los cuales presentan una tasa de recambio poseclósion de 4 días para duodeno e íleon, y de 2 días en yeyuno; no obstante la velocidad de renovación celular en condiciones de desafío con LPS se incrementa en un 20% con relación de las aves no desafiadas²²⁻²³⁻³, resul-

tados que son afines a los presentados en este trabajo donde se evidenció un mejor desarrollo del duodeno seguido del yeyuno en aves sometidas al reto del LPS de *E. coli*.

El estado funcional del intestino delgado se caracteriza en parte, por la altura de la vellosidad y la profundidad de las criptas, ya que están relacionadas a una mejor digestión de los nutrientes, de hecho, el alargamiento de las vellosidades puede brindar una mayor superficie de absorción y mejor acción enzimática para facilitar de esta forma el transporte y asimilación de los nutrientes³ se relaciona esto con el uso como aditivo en la dieta de *B. subtilis*, ya que está asociado a una producción mayor de enzimas exógenas y la generación de ácidos grasos de cadena corta, lo que estimula la presentación de bacterias ácido lácticas en el lumen intestinal²⁴. En las dietas con inclusión de *B. subtilis* se disminuyó eficazmente la inflamación, generada por la exposición al LPS, restaurando la homeostasis epitelial; la suplementación con este *Bacillus* actúa de manera positiva en el desarrollo de la vellosidad y de la cripta intestinal y, por ende, puede ser considerado como un agente modificador en beneficio en el desarrollo morfofométrico de la mucosa intestinal.

Conclusión

La suplementación en la dieta con *Bacillus subtilis* mostró tener un efecto positivo sobre la morfometría (altura y ancho de las vellosidades; menor profundidad de la cripta) de los pollos de engorde, al compararlas con la dieta basal y con la dieta adicionada con antibiótico como promotor de crecimiento (Avilamicina).

Se recomienda al *Bacillus subtilis*, como una alternativa viable para el reemplazo de los APC, siendo un promotor del desarrollo y maduración intestinal.

Conflicto de Intereses

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados”.

Financiación

Este trabajo fue financiado por Colciencias Convocatoria 733, Gobernación de Boyacá Colombia y la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín.

Referencias

- Goudarzi, M., Samiei, I., Nanekarani, S., & Nasrolahi, F. (2016). The effect of Myrtus communis oil extract on growth performance and immune responses in Ross and Cobb strain broilers. *Journal of Advanced Agricultural Technologies* Vol, 3(1).
- AHMADI, M. G.-R. M. M. H. 2017. In ovo feeding of nutrients and its impact on post-hatching water and feed deprivation up to 48 hr, energy status and jejunal morphology of chicks using response surface models, (June), 1-12. <https://doi.org/10.1111/jpn.12838> *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2018 Apr;102(2):e806-e817. doi: 10.1111/jpn.12838. Epub 2017 Nov 13.
- Dabbou, S., Gai, F., Biasato, I., Capucchio, M. T., Biasibetti, E., Dezzutto, D., ... & Schiavone, A. (2018). Black Soldier Fly Defatted Meal As A Dietary Protein Source For Broiler Chickens: Effects On Growth Performance, Blood Traits, Gut Morphology And Histological Features. *Journal Of Animal Science And Biotechnology*, 9, 1-10.
- Barrera, M.H.; Rodriguez, S.P.; Torres, G. 2014. Efectos de la adición de ácido cítrico y un probiótico comercial en el agua de bebida, sobre la morfometría del duodeno y parámetros zootécnicos en pollo de engorde. *Orinoquia*. 18(2):52-62.
- Diaz Carrasco, J. M., Casanova, N. A., & Fernández Miyakawa, M. E. (2019). Microbiota, gut health and chicken productivity: what is the connection?. *Microorganisms*, 7(10), 374.
- Al-Aalim, A. M., Al-Iedani, A. A., & Hamad, M. A. (2021). Study of the effects of Escherichia coli lipopolysaccharide on innate immunity: The expression profile of TLR4 and CD14 genes in rat liver. *Open Veterinary Journal*, 11(4), 771-779.
- Kazemi, S. A., Ahmadi, H., & Karimi Torshizi, M. A. (2019). Evaluating two multistrain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(5), 1399-1407.
- Guo, M., Wu, F., Hao, G., Qi, Q., Li, R., Li, N., ... & Chai, T. (2017). *Bacillus subtilis* improves immunity and disease resistance in rabbits. *Frontiers in immunology*, 8, 354.

9. Al-Khalaifa, H., Al-Nasser, A., Al-Surayee, T., Al-Kandari, S., Al-Enzi, N., Al-Sharrah, T., ... & Mohammed, A. (2019). Effect of dietary probiotics and prebiotics on the performance of broiler chickens. *Poultry science*, 98(10), 4465-4479.
10. Kuebutornye, F. K., Abarike, E. D., & Lu, Y. (2019). A review on the application of *Bacillus* as probiotics in aquaculture. *Fish & shellfish immunology*, 87, 820-828.
11. Wang, C., Liu, Y., Sun, G., Li, X., & Liu, Z. (2019). Growth, immune response, antioxidant capability, and disease resistance of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed *Bacillus velezensis* V4 and *Rhodotorula mucilaginosa* compound. *Aquaculture*, 500, 65-74.
12. COUNCIL FOR INTERNATIONAL ORGANIZATIONS OF MEDICAL SCIENCES, CIOMS. 2012. International guiding principles for biomedical research involving animals. Disponible desde Internet en: https://grants.nih.gov/grants/olaw/guiding_principles_2012.pdf (con acceso el 09/07/2019).
13. COBB-VANTRESS INC. 2009. Guía de Manejo del Pollo de Engorde. Aviagen. 65p.
14. Maya-Ortega, C. A., Madrid-Garcés, T. A., & Parra-Suescún, J. E. (2022). *Bacillus subtilis* mejora el desarrollo de órganos digestivos, la morfología del intestino y el rendimiento productivo en pollos de engorde. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 25(2).
15. Guo, L. X., Nie, F. R., Huang, A. Q., Wang, R. N., Li, M. Y., Deng, H. Y., ... & Ji, Y. D. (2021). Transcriptomic analysis of chicken immune response to infection of different doses of Newcastle disease vaccine. *Gene*, 766, 145077.
16. Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Hannas, M.I.; Donzele, J.L.; Sakomura, N.K.; Perazzo, F.G.; Brito, C. DE O. 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos. Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. Universidad Federal de Viçosa. 488p.
17. Chen, C., Wang, Z., Li, J., Li, Y., Huang, P., Ding, X., ... & Yin, Y. (2019). Dietary vitamin E affects small intestinal histomorphology, digestive enzyme activity, and the expression of nutrient transporters by inhibiting proliferation of intestinal epithelial cells within jejunum in weaned piglets. *Journal of animal science*, 97(3), 1212-1221.
18. Li, J.; Li, J.; Zhang, S.Y; Li, R.X.; Lin, X.; Mi, Y.L.; Zhang, C.Q. 2018. Culture and characterization of chicken small intestinal crypts. *Poultry Science*. 97(5):1536-1543. <https://doi.org/10.3382/ps/pey010>
19. Qiu, P., Ishimoto, T., Fu, L., Zhang, J., Zhang, Z., & Liu, Y. (2022). The gut microbiota in inflammatory bowel disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 733992.
20. Kazemi, S. A., Ahmadi, H., & Karimi Torshizi, M. A. (2019). Evaluating two multistrain probiotics on growth performance, intestinal morphology, lipid oxidation and ileal microflora in chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(5), 1399-1407.
21. Lyte, J. M., Keane, J., Eckenberger, J., Anthony, N., Shrestha, S., Marasini, D., ... & Lyte, M. (2021). Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a novel model to study the relationship between the avian microbiome and microbial endocrinology-based host-microbe interactions. *Microbiome*, 9, 1-24.
22. Sangalli, G. G., Eyng, C., Spindola, M., Nunes, R. V., Broch, J., Savaris, V. L., ... & Köhler, T. L. (2021). Performance, bone characteristics, and physiological parameters of broilers fed nutrient-restricted diets supplemented with multicarbohydase complex associated with high levels of phytase. *Journal of Applied Poultry Research*, 30(2), 100141.
23. Reicher, N., Melkman-Zehavi, T., Dayan, J., Wong, E. A., & Uni, Z. (2022). Nutritional stimulation by in-ovo feeding modulates cellular proliferation and differentiation in the small intestinal epithelium of chicks. *Animal Nutrition*, 8, 91-101.
24. Ciurescu, G., Dumitru, M., Gheorghe, A., Untea, A. E., & Drăghici, R. (2020). Effect of *Bacillus subtilis* on growth performance, bone mineralization, and bacterial population of broilers fed with different protein sources. *Poultry science*, 99(11), 5960-5971.

La hoja de bijao (*Calathea lutea*) como estrategia pedagógica para la reducción del uso de plásticos en la Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA) del Municipio de Barbacoas Nariño, Colombia

The bijao leaf (*Calathea lutea*) as a pedagogical strategy for reducing plastic use at the Awá Bilingual Agro-Environmental Technical Educational Institution (IETABA) in the Municipality of Barbacoas, Nariño, Colombia

Recibido: 12 de octubre de 2024 • **Aprobado:** 18 de octubre de 2024

Ángel María Burgos

Profesor Universidad Popular del Cesar, Valledupar, Colombia.

E-mail: burgosmoreano1971@gmail.com **ORCID:** <https://orcid.org/0009-0004-7324-0141>

Herman Revelo

Profesor Universidad Popular del Cesar, Valledupar- Colombia.

E-mail: hareveloc@unal.edu.co **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3193-3255>

Resumen

El uso excesivo de plásticos en la Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA), ubicada en Barbacoas, Nariño, afecta negativamente el entorno por la contaminación en suelos y de fuentes hídricas, impactando la biodiversidad y la salud de los habitantes del resguardo el Gran Sábalo. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es promover la hoja de bijao como una estrategia pedagógica para reducir el uso de plásticos en la institución, puesto que, se ha observado la necesidad de preservar tanto el medio ambiente como la salud de la comunidad educativa, además de fortalecer la cultura mediante la revalorización de conocimientos ancestrales. En ese sentido ha sido de vital importancia buscar alternativas como la hoja de bijao una planta, ampliamente conocida y utilizada por la comunidad Awá, no solo es biodegradable, sino que también puede sustituir al plástico en diversas aplicaciones, como el empaque de alimentos. La metodología empleada es de tipo cualitativa, basada en entrevistas, observación participativa y con un enfoque de investigación- acción y descriptiva que involucra activamente a estudiantes, personal educativo y líderes de la comunidad en la implementación de estrategias sostenibles. Los resultados determinaron que los programas educativos implementados en esta investigación han fomentado una mayor conciencia ambiental entre los estudiantes y la creación de un blog interactivo ha sido clave para promover la participación activa de la comunidad en la adopción de prácticas sostenibles, destacando el conocimiento ancestral sobre la hoja de bijao como alternativa biodegradable al plástico.

Palabras clave: Desarrollo sostenible, plásticos, educación ambiental.

ABSTRACT

The excessive use of plastics at the Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA), in Barbacoas, Nariño, it has affected negatively

the environment by soils and water sources contamination impacting the biodiversity and health of the inhabitants of the Gran Sábalo. Therefore, the objective of this research is to promote the bijao leaf as a pedagogical strategy to reduce the use of plastics in the institution, since it has been observed that it is necessary to preserve both the environment and the health of the educational community, furthermore, this initiative aims to strengthen the culture through the revaluation of ancestral knowledge. In that sense, it has been of vital importance to seek alternatives such as the bijao leaf, a plant known and used by the Awá community; it isn't only biodegradable, but also serves to replace plastic in various applications, such as food packaging. The methodology used is qualitative, based on interviews, participatory observation and an action-research and descriptive approach that actively involves students, educational staff, and community leaders in the implementation of sustainable strategies. The results determined that the educational programs implemented in this research have fostered greater environmental awareness among students and the creation of an interactive blog has been key to promote the active participation of the community in the adoption of sustainable practices, highlighting the ancestral knowledge about the bijao leaf as a biodegradable alternative to plastic.

Keywords: Sustainable development, plastics, environmental education.

Introducción

La presente investigación se centra en la exploración del potencial educativo del uso de la hoja de bijao, también denominada *Calathea lutea*, como una estrategia pedagógica para reducir la dependencia del plástico en la institución IETABA ubicada al sur del Departamento de Nariño en Municipio de Barbacoas, puesto que, la cantidad de estudiantes ha generado una demanda considerable en el uso de estos; contaminando los espacios del entorno educativo, algunos llegando a quebradas, ríos y, finalmente, el mar en la zona de Tumaco. Además, una parte de estos residuos se incinera, afectando la salud de los habitantes de la comunidad el predio el Verde – Diviso. Esta misma problemática fue reportada en comunidades indígenas AWA^{1,2,3}

Según el informe de la Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2021); el plástico, debido a su lento proceso de descomposición y su resistencia a la degradación, lo convierte en una amenaza persistente para los ecosistemas terrestres y marinos, su acumulación en estos lugares ha generado una crisis medioambiental de proporciones alarmantes comprometiendo la salud del planeta y de las futuras generaciones¹.

En el Predio el Verde Municipio de Barbacoas, Nariño, se ha intentado sembrar y cultivar la hoja de bijao en terrenos húmedos para su crecimiento y aprovechamiento, también se encuentra en terrenos secos, pero, su desarrollo es

menos productivo. Anteriormente, esta planta era fundamental en la vida de los mayores Awá, quienes la utilizaban en diversas aplicaciones, desde la construcción de viviendas hasta diferentes eventos y celebraciones. Sin embargo, con la influencia de la cultura occidental, se ha observado un cambio en las prácticas culturales, con una disminución en el conocimiento y uso de la hoja de bijao entre las generaciones más jóvenes.

Con base en lo anterior, se busca tratar de manera integral el problema de la gestión de residuos incluyendo estos temas en el plan de estudio de diferentes áreas y en los proyectos ambientales que aborden problemas relacionados con la contaminación por residuos plásticos. Por consiguiente, esto permitirá enriquecer el conocimiento y proceso asociado con esta planta, la cual no solo ofrece beneficios ambientales al evitar la contaminación de los entornos naturales, sino que también promueven un estilo de vida saludable, sostenible y garantiza la preservación de esta valiosa tradición cultural y medioambiental para futuras generaciones. La presente investigación emerge como una respuesta integral ante la problemática del uso desmedido del plástico en la Institución Educativa IETABA; mediante la implementación de la hoja de bijao como una estrategia pedagógica, que además de reducir la contaminación, enriquece el conocimiento y la conexión con esta planta ancestral. La hoja de bijao, con sus múltiples usos y beneficios ambientales, representa un vínculo vital con las tradiciones culturales de

la comunidad Awá y una herramienta para promover un estilo de vida más sostenible.

Métodos

El enfoque metodológico utilizado en esta investigación es cualitativo, con un paradigma interpretativo, este método permite explorar en profundidad las percepciones y experiencias de los miembros de la comunidad educativa⁴, para este caso en particular, el uso de la hoja de bijao como sustituto del plástico, además, el estudio adopta un enfoque descriptivo para comprender las características del proceso de siembra, recolección y selección de la hoja de bijao. También se utilizó la investigación-acción, involu-

crando activamente a estudiantes y personal de la institución en el desarrollo de estrategias sostenibles para reducir el uso de plásticos, promoviendo un cambio social a través de la participación colaborativa.

Población. La Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá ubicada en el municipio de Barbacoas, Departamento de Nariño, corregimiento el Diviso, cuenta con un total de 975 estudiantes, de los cuales 510 son hombres y 465 son mujeres.

Muestra. En la presente investigación se planteó lo siguiente:

Tabla 1. Total de estudiantes de la institución IETABA y la muestra.

Población Estudiantes IETABA	Muestra
975 estudiantes	24 estudiantes de grado tercero

En la presente investigación se realizó un análisis cualitativo de los datos recopilados a cocineros, agricultores, líderes y estudiantes para conocer las percepciones, actitudes y comportamientos relacionados con el uso de plásticos y desechables, así como la viabilidad de la hoja de

bijao como alternativa sostenible.

En la tabla 2 muestra el sistema categorial para la implementación de programas educativos que integren la hoja de bijao como alternativa sostenible.

Tabla 2. Sistema categorial del diseño de la investigación.

Categoría	Sub categoría	Descriptor	Ítems	Instrumento/Preguntas	Fuente
Botánica	Viabilidad de la hoja de bijao	La Botánica es esencial en Biología, estudia los organismos vegetales en todas sus formas y complejidades, integrando conocimiento tradicional y avances científicos recientes. Desde la organización y diversidad de plantas hasta su papel en ecosistemas, abarca desde cianobacterias hasta plantas vasculares y hongos, fundamentales como productores y descomponedores. La botánica básica y aplicada son clave en el desarrollo tecnológico agrícola, farmacéutico y forestal, así como en la gestión ambiental, ofreciendo un vasto	Indagar sobre el conocimiento ancestral y usos relacionados con la hoja de bijao (<i>Calathea lutea</i>) como una alternativa ecológica que reemplace al plástico.	Bitácora. Observación participante. Entrevistas a agricultores, mujeres manipuladoras de alimentos, líderes comunitarios y estudiantes.	Realizar visitas a cultivos de la hoja de bijao para una observación directa. Tomar notas y fotografías durante las visitas. Entrevista a agricultores, mujeres manipuladoras de alimentos, líderes comunitarios y estudiantes para documentar las prácticas, los usos tradicio-

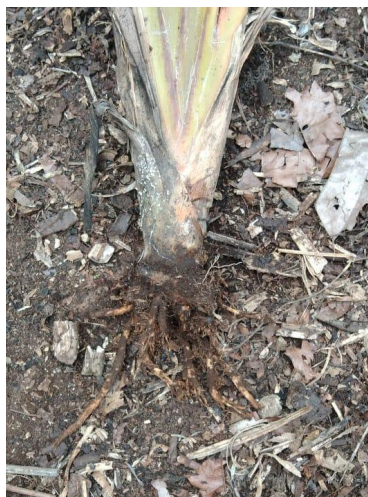
		campo de exploración y conocimiento.			nales y culturales de la hoja de bijao.
	Investigación sobre el cultivo de la hoja de bijao	La investigación sobre el cultivo de la hoja de bijao se centra en comprender las prácticas agrícolas y botánicas relacionadas con esta planta. Explora condiciones óptimas de crecimiento, técnicas sostenibles y sus potenciales usos, como alternativa al plástico en envoltura de alimentos.			
	Usos tradicionales y culturales	Hace referencia a los usos esenciales de la hoja de bijao en la comunidad Awá desde envolver alimentos hasta ceremonias rituales y medicina tradicional.			
Agricultura	Sistema de cultivo		Realizar las prácticas agrícolas destinadas a cultivar y mantener esta planta tropical, incluye técnicas de siembra y manejo del suelo.	Entrevista para recopilar la información sobre las prácticas agrícolas utilizadas, los desafíos encontrados y las recomendaciones para mejorar el cultivo.	Entrevista a agricultores del sector con conocimiento en siembra y cultivo de la hoja de bijao.
Educación Ambiental	Diseño de programas educativos	Los programas educativos son un recurso fundamental en el proceso de enseñanza y aprendizaje en el ámbito educativo. El diseño de un programa educativo implica la concreción de objetivos, la selección de contenidos y actividades, así como la elección de una metodología y un sistema de evaluación adecuado (UNIR REVISTA, 2023).	Diseñar programas educativos que permitan integrar la hoja de bijao en la envoltura de algunos alimentos para reducir la contaminación y malas prácticas con el uso del plástico.	Entrevista a estudiantes sobre el desarrollo de los programas educativos y conocimiento de la hoja de bijao. Promover los programas educativos para la enseñanza de la hoja de bijao como alternativa al uso del plástico.	Entrevista. Referentes teóricos.

	Promoción de prácticas sostenibles entre la comunidad educativa	Hace referencia a promover las prácticas sostenibles entre un grupo de estudiantes.			
	Sensibilización sobre el problema del plástico.	Sensibilizar y concientizar a la comunidad educativa sobre el uso de la hoja de bijao.			
Pedagogía	Pedagogía	La pedagogía es esencial en el campo educativo, se dedica a examinar los métodos de enseñanza y aprendizaje, con el propósito de entender el proceso de adquisición de conocimientos de los alumnos.	Explorando el potencial del bijao como recurso inclusivo en la comunidad educativa.	Diseñar una estrategia efectiva para promover la sensibilización y difusión del uso cotidiano de la hoja de bijao.	Referentes teóricos.
	Estrategia pedagógica	La estrategia educativa es un conjunto de acciones dirigidas a alcanzar un objetivo o solucionar un problema, con el fin de facilitar la articulación, integración, construcción y adquisición de conocimientos en docentes y estudiantes dentro del entorno académico (Vargas-Murillo, 2020).	Elaboración de un blog interactivo que permita la enseñanza – aprendizaje de la hoja de bijao como alternativa al uso del plástico.	Difusión del blog a los estudiantes del Institución Educativa IETABA.	Documentos de sitio web.

Tabla 3. Bitácora para recolección de información.

Título	La hoja de bijao (<i>Calathea lutea</i>) como estrategia pedagógica para la reducción del uso de plásticos en la Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA) del municipio de Barbacoas Nariño.				
Investigador	Ángel María Burgos Moreano				
Registro diario de Actividades					
Fecha	Actividad realizada	Resultados	Dificultades	Soluciones	Próximos pasos
11/08/2024	Análisis y selección de materiales	Análisis físico de la planta Raíz: La raíz es fundamental para la reproducción de la planta, ya que de ella surgen hiju-	No se presentaron dificultades significativas.	No fueron necesarias soluciones adicionales.	Continuar con el análisis de otros factores ambientales: Explorar otros factores que puedan afectar el culti-

	<p>elos que aseguran la continuidad del cultivo.</p> <p>Tallo: El tallo debe ser cortado adecuadamente, especialmente si la hoja se va a utilizar para techos o empaques, asegurando un corte limpio y preciso.</p> <p>Hoja: La hoja es el material principal, utilizada en diversas aplicaciones culinarias y agrícolas. Es importante evitar que se rompa y puede ser suavizada pasando por el fuego.</p> <p>Análisis del lugar</p> <p>Temperatura: Las condiciones climáticas óptimas para el cultivo de la hoja de bijao es un clima tropical medio.</p> <p>Tipo de tierra: El lugar ideal para cultivar bijao es una zona húmeda, preferiblemente cerca de ríos o quebradas y con un suelo cenegoso y húmedo.</p> <p>Utilización de abonos: Se utiliza fungicidas para proteger el cultivo del gusano que daña el cogollo de la planta, lo que indica que el uso de abonos es parte del manejo del cultivo.</p>		<p>vo de la hoja de bijao.</p> <p>Documentación y difusión del conocimiento: Crear materiales educativos para compartir el conocimiento sobre el cultivo y uso de la hoja de bijao</p>
--	--	--	--



Raíz



Tallo



Hoja

<p>13/08/2024 a 19/08/2024</p>	<p>Ejecución de actividades pedagógicas</p>	<p>Exploración y Conocimiento de la Hoja de Bijao: Los estudiantes aprendieron sobre el hábitat natural y las características de la hoja de bijao.</p> <p>Taller de Manualidades con Hojas de Bijao: Los estudiantes crearon manualidades, comprendiendo el uso sostenible de recursos naturales.</p> <p>Proyecto de Huerto: Escolar de Bijao Iniciación del huerto escolar, con estudiantes comprometidos en su mantenimiento.</p> <p>Juego de Roles: Mercado Sostenible Estudiantes comprendieron el concepto de sostenibilidad y economía circular.</p> <p>Creación de un Diario de la Sostenibilidad: Los estudiantes comenzaron a reflexionar sobre sus hábitos y su impacto en el medio ambiente</p> <p>Cuentacuentos Ambiental: Estudiantes participaron activamente en la narración de historias ambientales.</p> <p>Campaña de Sensibilización en la Comunidad Educativa: Se concientizó a la comunidad educativa sobre la importancia de reducir el uso de plásticos.</p>	<p>En la campaña de sensibilización. Dificultad para captar la atención de todos los miembros de la comunidad educativa.</p>	<p>Uso de medios visuales atractivos y actividades interactivas para aumentar el interés.</p>	<p>Realizar una evaluación del impacto de las actividades y planificar acciones de seguimiento</p>
--	---	--	--	---	--



22/08/2024	Feria de alimentos en la institución	<p>Claridad en los objetivos de la campaña; comprensión de la importancia de la participación comunitaria.</p> <p>Desarrollo de recursos visuales atractivos y relevantes para la comunidad.</p> <p>Presentación efectiva de la información sobre la hoja de bijao; interacción positiva con la comunidad.</p> <p>Identificación de logros y áreas de mejora; retroalimentación valiosa de estudiantes, padres y cocineros.</p>	Diversidad en la percepción de la campaña entre diferentes grupos.	<p>Uso de ejemplos prácticos y visuales para captar el interés.</p> <p>Capacitación breve sobre herramientas de diseño y ejemplos de materiales efectivos.</p>	Evaluar la respuesta de la comunidad y planificar ajustes para futuras ferias.
------------	--------------------------------------	---	--	--	--

Fotografías



Reflexiones de las Actividades

¿Cómo se desarrollaron las actividades?	Las actividades se desarrollaron de manera fluida, permitiendo a los estudiantes adquirir un conocimiento profundo sobre la hoja de bijao y su uso sostenible. Las manualidades y el huerto escolar generaron un alto nivel de participación e interés, sin embargo, la campaña de sensibilización enfrentó dificultades para captar la atención de toda la comunidad educativa.
¿Qué aprendiste con los temas tratados?	Se evidenció el potencial que tiene la hoja de bijao como recurso natural sostenible, tanto en la educación ambiental como en la reducción del uso de plásticos, además, de la importancia de utilizar diferentes estrategias pedagógicas para involucrar a los estudiantes y a la comunidad en temas de sostenibilidad.
¿Cómo te sentiste realizando las actividades programadas	Motivación al observar el entusiasmo de los estudiantes durante las actividades, especialmente en la creación de manualidades y el huerto escolar, aunque se presentó una falta de atención en la campaña de sensibilización se buscaron estrategias comunicativas y de participación.

Conclusión, recomendación	Las actividades lograron los objetivos pedagógicos propuestos, especialmente en cuanto a la concientización sobre la sostenibilidad. Se recomienda realizar evaluaciones continuas del impacto de estas actividades y explorar nuevas formas de involucrar a la comunidad en futuros proyectos, especialmente en campañas de sensibilización, también, sería beneficioso documentar y difundir el conocimiento adquirido sobre la hoja de bijao para que otras comunidades puedan replicar estas iniciativas.
---------------------------	---

Resultados y Discusión

Se han realizado diversas investigaciones sobre el cultivo y uso del bijao (*Calathea lutea*) como una alternativa sostenible en diferentes ámbitos. Por su parte⁵ determinó las características y producción de hojas de *Calathea lutea* (hoja de bijao) establecidas bajo dos técnicas de siembra en asociación con *Calycophyllum spruceanum*. Por su parte⁶, describió la caracterización de tres poblaciones ex situ de bijao con el objetivo de aprovechar sus hojas en la elaboración de protectores para racimos de banano orgánico. Mientras que⁷ mostraron que el extracto de bijao inhibe la germinación de las semillas de lechuga y afecta negativamente el crecimiento morfológico de las plántulas, provocando debilidad, deformidad y necrosis en las raíces; este estudio destaca el potencial alelopático del bijao y su posible aplicación en el control de malezas y en la agricultura sostenible. En Colombia^{1,8,9}, se han realizado estudios sobre Materiales sostenibles y biodegradables, como las hojas de bijao y plátano y las fibras vegetales, para el empaque de alimentos en el cual muestra un panorama en constante evolución para promover la conservación de los productos alimenticios y la preservación de la cultura culinaria y también contribuir al cuidado del medio ambiente mediante a partir del uso de materiales biodegradables y sostenibles. Sin embargo, no se han reportado estudios relacionados con la hoja de Bijao en este campo de investigación. En este escenario, en esta investigación se parte de el uso de una bitácora, lo cual permitió detallar las actividades y entrevistas realizadas sobre la hoja de bijao, como también, describir los resultados esperados, los desafíos presentados y las soluciones; con esto se analizaron las áreas de mejora, como la necesidad de estrategias más efectivas para involucrar a la comunidad en la campaña de sensibilización.

En este sentido, las entrevistas proporcionaron una visión detallada de cómo la hoja de bijao es utilizada y valorada en la región, aunque presenta desafíos, como la necesidad de educación y la mejora en las prácticas agrícolas, también ofrece oportunidades significativas para mejorar la sostenibilidad ambiental y preservar las

tradiciones culturales. La continuidad de estos esfuerzos, junto con una mayor concientización y apoyo comunitario, será esencial para asegurar el futuro de la hoja de bijao en la gastronomía y la cultura local. Así como también se documentó y el contexto en relación con las prácticas y percepciones sobre el uso de la hoja de bijao (*Calathea lutea*) en la comunidad educativa. Estas proporcionaron información cualitativa profunda sobre las prácticas de cultivo y uso de la hoja de bijao. Esta técnica fue adecuada para explorar conocimientos ancestrales y obtener detalles como por ejemplo el clima y las técnicas de conservación de la planta que refuerzan la importancia de la adaptación cultural en proyectos de sostenibilidad. Se identificó que la hoja de bijao no es solo una alternativa viable al remplazo al plástico, sino también una opción culturalmente integrada en las prácticas locales. Otro hallazgo importante está relacionado con la importancia de integrar actividades educativas basadas en prácticas sostenibles en diferentes instituciones educativas, puesto que, al permitir que los estudiantes interactúen directamente con el uso de la hoja de bijao, no solo se promueve un mayor conocimiento ecológico, sino también una mayor adopción de comportamientos sostenibles desde una edad temprana.

La implementación de la propuesta pedagógica permitió generar un alto nivel de interés y participación entre los estudiantes, los talleres de manualidades y el proyecto del huerto escolar se destacaron como ejemplos de cómo los estudiantes pueden interiorizar los conceptos de sostenibilidad a través de la acción y las estrategias pedagógicas en el aula abarcan una variedad de técnicas y metodologías empleadas por los docentes para facilitar la enseñanza y orientar el aprendizaje de los alumnos. Dichas estrategias pueden cambiar según el contenido que se enseñe, el nivel educativo, las particularidades del grupo de estudiantes y otros factores que impactan los procesos de enseñanza en el aula^{10, 11}.

La hoja de bijao ha demostrado ser un recurso eficaz para promover la educación ambiental y la reducción del uso de plásticos en la IETABA,

lo cual confirmó la viabilidad ecológica del bijao y evidenció la importancia de un enfoque pedagógico adaptado a las necesidades y características culturales de la comunidad Awá. Las dificultades encontradas en la campaña de sensibilización subrayan la necesidad de una comunicación inclusiva y atractiva, lo que puede servir de base para futuras investigaciones y proyectos educativos.

Al centrarse en la hoja de bijao y sus aplicaciones sostenibles, el blog juega un papel crucial en la sensibilización ambiental, ya que, las entradas del blog abordan temas relacionados con la reducción del uso de plásticos y promueven prácticas más ecológicas, educando a los lectores sobre la importancia de adoptar alternativas sostenibles en su vida diaria.

Conclusión

La investigación resalta el valor del conocimiento ancestral sobre la hoja de bijao en la comunidad Awá del departamento de Nariño, municipio de Barbacoas, destacando su importancia ecológica y cultural como alternativa al plástico. Los usos tradicionales de la hoja de bijao ofrecen una base sólida para su promoción debido a sus propiedades biodegradables, aunque la pérdida del conocimiento ha llevado a la necesidad de documentar y transmitir las prácticas tradicionales para preservar su valor y fomentar la reducción del uso de plásticos.

Los programas educativos centrados en la hoja de bijao han demostrado un impacto positivo, ya que, aumentan la conciencia ambiental entre los estudiantes y permiten conocer los beneficios de la hoja de bijao, además de su importancia en la reducción del uso de plásticos dentro de la institución y adoptar hábitos ecológicos para mejorar la gestión de recursos naturales.

La creación del blog interactivo ha demostrado ser una herramienta eficaz para promover el uso de la hoja de bijao y fomentar la concientización ambiental, facilitando la difusión de información, experiencias y técnicas relacionadas con su uso como alternativa al plástico, además, ha impulsado la participación activa de estudiantes, docentes y miembros de la comunidad educativa contribuyendo a una mayor conciencia y compromiso con prácticas ecológicas.

Referencias

1. Revelo, H. A., Canticus López, A., & Canticus Pascal, A. (2023). Estrategia Pedagógica para el Manejo Sostenible de Fibras Vegetales como Recursos Artesanales en el Resguardo Nunalbi Alto Ulbi, en el Departamento de Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 3109-3128. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.7942
2. Arciniegas, G. R., Argote Hernández, L. M., Ordoñez Gomez, L. A., & Alberto Revelo, H. (2024). Impacto de la Especie Nativa Pandala (*Prunus Huantensis*) en el Ecosistema del Área de Influencia del Parque Natural Regional Páramo Paja Blanca Pupiales Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(1), 4811-4826. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.9819
3. Piarpuezan, V. R., Herley Jamioy, N., & Revelo, H. A. (2023). Estrategias Pedagógicas para Fortalecer la Cultura Ambiental Frente a la Contaminación por Residuos Sólidos en los Estudiantes de Primaria de la Sede Indígena Awá, La Brava. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 3129-3146. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.7944
4. Hernández-Sánchez, I. B., Lay, N., Herrera, H., & Rodríguez, M. (2020). Estrategias pedagógicas para el aprendizaje y desarrollo de competencias investigativas en estudiantes universitarios. *Revista de Ciencias Sociales (RCS)*. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/rcs/article/view/35911/38259>
5. Franco, S. M. (2023). Caracterización y producción de hojas de *calathea lutea* (bijao blanco) establecidos bajo dos técnicas de siembra en asocio con *Calycophyllum spruceanum* (CAPIRONA). Tingo María - Perú.
6. Quevedo-Guerrero, J. N. (2022). Caracterización agromorfológica de tres poblaciones ex situ de bijao (*calathea lutea*) para establecer parámetros de cultivo.
7. Ramírez Castro, K. E., Velazco Castro, E. V., Sotero Solís, V. E., Riveros Torres, L., & Castro Muñoz, C. P. (2022). In vitro allelopathy of the aqueous extract of *Calathea lutea* on the initial growth of *Lactuca sativa* L. *Revista de investigación científica Tayacaja*. vol. 5, no 2, p. 16-24.
8. Montaña, Y. (2020). Materiales sostenibles biodegradables para envasado de alimentos: Hoja de bijao y hoja de plátano.
9. Enríquez Guerrero, B. E., Moreano Urbano, J. E., & Revelo Cuaspu, H. A. (2023). Identifi-

cación de Fibras Naturales que Reemplacen el Uso del Plástico, Utilizando Manufacturación Artesanal en la Institución Educativa Bilingüe Agroindustrial Sindagua del Municipio de Ricaurte. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(6), 1874-1890. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i6.

10. Calderón Sánchez, E. R., Urvina Quito, L. P., Plaza Sandoval, V. G., Narváez Narváez, M. D., & Cepeda Saldivia, E. A. (2023). Estrategias Pedagógicas en el aula y su Influencia en el desarrollo socioemocional de los Estudiantes. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(2), 5488-5504. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i2.5734.
11. Enit Benites, Y., Karina Padilla, L., & Revelo Cuaspud, H. A. (2023). Estrategias Lúdico Pedagógicas para Disminuir la Contaminación en el Río Guiza en el Centro Educativo de Palpis. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 8069-8091. https://doi.org/10.37811/cl_rcm

Efecto del glicerol en la producción de leche, cuerpos cetónicos y actividad ovárica en vacas en pastoreo

Effect of glycerol on milk production, ketone bodies and ovarian activity in grazing cows

Recibido: 9 de octubre de 2024 • Aprobado: 21 de octubre de 2024

Jesús Alberto Cardozo

Universidad de Pamplona, Facultad Ciencias Agrarias.

E-mail: jesus.cardozo@unipamplona.edu.co **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6824-0946>

Luis Gabriel Cucunubo

Universidad Antonio Nariño, Facultad de Medicina Veterinaria

E-mail: lgcucunubos@uan.edu.co **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6379-8548>

Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de dos niveles de suplementación de glicerol en la producción láctea, condición corporal, concentración de cuerpos cetónicos y actividad ovárica en vacas de la raza Holstein en condiciones de pastoreo. Se utilizaron 20 vacas asignadas aleatoriamente a los siguientes tratamientos: T 0= control T 1= 500 mL de glicerol; y T 2= 1000 mL de glicerol; con un período de adaptación de 7 días. Se evaluaron semanalmente las variables de producción láctea, condición corporal y cuerpos cetónicos en orina (Test Rothera). Adicionalmente se evaluó la actividad ovárica cada 14 días por palpación rectal. No se presentó diferencia significativa entre tratamientos ($P>0,05$) (T 0: 24.61, T1: 23.95, T3: 26,47), ni diferencia significativas ($P>0,05$), entre semanas e interacción de semana tratamiento para la producción láctea, el T2 mantuvo la producción láctea durante todo el experimento. No se encontró una correlación en la suplementación de glicerol sobre la presencia de cuerpos cetónicos en orina, independiente de su tratamiento. Del total de los animales en estudio, solo el 39.62% de los animales posiblemente experimentaron cetosis subclínica. No se observó diferencia significativa ($P>0,05$) entre tratamientos para la condición corporal, manteniéndose estable a lo largo del experimento, así como tampoco se encontró diferencia significativa ($P>0,05$) entre tratamientos para la actividad ovárica. Se concluye que la suplementación de glicerol no presentó un efecto significativo sobre la producción láctea ni la presencia de cuerpos cetónicos, condición corporal y actividad ovárica.

Palabras clave: Vacas Holstein, glicerol, producción láctea, condición corporal, concentración de cuerpos cetónicos y actividad ovárica.

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of two levels of glycerol supplementation on milk production, body condition, concentration of ketone bodies and ovarian activity in Holstein cattle are grazed. A total of 20 cows were randomly assigned to the following treatments: T 0 = no glycerol T 1 = 500 mL of glycerol and T 2 = 1000 mL of glycerol, with an adjustment period of 7 and 42 days experimental. Results were evaluated weekly variables milk production, body condition and urine ketones (Test Rothera). Additionally ovarian activity was evaluated every 14 days by rectal palpation. No significant difference was found between treatments ($P>0.05$) (T 0: 24.61, T 1: 23.95,

T 3: 26,47), nor significant difference ($P>0.05$), and interaction of week weeks treatment for milk production, the T 2 milk production maintained throughout the experiment. No correlation was found glycerol supplementation in the presence of ketone bodies in urine. Of all the animals in the study, only 39.62% of the animals may have experienced subclinical ketosis. There was no significant difference ($P>0.05$) between treatments parala body condition, staying stable throughout the experiment, as well as also was no significant difference ($P >0.05$) between treatments for ovarian activity. It is concluded that glycerol supplementation did not present a significant effect on milk production, presence ketone bodies, body condition and ovarian activity.

Keywords: Holstein cattle, glicerol, milk production, ketone bodies, body condition and ovarian activity

Introducción

La selección genética de animales orientada al aumento de la producción láctea llevando a un incremento los requerimientos nutricionales postparto, especialmente en lo que respecta a la energía necesaria para la producción de leche (1). En los sistemas de producción de leche especializada en Colombia, la base nutricional de los animales se compone principalmente de forraje verde, el cual está sujeto a fluctuaciones constantes en la temperatura y la pluviosidad ambiental. Esto da como resultado bajos niveles de energía e inestabilidad en el crecimiento del forraje a lo largo del año (2).

Debido a estas deficiencias energéticas, los productores se ven en ocasiones obligados a utilizar suplementos energéticos para satisfacer las necesidades de sus animales. En el postparto, las vacas lecheras presentan una mayor predisposición al balance energético negativo (BEN), lo que se manifiesta en la pérdida de condición corporal (CC), así como en la disminución de los parámetros productivos y reproductivos (3).

La presentación de BEN en el período de transición tiene un gran impacto en el postparto temprano, predisponiendo a la presentación de hipocalcemia, cetosis, desplazamiento de abomaso, retención de placenta, laminitis, metritis(4) y endometritis (5). En cuanto a la reproducción, la disminución de un punto (1,0) en la condición corporal (CC) desde el parto hasta los 100 días postparto puede reducir la eficiencia reproductiva de las vacas entre un 17 % y un 38 % en la primera inseminación. Como consecuencia, el intervalo entre el parto y la concepción puede aumentar a más de 130 días, e incluso sobrepasar los 200 días después del parto, lo que incrementa la tasa de descarte y genera pérdidas económicas (5). Por todo lo anterior, se

hace necesaria la búsqueda de estrategias que optimicen el potencial productivo y reproductivo del hato. (6).

En este contexto, se han comenzado a emplear productos gluconeogénicos, como el glicerol, en la suplementación alimenticia de los bovinos lecheros, mejorando su estado energético, disminuyendo el BEN y reduciendo la incidencia de enfermedades del periparto (6). Debido al impacto económico que la alimentación tiene en los costos de producción y la sanidad del hato, se han comenzado a utilizar materias primas provenientes de subproductos agroindustriales, como el glicerol, un subproducto del proceso de producción de biodiésel.

La producción de biodiésel ha estado respaldada por el uso de aceite de palma, que constituye la base principal de este biocombustible en el país. En 2022, Colombia produjo aproximadamente 710.000 toneladas de biodiésel, un aumento significativo en comparación con las 590.000 toneladas producidas en 2021. Esto posiciona a Colombia como el quinto productor y el sexto exportador de biodiésel a nivel mundial (7).

El glicerol es una molécula de carbohidrato con una concentración de energía neta de 1.98 - 2.29 Mcal/Kg, y posee propiedades gluconeogénicas (8). Su efecto depende de su nivel de pureza, ya que en la alimentación de bovinos deben considerarse componentes como agua, metanol, fósforo y potasio presentes en su composición (9). Actualmente, varios estudios indican que la inclusión de hasta un 15 % de glicerol en la materia seca no tiene efectos negativos en la producción de leche (10-15).

En Colombia, el glicerol se ha comenzado a utilizar en la alimentación de bovinos lecheros,

basado en estudios realizados en otros países con condiciones nutricionales muy diferentes. En dichos países, las dietas contienen niveles adecuados de fibra detergente neutra (FDN), lo cual es fundamental para la fermentación de este producto gluconeogénico. Sin embargo, en Colombia, los sistemas especializados de producción lechera se basan principalmente en forrajes que no siempre presentan niveles adecuados de FDN, lo que podría generar respuestas en la producción láctea, la condición corporal y la actividad ovárica diferentes a las observadas en estudios extranjeros. El objetivo del presente estudio es determinar el efecto de dos niveles de suplementación con glicerol sobre la producción de leche, la condición corporal, la concentración de cuerpos cetónicos y la actividad ovárica en vacas de raza Holstein bajo condiciones de pastoreo.

Materiales y Métodos

Descripción del lugar: La finca El Cerrito está ubicada en el municipio de Facatativá, Cundinamarca, con una extensión de 48 fanegadas, a una altitud de 2.586 msnm y con una temperatura media de 18°C.

Animales: Se seleccionaron 20 hembras de raza Holstein en producción láctea, entre la segunda y séptima lactancia, que se encontraban entre los 0 y 100 días posparto y que, hasta ese momento, no habían tenido su primer servicio.

Alimentación: La dieta consistió en pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) ad libitum, 6,25 kg de ensilaje de maíz por vaca al día, 5 kg de papa (*Solanum tuberosum*) por vaca al día, 0,9 kg de harina de maíz (*Zea mays L.*) por vaca al día, y 46 g de sal por vaca al día, suministrada en el potrero.

Tabla 1. Composición nutricional aproximada de la dieta ofrecida a las vacas (Materia natural (M.N) y Materia Seca (MS)).

Unidades	Tratamiento 0			Tratamiento 1			Tratamiento 2		
	Kg	MS (%)	Kg	Kg	MS (%)	Kg	Kg	MS (%)	Kg
Alimento	M.N	MS	MS	M.N	MS	MS	M.N	MS	MS
Pasto kikuyo (<i>Cenchrus clandestinus</i>)	92,65	39,64	5,5	87,55	37,45	5,2	80,75	34,55	4,8
Papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	5	6,91	1,0	5	6,91	1,0	5	6,91	1,0
Concentrado	5	30,91	4,3	5	30,91	4,3	5	30,91	4,3
Ensilaje de Maíz	6,25	15,91	2,2	6,00	15,27	2,1	6,00	15,27	2,1
Maíz (<i>Zea Mayz L.</i>)	0,90	5,76	0,8	0,90	5,76%	0,8	0,90	5,76%	0,8
Sal blanca	0,05	0,33	0,0	0,05	0,33%	0,0	0,05	0,33%	0,0
Glicerol	0,00	99,46	13,7	0,5	3,09%	0,4	1	6,18%	0,9
Total		99,46	13,7		99,73%	13,7		99,91%	13,7

(Fuente, CQBAL 3.0)

Identificación y agrupamiento de los animales: Las vacas se asignaron a grupos de manera aleatoria, sin tener en cuenta su condición corporal, peso o número de lactancias.

Diseño experimental: El experimento tuvo una duración de 49 días (7 días de adaptación y 42 días de evaluación de variables). Las vacas se distribuyeron en tres tratamientos: Tratamiento control (n=7), Tratamiento 1 (n=6) y Tratamiento 2 (n=7). El diseño experimental es de naturaleza exploratoria, donde los animales se asignaron al azar a los siguientes tratamientos:

- **Tratamiento Control (T0):** Sin adición de glicerol.
- **Tratamiento T1 (T1):** Recibieron 500 mL de glicerol, lo que representa aproximadamente el 3,09 % de la materia seca de la dieta. El glicerol se mezcló en 250 mL con el suplemento alimenticio durante cada ordeño.
- **Tratamiento T2 (T2):** Recibieron 1000 mL de glicerol, lo que representa aproximadamente el 6,18 % de la materia seca de la dieta. El glicerol se mezcló en 500 mL con el suplemento alimenticio durante cada ordeño.

VARIABLES A EVALUAR

Condición Corporal: La condición corporal (CC) se evaluó semanalmente desde el día 0 hasta el día 42 del experimento, utilizando un método subjetivo descrito por Ferguson (16). La evaluación consistió en una inspección visual de la cantidad de tejido adiposo subcutáneo en puntos específicos, como la región perianal, la tuberosidad coxal, la tuberosidad isquiática, las apófisis transversas de la región lumbar y los espacios intercostales. La escala utilizada para la evaluación de la CC varía de 1 a 5, donde 1 indica una vaca extremadamente delgada y 5 indica una vaca obesa, utilizando incrementos de 0,25 puntos.

Producción Láctea: La producción de leche se midió semanalmente mediante el registro de los ordeños de la mañana y la tarde, desde el día 0 hasta el día 42 del experimento para cada tratamiento.

Cuerpos Cetónicos: Los cuerpos cetónicos se determinaron semanalmente, desde el día 0 hasta el día 42 del experimento, mediante la prueba de Rothera. Esta prueba detecta cuerpos cetónicos en la orina a través de la reacción entre el ácido acetoacético (Ac) y el nitroprusiato de sodio, produciendo diferentes coloraciones: negativo (-), sospechoso (+) con color rosa translúcido, leve (++) con color púrpura translúcido, moderado (+++) con púrpura semi translúcido, e intenso (++++) con púrpura oscuro. Esta prueba tiene una sensibilidad del 78 % y una especificidad del 96 % (17).

Palpación Rectal: Se realizaron palpaciones rectales desde el día 0 hasta el día 42 del experimento, cada 14 días, para evaluar la actividad ovárica en cada tratamiento. Se clasificaron los animales según su actividad ovárica: aquellos que estaban ciclando, presentando cuerpo lúteo y folículos de tipo III; y aquellos que no estaban ciclando, con folículos de tipo I, folículos de tipo II, ovarios pequeños o lisos.

Análisis estadístico: La información de las muestras recolectadas se digitaron en una hoja de cálculo Microsoft® Excel 2012. Los datos de producción láctea fueron como medidas repetidas, utilizando la matriz de covarianza, componentes Smetria del PROC MIXED. Los datos de determinación de cuerpos cetónicos en orina se correlacionaron con los niveles de suplementación glicerol por medio de una regresión lineal de PROC GLM. Los datos de condición corporal se analizaron por test no paramétrico de Wilcoxon y por último la actividad ovárica se le dio

una clasificación; sin actividad ovárica para los ovarios pequeños, ovarios lisos pequeños, ovarios con folículos I y II, y con actividad ovárica para ovarios con folículos y cuerpos lúteos I, II, III y gestación conformidad, esto datos se analizaron por el Test exacto de Fisher del PROC FREQ, el programa estadístico que se utilizó fue el SAS 9.0. y las gráficas se realizaron por medio programa GraphPad Prism 5.

Resultados

En la semana 0 del experimento, la producción láctea promedio fue de 25,71 L/día para el grupo control (T0), 23,45 ± 1,8 L/día para el Tratamiento 1 (T1) y 26,1 L/día para el Tratamiento 2 (T2). Durante esta semana, los animales tenían un promedio de 55 ± 25,48 días de lactancia en el grupo T0, 46 ± 25,38 días en T1 y 34 ± 25,48 días en T2. En la 6.ª semana del experimento, la producción láctea promedio fue de 24,12 L/día para T0, 26,48 L/día para T1 y 25,46 L/día para T2. En esta semana, los animales tenían un promedio de 97 ± 25,48 días de lactancia en T0, 88 ± 25,38 días en T1 y 82 ± 25,48 días en T2.

En el T2 se observó que la curva de lactancia se mantuvo estable a lo largo de las seis semanas del experimento. Los tratamientos T1 y T0 mostraron un comportamiento muy similar, con un aumento en la producción láctea durante la 1.ª semana, seguido de una disminución en la 2.ª semana. En la 3.ª y 4.ª semana, el T0 incrementó su producción, a diferencia del T1, que experimentó una caída en la 3.ª semana, pero aumentó su producción desde la 4.ª hasta la 6.ª semana. El T0, por su parte, redujo su producción en la 5.ª semana, para luego aumentar nuevamente en la 6.ª semana.

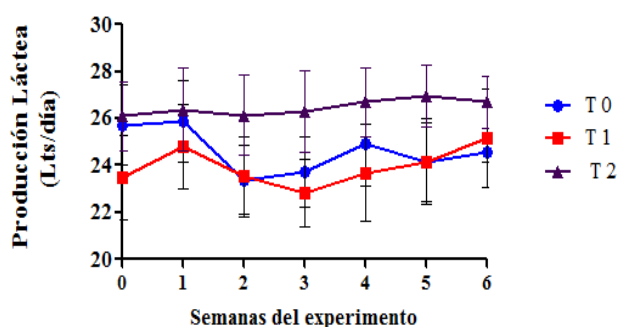


Figura 1. Producción láctea de vacas Holstein en condiciones de pastoreo sometidas a diferentes niveles de suplementación de glicerol, (T0: Sin glicerol, T1: 500 mL y T2; 1000 mL) durante 6 semanas.

La producción láctea promedio para todos los animales durante el experimento fue de 25,06

L/día. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$) (T0: 24,61; T1: 23,95; T3: 26,47), ni tampoco entre las semanas

ni en la interacción semana-tratamiento para la producción láctea, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Producción láctea de vacas Holstein en condiciones de pastoreo sometidas a diferentes niveles de suplementación de glicerol durante 6 semanas.

Variable	T 0 ¹	T 1 ¹	T 2 ¹	MEDÍA	EPM	Probabilidad (p)		
	0 mL	500 mL	1000 mL			Semana	Tratamiento	Int. Sem*Trat
Nº Animales	7	6	7					
Producción Láctea	24,61	23,95	26,47	25,06	0,35	0,3718	0,4444	0,8708

¹ T 0: Sin glicerol, T 1: 500 mL y T 2; 1000 ml. Los datos se analizaron como medidas repetidas, utilizando la matriz de covarianza componentes Smetria (CS) del PROC MIXED de SAS 9.0

En general, el 60,83% de los animales presentó una reacción negativa, lo que indica que no hubo presencia de cuerpos cetónicos en la orina. Un 20,83% mostró una reacción sospechosa, el 14,17% una reacción leve y el 4,17% una reacción moderada. Las reacciones sospechosa, leve y moderada indican la presencia de cuerpos cetónicos en la orina. Ninguno de los tratamientos presentó una reacción intensa, como se muestra en la Figura 2.

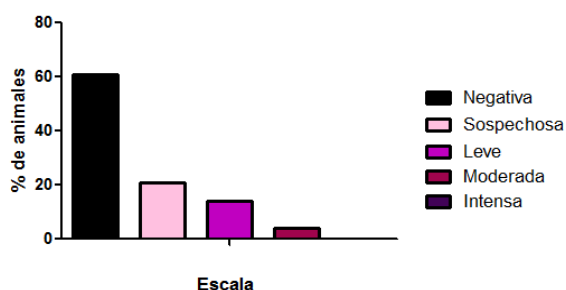


Figura 2. Reacción de los animales en % al Test de rothera, en condiciones de pastoreo sometidas a diferentes niveles de suplementación de glicerol durante 6 semanas.

Durante el experimento, se observó que el 54,76% de los animales del T0, el 66,67% de los animales del T1 y el 61,90% de los animales del T2 presentaron una reacción negativa, indicando la ausencia de cuerpos cetónicos en la orina. El 23,81% de los animales del T0, el 25,00% de los animales del T1 y el 14,29% de los animales del T2 mostraron una reacción sospechosa. Asimismo, el 19,05% de los animales del T0, el 5,56% de los animales del T1 y el 16,67% de los animales del T2 presentaron una reacción leve. Finalmente, el 2,38% de los animales del T0, el 2,78% de los animales del T1 y el 7,14% de los animales del T2 mostraron una reacción moderada. Ninguno de

los tratamientos presentó una reacción intensa, como lo muestra la Figura 3.

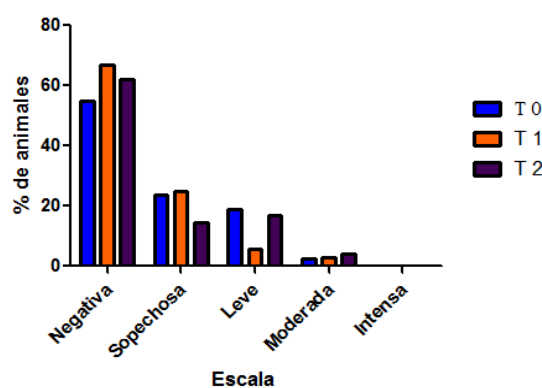


Figura 3. Reacción de los animales en % el Test de rothera, en condiciones de pastoreo sometidas a diferentes niveles de suplementación de glicerol (T 0: Sin glicerol, T 1: 500 mL y T 2; 1000 mL) durante 6 semanas.

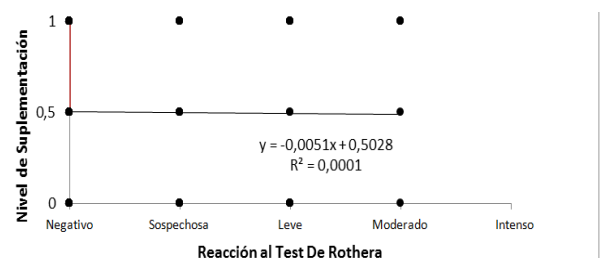


Figura 4. Relación de la suplementación de glicerol sobre la presencia de cuerpos cetónicos en orina, mediante el test de rothera, por PROC GLM, SAS 9.0.

No hay una correlación de la suplementación de glicerol sobre la presencia de cuerpos cetónicos en orina, mediante el test de rothera como lo muestra la figura 4.

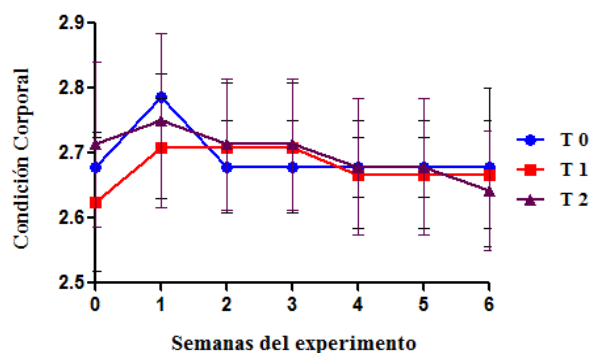


Figura 5. Fluctuación de la condición corporal de vacas Holstein en condiciones de pastoreo sometidas a diferentes niveles de suplementación de glicerol, (T 0: Sin glicerol, T 1: 500 mL y T 2; 1000 mL) durante 6 semanas.

La CC en la semana 0 fue de: T0: 2,68; T1: 2,63; y T2: 2,72. En la 6.^a semana fue de: T0: 2,68; T1: 2,64; y T2: 2,67. Se observó que en la 1.^a semana del experimento la CC aumentó para todos los tratamientos, mientras que en la 2.^a semana hubo una disminución general de la CC. A partir de la 3.^a semana, la CC se mantuvo estable en todos los tratamientos, aunque en la 4.^a semana el T1 y el T2 presentaron una ligera disminución. El T0 mantuvo su CC constante desde la 3.^a hasta la 6.^a semana, al igual que el T1 desde la 4.^a hasta la 6.^a semana. En cambio, el T2 mantuvo su CC en la 5.^a semana pero disminuyó en la 6.^a semana. No se observaron diferencias significativas en la CC entre tratamientos en ninguna de las semanas ($P > 0,05$).

Tabla 3. Frecuencias observadas (%) para la actividad ovárica de vacas Holstein suplementadas con diferentes niveles de glicerol durante 6 semanas.

Actividad Ovárica	T 0	T 1	T 2	Total	P (tratamiento)
					Test Fisher
Semana 0					0.4457
Sin	42.86(n=3)	83.33(n=5)	57.14(n=4)	60.00(n=12)	
Con	57.14(n=4)	16.67(n=1)	42.86(n=3)	40.00(n=8)	
Semana 2					0.1295
Sin	100(n=7)	50.00(n=3)	71.43(n=5)	75.00(n=15)	
Con	0	50.00(n=3)	28.57(n=2)	25.00(n=5)	
Semana 4					10.000
Sin	42.86(n=3)	33.33(n=2)	28.57(n=2)	35.00(n=7)	
Con	57.14(n=4)	66.67(n=4)	71.43(n=5)	65.00(n=13)	
Semana 6					10.000
Sin	14.29(n=1)	16.67(n=1)	28.57(n=2)	20.00(n=4)	
Con	85.71(n=6)	83.33(n=5)	71.43(n=5)	80.00(n=16)	
General					0.9611
Sin	50.00(n=14)	45.83(n=11)	46.43(n=13)	47.50(n=38)	
Con	50.00(n=14)	54,17(n=13)	53.57(n=15)	52.50(n=42)	

¹ T 0: Sin glicerol, T 1: 500 mL y T 2; 1000 mL.

La actividad ovárica se evaluó mediante palpación rectal y se clasificó de la siguiente manera: sin actividad ovárica para ovarios pequeños, ovarios lisos pequeños y ovarios con folículos de tipo I y II; y con actividad ovárica para ovarios con folículos de tipo III, cuerpos lúteos de tipo I, II y III, o confirmación de gestación. En la semana 0, 4 animales del T1, 1 animal del T0 y 3 animales del T2 presentaron actividad ovárica.

Para la 2.^a semana, 3 animales del T1 y 2 animales del T2 mostraron actividad ovárica. En la 4.^a semana, 4 animales del T0, 4 animales del T1 y 5 animales del T2 presentaron actividad ovárica. En la 6.^a semana, la actividad ovárica fue observada en 6 animales del T0, 5 animales del T1 y 5 animales del T2.

Durante todo el experimento, se registró activi-

dad ovárica en 10 animales del T0, 12 animales del T1 y 13 animales del T2, lo que representa un 56,67% de la población en estudio. El 43,33% restante no presentó actividad ovárica. No se observaron diferencias significativas en la actividad ovárica entre tratamientos ($P > 0,05$), como se muestra en la Tabla 3."

Discusión

Durante el experimento no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la producción láctea ($P > 0,05$) (T0: 24.61, T1: 23.95, T3: 26.47), así como tampoco la interacción de semana tratamiento ($P > 0,05$). Los resultados sobre el uso de glicerol en la dieta de los bovinos son controvertidos, ya que algunos estudios reportan un aumento en la producción láctea, mientras que otros no encontraron un efecto significativo entre la suplementación con glicerol y la producción de leche."

En un estudio realizado por Donkin et al. (10) reemplazaron maíz por glicerol en un 5%, 10% y 15% de MS de las dietas de vacas lecheras en período de transición, no obstante, no produjo efectos significativos en la producción ni la composición láctea. De manera similar, Carvalho et al. (14) reemplazaron de maíz por glicerol en un 11,5% de MS de las dietas de vacas lecheras en período de transición, sin observar efectos en la producción láctea.

Ogborn et al. (15) también reportaron que la suplementación de glicerol no tiene ningún efecto sobre la producción láctea. Wang et al. (13) un experimento de duración similar al presente estudio, suplementando con 300 g de glicerol a vacas multíparas Holstein desde el día 4 hasta el día 63 postparto, sin observar un impacto en la producción láctea. Asimismo, Van Soest et al. (18) suplementación con glicerol seco a vacas lecheras en período de transición, sin encontrar efectos sobre la producción de leche durante este período.

El test de Rothera, utilizado en este estudio para la determinación de cuerpos cetónicos en la orina, tiene una sensibilidad del 78% y una especificidad del 96% para los cuerpos cetónicos Ac y AcAc, pero no para la detección del β -hidroxibutirato (17). Los cuerpos cetónicos en la orina son un buen indicador de déficit energético en animales, lo que conlleva a la movilización de grasa, una de las principales consecuencias del balance energético negativo (BEN) o de la cetosis subclínica (17).

En este estudio, no se encontró correlación en-

tre la suplementación con glicerol y la presencia de cuerpos cetónicos. Se observó que el 60,83% de los animales presentó una reacción negativa, indicando la ausencia de cuerpos cetónicos en la orina. El 20,83% mostró una reacción sospechosa, el 14,17% una reacción leve y el 4,17% una reacción moderada. Las reacciones sospechosa, leve y moderada sugieren la posible presencia de cetosis subclínica (17), lo que implica que el 39,62% de los animales podría haber experimentado cetosis subclínica.

Independientemente del tratamiento, el 60,38% de los animales no presentó cuerpos cetónicos en la orina, lo que sugiere que estos mantuvieron un buen estatus energético. Esto también se refleja en la ausencia de diferencias significativas en la condición corporal ($P > 0,05$) entre los tratamientos. Según Drackley (19) cuando los animales mantienen un buen estatus energético, no movilizan tejido graso, lo que actúa como una medida compensatoria para equilibrar el desbalance energético durante la producción láctea, evitando así la generación de cuerpos cetónicos que podrían afectar la salud del hato.

En el estudio descrito por Chung et al. (20), se utilizó un test llamado Ketostix para determinar cuerpos cetónicos (Ac y AcAc) en orina, además de medir β -hidroxibutirato en sangre, encontrando una disminución de estos en vacas tratadas con glicerol. El glicerol es un producto gluconeogénico, al igual que el propilenglicol. McArt et al. (21) utilizaron 717 animales con cetosis subclínica, asignando 372 al tratamiento con propilenglicol (300 mL) y 369 al grupo control. Encontraron una disminución del riesgo de cetosis subclínica en un 1,5% y de cetosis clínica en un 0,54% en el grupo tratado con propilenglicol en comparación con el control. Hoedemaker et al. (22) suplementaron con 300 mL de propilenglicol desde los 13 días previos al parto hasta los 12 días postparto, observando una disminución en las concentraciones de β -hidroxibutirato en sangre y en la incidencia de cetosis subclínica en el grupo tratado en comparación con el grupo control.

Según McArt et al. (21), la disminución de cuerpos cetónicos por los precursores gluconeogénicos podría deberse a una mejora en el estatus energético, lo que conlleva un aumento en las concentraciones de glucosa, insulina e IGF-1. La insulina inhibe las enzimas lipolíticas, que son responsables de la hidrólisis de triglicéridos y la movilización de ácidos grasos (23). Bioquímicamente, el propionato derivado de la fermentación del glicerol actúa como precursor en el ciclo de Krebs al convertirse en oxaloacetato, el

cual reacciona con el acetyl-CoA producido por la β -oxidación de los NEFA, generando energía y evitando la formación de cuerpos cetónicos (22,24).

Estudios como los de Carvalho et al. (14) y DeFrain et al. (25), reportaron un aumento en las concentraciones séricas de β -hidroxibutirato debido a la mayor proporción molar de butirato en el rumen, consecuencia de la suplementación con glicerol. Dado que el butirato es precursor del β -hidroxibutirato, estos estudios no encontraron diferencias significativas en la condición corporal ($P > 0,05$), lo que sugiere que no hubo movilización de grasa. En el presente estudio no se midió β -hidroxibutirato, como se mencionó anteriormente.

La condición corporal (CC) está relacionada con la producción láctea, ya que cerca del parto los requerimientos nutricionales aumentan para favorecer la lactogénesis, lo que puede dar lugar a importantes deficiencias energéticas en el mantenimiento. Esto, a su vez, puede resultar en la pérdida de CC para satisfacer las necesidades energéticas (26). Un animal puede perder de 0,25 a 0,5 puntos de CC desde el parto hasta el pico de lactancia (28). En contraste, al inicio del experimento, los animales se encontraban en el pico de lactancia, con una CC de 2,68 para el grupo control (T0), 2,63 para el Tratamiento 1 (T1) y 2,72 para el Tratamiento 2 (T2). A la sexta semana, la CC fue de 2,68 para T0, 2,64 para T1 y 2,67 para T2, sin encontrar diferencias significativas ($P > 0,05$).

Lo anterior permite deducir que los animales, independientemente de su tratamiento, presentaban un balance energético adecuado, lo cual también se refleja en la variable de determinación de cuerpos cetónicos, que está muy correlacionada con la CC porque estima la pérdida de tejido graso subcutáneo en ciertos puntos anatómicos (16). Según Oetzel (27), la pérdida de CC se manifiesta a nivel plasmático, donde se observa un aumento en las concentraciones de ácidos grasos no esterificados (NEFA), cuerpos cetónicos y su presencia en orina. Otros estudios mencionados anteriormente, como los de Carvalho et al. (14) y DeFrain et al. (25), no encontraron diferencias significativas en la CC ($P > 0,05$) debido a la suplementación con glicerol. En cuanto a la ganancia de peso, Donkin et al. (10) suplementaron un 5, 10 y 15 % de glicerol en la dieta en materia seca, sin encontrar diferencias en la CC ($P > 0,05$), pero sí encontraron una diferencia significativa ($P < 0,05$) en la ganancia de peso para los tratamientos con 10 y 15 % de glicerol. Osborne et al. (28) utilizaron 20 g/L de

glicerol en el agua durante el período de transición, observando un aumento de peso, aunque no encontraron diferencias significativas en la CC ($P > 0,05$).

No se presentó una diferencia significativa en la actividad ovárica entre los tratamientos ($P > 0,05$), lo cual pudo deberse al largo período de seguimiento de la actividad ovárica, lo que impidió determinar si con el tiempo podrían encontrarse diferencias en las estructuras ováricas para los diferentes tratamientos. En el presente estudio, se concluyó que la suplementación con glicerol no tiene efecto sobre la producción láctea ni sobre la CC, afirmación que también respalda lo encontrado en otros estudios realizados por Donkin et al. (10) y Osborne et al. (28), ni efecto significativo sobre la presencia de cuerpos cetónicos y actividad ovárica.

Conclusiones

Se encontró que la suplementación de glicerol no tiene efecto sobre la producción láctea y CC, ni efecto significativo sobre la presencia de cuerpos cetónicos y actividad ovárica, se sugieren nuevos estudios con niveles de suplementación 500 y 1000 mL de glicerol, con el fin de determinar su efecto en la producción láctea.

Referencias

1. Brito LF, Bédère N, Douhard F, Oliveira HR, Arnal M, Peñagaricano F, et al. Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal*. 2021;15:100292.
2. Galvis RD, Múnera EA, Marín AM. Relación entre el mérito genético para la producción de leche y el desempeño metabólico y reproductivo en la vaca de alta producción. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2005;18(3):228–39.
3. Mekuriaw Y. Negative energy balance and its implication on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows. *Journal of Applied Animal Research*. 2023;51(1):220–8.
4. McGuffey RK. A 100-Year Review: Metabolic modifiers in dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(12):10113–42.
5. Bekuma A, Galmessa U. Combating negative effect of negative energy balance in dairy cows: Comprehensive review. *Approch Poult Dairy Vet Sci*. 2019;6:1–4.

6. Butler ST. Nutritional management to optimize fertility of dairy cows in pasture-based systems. *Animal*. 2014;8(s1):15–26.
7. Ceballos Ramírez E, Cruz Calderón WM. Producción y comercialización de aceite de semillas de higuera (*Ricinus communis* L.) para uso en la elaboración de biocombustibles. 2023;
8. El-Nor SA, AbuGhazaleh AA, Potu RB, Hastings D, Khattab MSA. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Animal Feed Science and Technology*. 2010;162(3–4):99–105.
9. Kupczyński R, Szumny A, Wujcikowska K, Pachura N. Metabolism, ketosis treatment and milk production after using glycerol in dairy cows: A review. *Animals*. 2020;10(8):1379.
10. Donkin SS. Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Revista brasileira de zootecnia*. 2008;37:280–6.
11. Omazic AW, Tråven M, Bertilsson J, Holtenius K. High-and low-purity glycerine supplementation to dairy cows in early lactation: effects on silage intake, milk production and metabolism. *Animal*. 2013;7(9):1479–85.
12. Ezequiel JMB, Sancanari JBD, Neto ORM, Da Silva ZF, Almeida MTC, Silva DA V, et al. Effects of high concentrations of dietary crude glycerin on dairy cow productivity and milk quality. *Journal of Dairy Science*. 2015;98(11):8009–17.
13. Wang C, Liu Q, Yang WZ, Huo WJ, Dong KH, Huang YX, et al. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2009;151(1–2):12–20.
14. Carvalho ER, Schmelz-Roberts NS, White HM, Doane PH, Donkin SS. Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. *Journal of dairy science*. 2011;94(2):908–16.
15. Ogborn K. Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period. 2006;
16. Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of dairy science*. 1994;77(9):2695–703.
17. Carrier J, Stewart S, Godden S, Fetrow J, Rapnicki P. Evaluation and use of three cow-side tests for detection of subclinical ketosis in early postpartum cows. *Journal of dairy science*. 2004;87(11):3725–35.
18. Van Soest BJ, Pereira MN, Duffield TF, Steele MA, DeVries TJ. Effect of pre-and postpartum supplementation of a pure glycerol product to dairy cows on feed intake, metabolic markers, and milk yield and components. *Journal of Dairy Science*. 2023;106(10):6798–815.
19. Drackley JK. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? *Journal of dairy science*. 1999;82(11):2259–73.
20. Chung Y-H, Rico DE, Martinez CM, Cassidy TW, Noirov V, Ames A, et al. Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *Journal of dairy science*. 2007;90(12):5682–91.
21. McArt JAA, Nydam D V, Ospina PA, Oetzel GR. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*. 2011;94(12):6011–20.
22. Hoedemaker M, Prange D, Zerbe H, Frank J, Daxenberger A, Meyer HHD. Periparturient propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility, and production in dairy cows. *Journal of dairy science*. 2004;87(7):2136–45.
23. Pickett MM, Piepenbrink MS, Overton TR. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*. 2003;86(6):2113–21.
24. Nielsen NI, Ingvarsen KL. Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis. *Animal Feed Science and Technology*. 2004;115(3–4):191–213.
25. DeFrain JM, Hippen AR, Kalscheur KF, Jardon PW. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *Journal of dairy science*. 2004;87(12):4195–206.

26. Bell AW, Slepatis R, Ehrhardt UA. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. *Journal of dairy science*. 1995;78(9):1954–61.
27. Oetzel GR. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 2004;20(3):651–74.
28. Osborne VR, Odongo NE, Cant JP, Swanson KC, McBride BW. Effects of supplementing glycerol and soybean oil in drinking water on feed and water intake, energy balance, and production performance of periparturient dairy cows. *Journal of dairy science*. 2009;92(2):698–707.

Las gallinas de traspatio como estrategia sostenible para la reconversión a la actividad del Carboneo en el Municipio del Encano, Departamento Nariño, Colombia

Backyard chickens as a sustainable strategy for the conversion from charcoal production in the Municipality of Encano, Nariño Department, Colombia

Recibido: 15 de octubre de 2024 • **Aprobado:** 18 de octubre de 2024

Jhony Sigifredo Cuaspué Huerta

Estudiante Maestría Universidad Popular del Cesar. Valledupar, Colombia.

E-mail: burgosmoreano1971@gmail.com **ORCID:** <https://orcid.org/0009-0001-5522-5923>

Herman Revelo

Profesor Universidad Popular del Cesar. Valledupar, Colombia.

E-mail: hareveloc@unal.edu.co **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3193-3255>

Resumen

La actividad económica del carboneo se presenta como una de las principales fuentes de contaminación ambiental y afectaciones a la salud pública. Por lo tanto, esta tesis tiene como promover la cría de gallinas de traspatio como una estrategia sostenible para la reconversión de la actividad del carboneo, incentivando el crecimiento económico y social, y a su vez promoviendo la conservación del humedal de La Cocha en el Corregimiento del Encano. La investigación se desarrolla aplicando una metodología mixta, combinando enfoques cuantitativos y cualitativos para lograr una comprensión más profunda de la información recolectada. La investigación se divide en tres fases: inicialmente, se lleva a cabo un diagnóstico socioeconómico para comprender la situación actual de los carboneros; en la segunda fase, se diseñan estrategias pedagógicas como medio de sensibilización e información sobre la cría de gallinas de traspatio como una alternativa económica; y, finalmente, se implementan estas estrategias. La cría de gallinas de traspatio se presenta como una alternativa económica viable; sin embargo, un grupo importante de carboneros se resiste a reconvertir su actividad económica actual.

Palabras clave: Carboneo, carboneros, gallinas, traspatio, reconversión.

Abstract

The excessive use of plastics at the Institución Educativa Técnica Agroambiental Bilingüe Awá (IETABA), in Barbacoas, Nariño, it has affected negatively the environment by soils and water sources contamination impacting the biodiversity and health of the inhabitants of the Gran Sábalo. Therefore, the objective of this research is to promote the bijao leaf as a pedagogical strategy to reduce the use of plastics in the institution, since it has been observed that it is necessary to preserve both the environment and the health of the educational community, furthermore, this initiative aims to strengthen the culture through the revaluation of ancestral knowledge. In that sense, it has been of vital importance to seek alternatives such as the bijao leaf, a plant known and used by the Awá community; it isn't only biodegradable, but also serves to replace plastic in various applications, such as food packaging. The methodology used is qualitative, based on interviews, participatory observa-

tion and an action-research and descriptive approach that actively involves students, educational staff, and community leaders in the implementation of sustainable strategies. The results determined that the educational programs implemented in this research have fostered greater environmental awareness among students and the creation of an interactive blog has been key to promote the active participation of the community in the adoption of sustainable practices, highlighting the ancestral knowledge about the bijao leaf as a biodegradable alternative to plastic.

Keywords: Charcoal production, charcoal producers, chickens, backyard, conversion.

Introducción

El traspatio ha sido un pilar esencial en la vida de las comunidades indígenas y campesinos, quienes a lo largo de la historia han demostrado una notable capacidad para adaptarse y prosperar en condiciones adversas^{1,2}. Estas comunidades han desarrollado estrategias de producción que les permiten enfrentar desafíos económicos, sociales, ambientales y culturales, utilizando la mano de obra familiar y la colaboración equitativa entre sus miembros, garantizando así un acceso constante a los alimentos^{2,3}. Este sistema de producción, conocido como traspatio, se ha transformado en un agroecosistema que no solo mejora la seguridad alimentaria, sino que también contribuye a la reducción de la pobreza y ofrece diversos servicios sociales y ecosistémicos⁴.

En Colombia, la agricultura familiar desempeña un papel crucial en la reducción del hambre y la pobreza en zonas rurales y periurbanas, siendo el traspatio un componente fundamental de estos sistemas sostenibles y respetuosos con el medio ambiente⁵. Las características de los traspatios varían según la región, influenciadas por factores ambientales, sociales, culturales y religiosos, lo que resalta la importancia de comprender su dinámica para garantizar la seguridad alimentaria a nivel global^{2,3,5}. El traspatio no es solo un espacio de producción, sino también un símbolo de identidad cultural y cohesión familiar en las comunidades indígenas y campesinas. A través de técnicas ancestrales y un enfoque sostenible; áreas que contribuyen a la preservación de la diversidad genética, la herencia cultural y la sabiduría ancestral⁶.

Además, el traspatio juega un papel crucial en el cuidado del medio ambiente, promoviendo la biodiversidad, la sostenibilidad y la reducción de la huella de carbono. Por consiguiente, el traspatio es también un escenario pedagógico que permite a las comunidades indígenas reafirmar su identidad y autonomía a través de la educa-

ción autóctona. Este enfoque educativo no solo preserva las tradiciones y costumbres locales, sino que también promueve la convivencia armoniosa con el entorno y el desarrollo sostenible^{1,7}. De esta manera, esta investigación se presenta como una oportunidad para exponerle a la comunidad carbonera del corregimiento de El Encano, una nueva alternativa económica como medida de reconversión económica para su entorno.

Entendido así, el estudio comprende la aplicación de tres fases:

Inicialmente, se caracterizaron las familias beneficiadas por el carboneo en El Encano. Se realizó un diagnóstico demográfico y socioeconómico para conocer la cantidad de familias, personas, ingresos, escolaridad y edad de los/jefes de hogar. También se analizaron los impactos medioambientales mediante revisiones bibliográficas y entrevistas. Finalmente, se encuestó a los productores sobre los impactos del carboneo y la posible reconversión a la cría de gallinas de traspatio.

Posteriormente, con la información recolectada, se diseñaron estrategias para informar a los carboneros y darles a conocer la viabilidad de la cría de gallinas de traspatio como alternativa sostenible.

Métodos

El presente trabajo se desarrolla bajo una metodología investigativa de alcance cuantitativo, donde se identifican diferentes aspectos sociales, económicos, culturales y ambientales que hacen presencia en el entorno de la población estudiada. Por lo tanto, identificar detalladamente las implicaciones de cada uno de los elementos mencionados anteriormente, establece la base para reconocer, analizar y contextualizar las diversas repercusiones que presenta el

carboneo en el corregimiento del Encanto. De igual forma, esta información permite diseñar estrategias adecuadas a la población mediante la implementación de gallinas de traspatio como alternativa sostenible.

Para identificar cada uno de los aspectos que derivan del carboneo en el corregimiento de El Encano, se establece de forma inicial la caracterización de las familias que se benefician de esta actividad; por ello, se aborda un diagnóstico demográfico; por medio del cual, se identifica el número de familias, la totalidad de personas que conforman esas familias y las personas que trabajan directamente en el carboneo; a los cuales, de aquí en adelante se les reconocerá como “productores”. Respectivamente, se efectuó un análisis enfocado en los impactos medioambientales que se derivan del carboneo en la zona. Este análisis se llevó a cabo por medio de la aplicación de diversas técnicas de recolección de información; inicialmente la revisión bibliográfica de estudios, investigación y entrevistas realizadas en el área de estudio.

Con la información recolectada en la primera etapa del proyecto se dio inicio al diseño de la estrategia pedagógica mediante la crianza de gallina de traspatio como alternativa sostenible para la reconversión de la actividad del carboneo. Se aplicó diversas estrategias pedagógicas enfocadas en la educación ambiental, las que permitieron dar a conocer las afectaciones ambientales que se derivan del carboneo, y desde las cuales, los productores identificaron los impactos. Seguidamente, se realizó la estrategia

de reconversión por medio de las gallinas de traspatio.

Muestra. En la presente investigación se planteó lo siguiente:

La muestra para la presente investigación corresponde a una porción representativa de los productores, para obtener el número significativo para la muestra se procede a desarrollar la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(N \cdot Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q)}{(e^2 \cdot (N-1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q)}$$

Donde:

n corresponde al tamaño de la muestra que se está buscando

N corresponde al tamaño de la población encontrada

Z corresponde al nivel de confianza estimado, el cual para el presente será del 95% y cuyo valor es 1,96

e corresponde al estimado máximo aceptado el cual será del 5%

p corresponde a la probabilidad de que ocurra un cambio el cual será del 50%

q corresponde a la probabilidad de que no ocurra un cambio el cual será de 50%

Por lo tanto, se tiene que la muestra es la siguiente:

$$n = \frac{(226 \cdot 1,96^2 \cdot 0,5 \cdot 0,5)}{((0,05)^2 \cdot (226-1) + 1,96^2 \cdot 0,5 \cdot 0,5)} = 105,21 = 105 \text{ personas}$$

Tabla 1. Operacionalización de variables.

Variable	Categoría	Descripción
Traspatio	Ambiental	Esta categoría se refiere al impacto ambiental que tiene la actividad de criar gallinas de traspatio. Puede incluir el manejo de residuos, el uso de recursos naturales y el impacto en la biodiversidad local.
	Social	Se refiere al impacto social de criar gallinas de traspatio, como su contribución a la seguridad alimentaria, la generación de empleo local y la participación comunitaria en el cuidado de las aves.
	Económico	Esta categoría considera los aspectos económicos asociados con la cría de gallinas de traspatio, como los costos y beneficios económicos para los criadores locales, el potencial de ingresos adicionales y el desarrollo de mercados locales.

	Cultural	Se refiere a cómo la cría de gallinas de traspatio puede influir en las prácticas culturales y tradicionales de la comunidad, así como en la transmisión de conocimientos y habilidades entre generaciones.
Carboneo	Ambiental	Esta categoría aborda el impacto ambiental del carboneo, como la deforestación, la degradación del suelo, la contaminación atmosférica y la pérdida de hábitat para la fauna.
	Social	Se refiere al impacto social del carboneo en la comunidad, como la salud y seguridad de los trabajadores, la relación con la tierra y el territorio, y las interacciones sociales dentro de la comunidad.
	Económico	Considera los aspectos económicos asociados con el carboneo, como los ingresos generados por la venta de carbón, los costos de producción y los impactos en otros sectores económicos locales.
	Cultural	Se refiere a cómo el carboneo puede influir en las prácticas culturales y tradicionales de la comunidad, así como en la percepción y valoración del medio ambiente y los recursos naturales.

Resultados y Discusión

El rango de edad a los encuestados se pudo determinar que el 3% de estos contaban con menos de 20 años, el 67% se encuentra entre los 21 a los 40 años y el 30% restante se cuenta desde los 41 o más años. Lo que indica que los jóvenes menores de 20 años no se encuentran totalmente interesados en dedicarse a esta actividad; sin embargo, ya sea por falta de oportunidades laborales, académicas o por hábitos familiares, recurren a la misma desde de los 20 años, dejando en evidencia que la población en su gran mayoría va dejando la actividad del carboneo paulatinamente después de cumplir los 40 años de edad.

Con respecto al nivel educativo que poseen, solo el 13% de los encuestados, culminaron totalmente sus estudios básicos. Mientras que el 83% tienen primaria incompleta. Al indagar sobre el número de personas que se encuentran a cargo de cada uno de los miembros cabeza de familia, se pudo identificar que cada uno de ellos tiene como mínimo 1 persona a su cargo, por lo cual, se determinó que el 9% tienen a su cuidado entre 1 y 2 personas, y el 91% restante tiene bajo su responsabilidad 3 personas o más, Estos resultados son similares a los reportados por ², en comunidades indígenas. Por otra parte, se consulta a los carboneros cuánto tiempo llevan laborando en esta actividad económica,

tras lo cual se obtiene que un 37% señalan estar trabajando en el carboneo más de 1 año y menos; por otra parte, la gran mayoría de los encuestados llevan trabajando más de 7 años en este sector, correspondiente al 61% de los carboneros. Esto indica que esta actividad económica les da a las personas una estabilidad laboral a largo plazo.

Al consultar los ingresos obtenidos por los miembros cabeza de familia, se identifica que ninguno gana menos de un salario mínimo y que recibe más de cinco salarios mínimos legales vigentes. De esta forma, los encuestados manifiestan que un 32% generan entre 1 y 2 salarios mínimos mensuales, el 68% restante señala tener ingresos entre 3 y 4 salarios mínimos mensuales derivados de la producción de carbón.

La producción del carbón vegetal, se puede llevar a cabo por medio de métodos tradicionales que consisten en producir el carbón en hornos de tierra y hornos de cilindro; de igual forma, se da como opción de respuesta la utilización de métodos modernos, entre los que se encuentran los hornos de carbonización en lotes o los hornos de gasificación, entre otros. De ahí, se establece que, los carboneros en un 76% utilizan métodos tradicionales para la producción del carbón, un 14% producen el carbón mediante métodos modernos y un 10% dividen la pro-

ducción aplicando la combinación de ambos métodos.

Por otro lado, al consultar la principal fuente de madera que se utiliza para la producción de carbón, los carboneros señalan que la principal fuente de materia prima es la obtenida de las plantaciones forestales y en medidas similares son utilizadas la madera producida por los bosques naturales y los residuos vegetales. El tipo de carbón que producen los carboneros se especifica en dos tipos, el carbón vegetal y el carbón activado. Se identifica que los carboneros se dedican a producir una mayor cantidad de carbón vegetal, produciéndolo un 78% de los encuestados, cabe resaltar que este tipo de producto es utilizado como combustible. Por otra parte, el 22% de los encuestados restantes señalan producir carbón activado, este tipo de producto es utilizado para purificar y es absorbente debido a su alta porosidad. Con lo que respecta a la venta de la producción del carboneo, se obtiene que 48 de los encuestados venden toda su producción en el mercado local; es decir que, el carbón es vendido en el corregimiento y las veredas aledañas.

Por otro lado, 33 de los carboneros indican que su producto es vendido en el mercado regional, carbón que es distribuido en el departamento, y, por último, 24 de los encuestados expresan que su producción es distribuida en el territorio nacional; de igual forma, se evidencia que ninguno de estos productores realiza exportaciones. La distribución del producto se realiza en 4 sectores principales. Un 23% de los carboneros distribuye su producto directamente al consumidor, el 49% es comprado por intermediarios, el 21% es distribuido a diversas empresas y un 7% es comprado por las cooperativas. De esta forma, se identifica que la mayor cantidad del producto es comprado por intermediarios, lo que se puede reflejar que el producto sea comprado a menor costo y distribuido en el mercado con un incremento mayor al consumidor.

Al indagar si los carboneros tenían conocimiento en que era empleado el carbón distribuido, se tuvo como respuesta que 20 de ellos manifestaron que era utilizado para fines domésticos, es decir, para cocinar alimentos, en su mayoría; 15 de los carboneros señalaron que era utilizado para fines industriales, 40 de los encuestados indicaron que el carbón vendido era utilizado para fines comerciales, ya sea para venta al detal o al por mayor y 30 de los productores expresaron que no sabían en que era empleado el carbón. Por otra parte, según lo expresado por los carboneros, se pudo identificar que cada

uno de ellos practica algún tipo de ejercicio de reforestación con excepción de participar en jornadas de reforestación. De esta forma, 45% de los encuestados dan mención que plantan árboles en las áreas afectadas, siendo esta el trabajo mayormente realizado, el 30% de los carboneros indican que han sembrado algún tipo de semilla endémica de la región y por último el 25% restante declaran haber participado en jornadas de limpiezas y en el cuidado de árboles plantados. Además, al momento de consultarle sobre el impacto que genera la actividad económica en el medio ambiente, se logró identificar que la gran mayoría de los carboneros son conscientes del impacto negativo que se deriva de esta labor. Así, el 65% de los encuestados señalaron que la afectación es muy alta o alta; evidenciándose así, que las personas son conscientes de los daños generados por la producción de carbón. Así mismo, el 35% restante son conscientes del daño generado, pero para su criterio, es en menor medida.

A continuación, se le consultó a los carboneros si estarían dispuestos a cambiar de actividad económica; tales como, la crianza de ganado, gallinas de traspatio, peces o cultivos agrícolas. Se identificó que, 70 de los 105 carboneros se sienten inclinados como opción de reemplazo hacia alguna de estas actividades económicas y los 35 encuestados restantes no se encuentran interesados en cambiar el carboneo. Por último, se indagó sobre las repercusiones que tendría si las entidades gubernamentales prohíben el carboneo como actividad económica. Interrogante que derivó en que la mayoría de los encuestados expresaron que al prohibirse esta actividad perderían su principal fuente de ingresos. Por otra parte, 35 de los carboneros respondieron que se dedicarían a otro sector de la economía y por último 20 de los encuestados destacaron que esta decisión podría afectar negativamente a la comunidad en general.

Conocimientos que Poseen los Carboneros en Temáticas Relacionadas con el Traspatio y el Carboneo

La actividad económica del carboneo conlleva a una serie de impactos ambientales significativos, según la percepción de los encuestados. Se destaca que la mayor afectación que perciben los carboneros es el daño en la calidad del aire, mencionado por 49 de ellos. Derivado de este factor, se puede encontrar el aumento de emisiones de diversos gases, como lo son el dióxido de carbono, el monóxido de carbono y el aumento de material particulado, entre otros. 21 de los encuestados resaltaron el aumento signi-

ficativo del cambio climático derivado del carboneo, donde se destacó que la producción de carbón vegetal puede contribuir al aumento de los gases de efecto invernadero, intensificando los efectos del cambio climático. Por otro lado, 27 de los carboneros mencionaron que la afectación más relevante que se presenta por la producción de carbón vegetal es el aumento de la deforestación de las zonas boscosas y la pérdida de especies nativas de la región; lo que indica, que por medio de esta actividad se está contribuyendo a la pérdida de la cobertura vegetal, así como, de la biodiversidad que se encuentra en la región. Finalmente, la afectación a la composición del suelo también fue señalada por 8 de los encuestados. Condensando la información anterior, se encontró que el carboneo puede implicar la remoción de capas de suelo fértil y la exposición de suelos vulnerables a la erosión y degradación, estado que compromete la calidad del suelo y su capacidad para sostener la vida vegetal y animal. Por otro lado, la mayoría de los carboneros identifica al cuy como una especie nativa de la región, por lo cual, el 76% de los encuestados identifican esta especie fácilmente.

Por otro lado, al indagar a los carboneros sobre el beneficio ambiental más relevante para el páramo al reemplazar el carboneo por otra actividad productiva, se encontró que el 53% de los encuestados indicaron que el mejoramiento en la producción de agua es la de mayor relevancia, lo que indica que detener el carboneo podría tener un impacto directo en la capacidad del páramo para proveer agua de alta calidad y en cantidad suficiente. De igual forma, el 35% de las respuestas señalaron la conservación de la biodiversidad del páramo como la más relevante, lo que da entender que un sector de los carboneros reconoce el daño que puede generar el carboneo en este aspecto; por lo cual, se reconoce la importancia de la preservación de la biodiversidad que caracteriza a los páramos. Es clave resaltar que, el 12% mencionó como un beneficio plausible, la óptima calidad del aire y el crecimiento ecoturístico. Y, finalmente, expresar que la opción acerca del fortalecimiento del ecosistema no obtuvo ninguna respuesta, lo que podría indicar que los encuestados no ven claramente como el reemplazo del carboneo podría fortalecer el ecosistema del páramo de manera específica o que no consideran este aspecto como un beneficio directo identificable.

Al consultarle a los participantes sobre la definición que consideran adecuada para el traspatio, su respuesta en forma unánime se inclinó a que el traspatio es un agroecosistema y área

de producción familiar o comercial (Rosero et al 2023⁹), por lo cual se evidencia que los carboneros identifican esta actividad como una oportunidad de producir alimento tanto para su sustento personal como para la venta al público, contribuyendo así a la seguridad alimentaria de la población local. Con respecto al cuestionamiento sobre cuál es el beneficio más relevante del traspatio para el medioambiente, se obtuvo que la respuesta con una mayor selección fue la alta tasa de producción de animales para su consumo y comercialización, con un total de 32 respuestas. Lo que refleja una percepción por parte de los carboneros de que la producción animal puede destinarse a su comercialización en el ámbito local. Por otro lado, la utilización de desechos para crear abono orgánico solamente recibió 2 respuestas, lo que indica que, aunque existe conocimiento sobre esta práctica, no se percibe ampliamente como un beneficio ambiental destacado del traspatio para la comunidad.

La conservación de especies vegetales afectadas por otras actividades económicas fue valorada por 31 de los encuestados, lo que deja claro un punto significativo sobre el papel del traspatio en la preservación de la biodiversidad local al actuar como refugio para especies vegetales amenazadas por el desarrollo urbano y agrícola. A la pregunta de que si el traspatio contribuye a la autosuficiencia alimentaria de la población local y regional fue resaltada por 23 de los carboneros; percepción que se debe considerar crucial para la resiliencia ambiental y económica de la región. En contraste, a la pregunta de que, si reduce gastos económicos, 11 carboneros lo valoraron así y si reduce la sobreexplotación de los suelos 6 respondieron afirmativamente. Resultados que indican que, aunque algunos participantes reconocen beneficios económicos y ambientales adicionales del traspatio, estos no fueron tan ampliamente destacados como los beneficios relacionados con la producción animal y la conservación de la biodiversidad vegetal; lo que nos conduce, a que los carboneros perciben diferentes aspectos del traspatio en términos de sus beneficios ambientales potenciales.

Propuesta Educativa

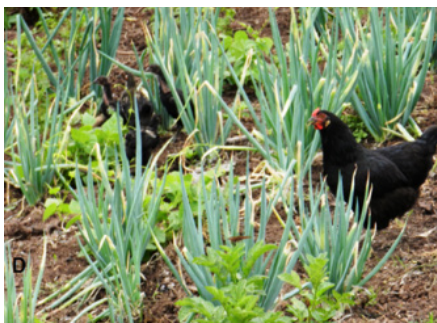
La presentación de la propuesta pedagógica a la comunidad de carboneros del corregimiento se llevó a cabo exitosamente, involucrando a diversos actores clave y cumpliendo con los objetivos planteados en el plazo estipulado se orientan a partir de las metodologías descritas por ^{8,9}. La iniciativa comenzó con la identifica-

ción y convocatoria de los participantes, incluyendo a los autores del proyecto, los carboneros del corregimiento y el personal de la alcaldía municipal. Esta convocatoria fue fundamental para asegurar la colaboración y el compromiso de todos los actores involucrados, garantizando una implementación efectiva de las estrategias educativas.

Durante la primera reunión, se realizó una introducción detallada de la propuesta pedagógica, explicando su importancia y los beneficios esperados, presentándose un plan pedagógico que destacaba la importancia del traspatio para la población de carboneros del corregimiento. Se enfatizó la necesidad de reconocer la problemática actual generada por el carboneo, así como las alternativas sostenibles disponibles y su viabilidad. Esta sesión inicial fue fundamental para establecer un entendimiento común y generar interés y compromiso entre los participantes.

Uno de los aspectos más destacados del proyecto fue la introducción de las gallinas de traspatio como una estrategia sostenible (Figura 1). Se organizaron demostraciones prácticas sobre el manejo adecuado de las gallinas, destacando los beneficios de esta práctica en términos de seguridad alimentaria y generación de ingresos adicionales. Los carboneros mostraron un gran interés en esta alternativa, participando activamente en las discusiones y haciendo preguntas sobre cómo implementar estas prácticas en sus propios hogares.

Figura 1. La gallina criolla y la seguridad alimentaria.



Los participantes compartieron sus experiencias y reflexiones, los resultados esperados del proyecto se cumplieron de manera satisfactoria. Hubo una notable sensibilización sobre los impactos generados por el carboneo, y los productores reflexionaron profundamente sobre la importancia de las gallinas de traspatio como una estrategia sostenible. Además, se observó una disposición positiva hacia la adopción de prácticas más sostenibles, lo que sugiere que los carboneros están motivados para implementar cambios que beneficien tanto a sus familias como al medio ambiente. La colaboración entre la comunidad y la alcaldía municipal también se fortaleció, creando una base sólida para futuros proyectos y mejoras en el corregimiento. Posteriormente, se llevaron a cabo visitas de campo para identificar y catalogar la biodiversidad de los traspatios en el corregimiento y se recorrieron los diferentes traspatios de la comunidad. Se registraron diversas especies de plantas, aves, y otros animales que conformaban la biodiversidad local (figura 2). Resultados similares fueron reportados por^{1,2}. Este reconocimiento no solo permitió una identificación precisa de las especies presentes, sino también una valoración de las condiciones en las que se encontraban estos traspatios y su potencial como fuentes de ingresos.

Figura 2. Biodiversidad animal y vegetal de los traspatios en el corregimiento El Encano Departamento de Nariño.



Mediante la identificación del traspatio en el corregimiento el Encano, se pudieron encontrar cosechas pequeñas o medianas de zanahoria, pepino, cilantro, pimentón y zapallo; así como, la presencia de algunas especies pecuarias, como lo son vacunos, cerdos y gallinas (figura 3). En comunidades indígenas AWA, se reportaron traspacios con las mismas características¹⁰. Por lo tanto, se destaca principalmente que la comunidad mantiene una serie de costumbres campesinas en la producción y conservación de diversos alimentos que facilitan su vida económica sea por medio de la auto sustentación de estos productos o la comercialización interna de los carboneros, que recopilan sus conocimientos, prácticas y percepciones sobre el manejo del traspatio.

Figura 3. Producción Animal y Vegetal de los traspacios en el corregimiento El Encano Departamento de Nariño.



En relación con la importancia y beneficios de la cría de gallinas de traspatio en el corregimiento se desarrollaron de manera exitosa, involucrando a todos los actores clave y cumpliendo con los objetivos planteados. Esta estrategia se centró en informar y educar a los carboneros y la comunidad en general sobre la relevancia del traspatio para la sostenibilidad, su papel en la lucha contra el cambio climático y las afectaciones al medio ambiente producidas por otros sectores económicos.

Se profundizó en los aspectos prácticos de la cría de gallinas de traspatio. Se llevaron a cabo demostraciones sobre el manejo adecuado de las gallinas, la construcción de gallineros eficientes y sostenibles, y la alimentación balanceada para asegurar la salud y productividad de las aves. Además, se discutieron temas relacionados con la comercialización de productos derivados, proporcionando a los carboneros una visión completa de cómo pueden diversificar sus ingresos y mejorar su calidad de vida a través de esta actividad.

Conclusión

La caracterización de los carboneros en el corregimiento del Encano demostró una prevalencia en los trabajadores adultos, con un nivel educativo generalmente bajo y una labor productiva prolongada en la actividad del carboneo. La mayoría de los productores se encuentran en el rango de edad de 21 a 40 años; lo que indica que, a pesar de una escasa inclinación para los jóvenes menores de 20 años, el carboneo sigue siendo una actividad importante para quienes buscan una estabilidad laboral.

La percepción de los productores sobre los impactos ambientales del carboneo revela una creciente conciencia sobre los efectos negativos de esta actividad, a pesar de una limitada capacitación reciente en prácticas sostenibles. Los carboneros reconocen el daño significativo que el carboneo causa al medio ambiente, como la contaminación del aire, el cambio climático y la deforestación, lo que indica un nivel de conciencia sobre las repercusiones ambientales de su actividad. No obstante, la falta de capacitaciones recientes resalta una brecha en el conocimiento actualizado sobre métodos más sostenibles y en la implementación de prácticas que podrían mitigar estos impactos. Este escenario subraya la necesidad urgente de introducir programas de formación y asistencia técnica para los productores, con el fin de mejorar sus prácticas y fomentar la adopción de alternativas económicas más sostenibles, como la crianza de gallinas de traspatio u otros cultivos que puedan ofrecer beneficios ambientales y económicos sin los efectos adversos asociados al carboneo.

Las estrategias propuestas para la implementación de la cría de gallinas de traspatio en el corregimiento del Encano ofrecen un enfoque integral y sostenible para la reconversión económica y la conservación ambiental. La capacitación inicial en técnicas sostenibles, seguida por la implementación de un plan piloto y la crea-

ción de redes de cooperación, proporciona un marco sólido para el desarrollo de una actividad económica alternativa continua. La promoción de prácticas agroecológicas refuerza el compromiso con la sostenibilidad, mejorando tanto la calidad de los productos avícolas como la salud ambiental.

La implementación de un programa integral para la cría de gallinas de traspatio en El Encano se destaca por su enfoque en la capacitación, la experimentación práctica y la colaboración. La capacitación inicial brinda los conocimientos necesarios para una transición efectiva, mientras que el plan piloto proporciona una prueba tangible de la viabilidad de esta actividad como alternativa económica.

Referencias

1. Rosero, M., Del Carmen Ruano, L., & Revelo, H. A. (2023). Caracterización del Traspatio de la Comunidad Indígena Sindagua Municipio de Barbacoas Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(4), 7612-7631. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i4.7493.
2. Revelo, H., Valenzuela, M., & Álvarez, L. (2019). El entorno social, cultural y pro-ductivo de la gallina criolla del pacífico colombiano en comunidades afro, indígenas y campesinas. *Actas Iberoam Conserv Anim*, 14, 107-116.
3. Kirkpatrick, J. B., & Davison, A. (2018). Home-grown: Gardens, practices and motivations in urban domestic vegetable production. *Landscape and Urban Planning*, 170, 24-33.
4. Viveros-Hernández, J. H. (2017). Estrategias solidarias en manejo de gallinas de traspatio y sus aportaciones a la dieta familiar.
5. Salcedo, S., & Guzmán, L. (2014). Agricultura Familiar en América Latina y el Caribe: Recomendaciones de Política. *Food and Agriculture Organization*.
6. García-Navarro, M., Ramírez-Valverde, B., Césin-Vargas, A., & Juárez-Sánchez, P. (2022). Ganadería familiar de traspatio en una comunidad indígena totonaca. *Abanico veterinario*, 12.
7. Zuluaga, I., & Alejandro, L. (2020). Educación propia como rescate de la autonomía y la identidad cultural. *Praxis*, 16(2), 179-186.
8. Revelo, H. A., Canticus-López, A., & Canticus-Pascal. Estrategia Pedagógica para el Manejo Sostenible de Fibras Vegetales como Recursos Artesanales en el Resguardo Nunalbi Alto Ulbi, en el Departamento de Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*.2023: Vol 7, pag, 3109 a 3128. ISSN 2707-2215.
9. Arciniegas, G. R., Argote-Hernández, L. M., Ordoñez Gomez, L. A., & A Revelo, H. (2024). Impacto de la Especie Nativa Pandala (*Prunus Huantensis*) en el Ecosistema del Área de Influencia del Parque Natural Regional Páramo Paja Blanca Pupiales Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*.2024. Vol 8, pag, 4811 a 4826. ISSN 2707-2215.
10. Revelo, H. A., Narváez-Tucanes, C. J., & Guanga Ortiz, Y. A. (2023). Estrategias Pedagógicas Enfocadas en la Agricultura Sostenible para Fortalecer la Valoración y Conocimiento de la Colocasia Esculenta en la Comunidad Indígena del Resguardo Gran Sabalo, Departamento de Nariño. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 4150-4169. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.8020

Efecto de polipéptidos linforeticulares, en los valores hemáticos e inmunoglobulina G en un grupo de equinos de paso colombiano en Tabio, Cundinamarca

Effect of lymphoreticular polypeptides on blood values and immunoglobulin G in a group of Colombian Paso horses in Tabio, Cundinamarca

Recibido: 16 de octubre de 2024 • **Aprobado:** 21 de octubre de 2024

Diana Patricia Pacheco González

Merakipet, Bogotá, Colombia.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-3347-8874>

Adriana Paola Bermúdez Rodríguez

Alcaldía de Facatativá, Cundinamarca.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8779-1819>

Cesar Augusto Díaz Rojas

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6318-5503>

Víctor Manuel Acero Plazas

Asociación Nacional de Médicos Veterinarios de Colombia (AMEVEC), Comité de Medicina Tropical, Zoonosis y Medicina del Viajero de la Asociación Colombiana de Infectología (ACIN), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Fundación Universitaria San Martín, Bogotá, Colombia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3202-7086>

Resumen

Los Polipéptidos linforeticulares de origen hepático y esplénico porcino son una alternativa como inmunoestimulantes y coadyuvantes en diferentes procesos biológicos y patologías. Este suplemento de apoyo metabólico se asocia al concepto de que la célula es una fábrica de proteínas y necesita por consiguiente de un soporte metabólico. El objetivo general de este trabajo fue determinar el efecto de los polipéptidos linforeticulares sobre los valores hemáticos y de inmunoglobulina G en un grupo de equinos de paso criollo Colombiano en Tabio, Cundinamarca. Se seleccionaron 20 equinos sanos de un criadero, separados en un grupo control y un grupo experimental a los cuales se les suministró vía oral polipéptidos linforeticulares "Uprone®" a una dosis de 200 mg/equino/día. A cada animal se le analizaron los posibles cambios en los cuadros hemáticos y pruebas de inmunoglobulina G, en toma de muestras a los días 0, 15 y 30. Al aplicar las prueba estadística de diseño factorial A x B y Tukey para determinar si hubo diferencias entre las variables (hematíes, hematocrito, linfocitos, neutrófilos, plaquetas, globulinas, inmunoglobulina G) con respecto al tratamiento de cada grupo experimental, se determinó que en ninguno de los grupos hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto al efecto del suministro de Uprone®. Sin embargo, encontramos diferencias significativas en cuanto al tratamiento y al periodo. El uso de polipéptidos linforeticulares no mostró efectos secundarios en ninguno de los animales tratados. El tratamiento con polipéptidos linforeticulares mostró incrementos en los valores de globulina contribuyendo con el sistema inmune de los equinos tratados.

Palabras clave: Péptidos esplénicos porcinos, inmunomodulador, péptidos bioactivos.

Abstract

Lymphoreticular polypeptides of porcine hepatic and splenic origin are an alternative as immunostimulants and adjuvants in various biological processes and pathologies. This metabolic support supplement is associated with the concept that the cell is a protein factory and therefore requires metabolic support. The general objective of this study was to determine the effect of lymphoreticular polypeptides on blood values and immunoglobulin G levels in a group of Colombian Paso horses in Tabio, Cundinamarca. Twenty healthy horses from a breeding farm were selected, divided into a control group and an experimental group. The experimental group was given lymphoreticular polypeptides "Uprone®" orally at a dose of 200 mg/horse/day. Blood panels and immunoglobulin G tests were conducted on each animal, with samples taken on days 0, 15, and 30 to analyze potential changes. Using a factorial A x B design and Tukey test to determine if there were differences between variables (erythrocytes, hematocrit, lymphocytes, neutrophils, platelets, globulins, immunoglobulin G) concerning the treatment of each experimental group, it was determined that no statistically significant differences were found in any of the groups regarding the effect of Uprone® administration. However, significant differences were found regarding the treatment and period. The use of lymphoreticular polypeptides did not show any side effects in any of the treated animals. The treatment with lymphoreticular polypeptides showed increases in globulin values, contributing to the immune system of the treated horses.

Keywords: Pig spleen peptide, Immunomodulatory, bioactive peptides.

Introducción

La resistencia a los antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas de salud. El combatir a los organismos patógenos con terapias combinadas que involucren la participación del sistema inmune y de fármacos antimicrobianos, representa un modelo exitoso para el tratamiento de enfermedades infecciosas agudas y crónicas. Los inmunomoduladores de origen bacteriano, eucariótico y farmacológico estimulan los mecanismos de defensa del hospedero contra diversas enfermedades virales, bacterianas, parasitarias y fúngicas. El potencial de estos agentes para modular la respuesta inmune puede ser utilizado como tratamiento o como terapia adyuvante de diversas enfermedades microbianas. En las enfermedades infecciosas, el creciente problema de la resistencia a los agentes antibióticos y quimioterapéuticos hace aún más patente el impacto benéfico que puede tener la modulación de la respuesta inmune en la resolución de la enfermedad (1).

Recientemente el sistema inmunológico de los equinos ha sido objeto de particular interés por los científicos; teniendo como propósito lograr mayor control sobre muchas enfermedades y condiciones inmunopatológicas. Los caballos, debido a su temperamento y actividades a las que se les destina, sufren frecuentemente esta-

dos de estrés que propician una serie de cambios fisiológicos profundos, los que interaccionan con eventos externos y provocan un estado de incompetencia inmunológica, caracterizado entre otras cosas, por el hecho de que el individuo no puede establecer una defensa efectiva contra agentes invasores. Estas situaciones provocan complicaciones y cronicidad de algunas enfermedades (2).

Los dueños de caballos buscan usar métodos alternos y preventivos a muy temprana edad en sus animales con el simple objetivo de evitar la presentación de patologías que en su gran mayoría cursan con cuadros crónicos e incluso letales. Diversos estudios manejan el Uprone® suplemento dietario, como terapia coadyuvante; compuesto por polipéptidos hepáticos y esplénicos de origen porcino de bajo peso molecular, registrado en el mercado farmacéutico colombiano (3, 4, 5).

Las moléculas denominadas polipéptidos linforeticulares es un producto derivado de péptidos esplénicos y hepáticos de origen porcino obtenido mediante procesos de fragmentación proteica de forma que se conserven las propiedades benéficas de cada órgano. Estas moléculas actúan como coadyuvantes metabólicos específicos para el normal funcionamiento celular. Estos péptidos son obtenidos de animales

inmunocompetentes de tal forma que los productos obtenidos ayudan o estimulan la producción de inmunoglobulinas. El bazo cumple una importante función en el sistema inmunológico como es la diferenciación temprana celular y el hígado es el órgano donde se producen las reacciones de fase aguda y la síntesis de proteínas plasmáticas, importantes en los procesos de defensa orgánica (6).

Los subproductos derivados de animales pueden utilizarse como materias primas para producir productos con valores agregados, como péptidos/proteínas bioactivos en el campo de los alimentos funcionales, que actualmente tienen una demanda considerable. Por lo tanto, el desarrollo de subproductos de origen porcino para el mercado de alimentos funcionales y los campos biomédicos es prometedor. Entre los muchos subproductos porcinos, el bazo porcino tiene el mayor potencial de investigación. Por un lado, el sabor desagradable hace que el bazo porcino no sea ampliamente aceptado por el público, lo que resulta en una gran cantidad de bazos porcinos disponibles para la industria, por lo que este excedente de tejidos derivados del porcino pueda proporcionar una materia prima abundante y barata para la investigación científica. El bazo es un órgano inmune importante del organismo, almacenando una variedad de células inmunitarias y sustancias bioactivas que pueden extraerse, proporcionando valor de investigación para el estudio biomédico y el desarrollo de alimentos funcionales (7).

Diversos estudios sobre hidrolizados de proteínas o péptidos bioactivos para la producción de ingredientes con valor agregado han llamado mucho la atención de los científicos. En comparación con las proteínas, los péptidos de bajo peso molecular (LMW, por sus siglas en inglés) son fácilmente absorbidos por el cuerpo y tienen mayor biodisponibilidad (8). Generalmente estos péptidos son bioactivos y ofrecen diversos beneficios para la salud, tales como efectos antioxidantes, inmunomoduladores, anticancerígenos, antiinflamatorios, antihipertensivos, antilipémicos, antimicrobianos, osteoprotectores y similares (9). Por ejemplo, los hidrolizados de proteínas plasmáticas porcinas mostraron altos niveles de actividad antioxidante (10). Pearman et al. (11), obtuvieron nuevos péptidos bioactivos derivados del hígado porcino, lo cual se suma a las amplias posibilidades del uso de estas proteínas derivadas de estos tejidos (11). La mayor parte del interés en el estudio de los péptidos bioactivos y sus usos radica en que los péptidos bioactivos pueden utilizarse para tratar enfer-

medades o asistir (coadyuvar) en procesos biológicos. Hoy en día, la aparición de enfermedades crónicas ha ido en aumento. Las investigaciones sugieren que las patologías de diversas enfermedades humanas, especialmente el cáncer, están relacionadas con el estrés oxidativo, lo cual hace de esta enfermedad algo muy complejo y multifactorial. La alteración del entorno celular aumenta el riesgo de cáncer. Cuando el cuerpo se ve afectado repetidamente por el estrés oxidativo, puede desencadenar alteraciones dentro y fuera de las células que pueden suprimir la función del sistema inmunológico, facilitando el crecimiento y la propagación de células cancerosas. Por lo tanto, las moléculas bioactivas son de especial interés con énfasis en los péptidos bioactivos con actividad antioxidante y actividad antitumoral (7).

Métodos

El estudio se llevó a cabo en el Municipio de Tabio, Cundinamarca (Colombia) en un criadero de equinos. El municipio limita por el norte con el municipio de Zipaquirá, al oriente con el municipio de Cajicá, al occidente con el municipio de Subachoque y al sur con el municipio de Tenjo. En la zona se maneja una temperatura media de 14° C.

Previo aprobación del comité de bioética, se incluyeron en el estudio 20 animales, de acuerdo con la metodología descrita por Monclin et al. (12), separados en dos grupos: un grupo control y un grupo tratamiento, cada uno constituido por 10 animales. Los equinos al examen clínico fueron considerados sanos y bajo condiciones de manejo similares, a los cuales se le tomaron muestras de sangre y evaluación clínica; al grupo tratamiento se le administró vía oral dos cápsulas de Uprone® (polipéptidos linforeticulares) a una dosis de 200mg/equino/día. El promedio de edad de ambos grupos fue de 8,6 años.

Al día 0 se tomaron las primeras muestras de sangre los 20 equinos, utilizando tubos Vacutainer® con EDTA para los cuadros hemáticos y tubo sin anticoagulante para el análisis de inmunoglobulina G, la cual fue analizada bajo la técnica de Turbidimetría; las muestras fueron transportadas bajo refrigeración al laboratorio. Según el estudio realizado por Acero et al. (13) se realizó la administración vía oral de dos cápsulas de Uprone® (200mg/equino/día); este estudio se emplea como base para el inicio del tratamiento posterior al día 0. Al día 15 se toman nuevamente las muestras sanguíneas de los 20 animales para el análisis de cuadro hemático e

inmunoglobulina G, siendo transportadas bajo las mismas condiciones de refrigeración. Se realizó finalmente el último muestreo el día 30, con el fin de comparar los resultados de los exámenes iniciales con los finales. Durante los 30 días se garantizó la dosificación de las cápsulas en cada animal del grupo tratamiento. En este estudio se tuvo en cuenta la ley 84 de 1989 acerca del bienestar animal y las condiciones necesarias para animales de experimentación en Colombia.

En cuanto al análisis estadístico se realizó con base en la estadística descriptiva, utilizando un diseño factorial A x B para el análisis de las variables de hematíes, hematocrito, plaquetas, neutrófilos, linfocitos, globulina e IgG entre el grupo control y tratamiento revelando la interacción entre los dos grupos. Para determinar si las variables eran de distribución normal, se realizó la Prueba de Shapiro, arrojando como resultado que todas fueron de distribución normal. En cuanto al análisis de las diferencias entre el tiempo y los grupos manejados se utilizó el modelo muestra repetida en el tiempo; posteriormente se llevó a cabo de ANOVA como fuente de variación e integración del tratamiento y el

periodo, finalizando con la Prueba de Tukey.

Resultados

Resultados de hematología

A nivel de la línea roja del cuadro hemático, en términos generales los pacientes del grupo tratamiento y grupo control no presentaron cambios significativos entre los valores del primer, segundo y tercer cuadro hemático.

En el equino número 3, 4 y 7 se observó un aumento en los eritrocitos y el hematocrito, en el equino número 5 y 6 aumentó en la toma del día 15 los eritrocitos y posteriormente disminuyó pero el hematocrito en ambos aumentó, y en el equino número 10 se observó una disminución en los eritrocitos en la toma del día 15; posiblemente por estrés (Tabla 1). En cuanto al análisis estadístico de la línea roja del grupo tratamiento y grupo control, mediante un diseño factorial A x B se reveló la interacción entre los dos grupos, para los hematíes no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en cuanto al tratamiento.

Tabla 1. Comparación entre el primer, segundo y tercer cuadro hemático de línea roja del grupo tratamiento.

Línea roja grupo tratamiento	Rango Eritrocitos: 6-12 $10^6/\mu\text{l}$			Rango Hematocrito: 32-48 %		
	Cuadro hemático día 0	Cuadro hemático día 15	Cuadro hemático día 30	Cuadro hemático día 0	Cuadro hemático día 15	Cuadro hemático día 30
Equino 1	9,97	10,52	8,87	44	45	39
Equino 2	12,59	12,05	11,7	55	53	53
Equino 3	10,66	11,62	11,73	49	54	53
Equino 4	8,09	9,06	9,49	40	43	43
Equino 5	8,99	9,31	8,99	42	43	43
Equino 6	8,48	9,14	8,7	37	40	39
Equino 7	9,4	9,42	9,81	41	41	43
Equino 8	8,88	8,78	8,49	43	42	41.3
Equino 9	10,85	10,64	9,54	50	48	44.57
Equino 10	10,99	11,01	8,06	52	51	35

Resultados de plaquetas (trombocitos)

A nivel de plaquetas, los pacientes del grupo tratamiento y control no presentaron cambios significativos entre los valores del primer, segundo

y tercer cuadro hemático. Mediante un diseño factorial A x B se reveló la interacción entre los dos grupos, para las plaquetas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en cuanto al tratamiento y el tiempo

de muestreo.

Resultados de la línea blanca

A nivel de la línea blanca, en términos generales los pacientes del grupo tratamiento y control no presentaron cambios significativos entre los valores del primer, segundo y tercer cuadro hemático. En los equinos número 1, 2, 6, 7, 8 y 10 del grupo tratamiento se observó un aumento en los linfocitos (Tabla 2).

Resultados de las globulinas

En el grupo tratamiento se observó un aumento progresivo de la toma 0 a la toma del día 30 en todos los equinos del grupo control a excepción

del equino 7 (Tabla 2), presuntamente por la administración de los polipéptidos linforeticulares, mientras que los resultados de globulinas del cuadro hemático de los equinos del grupo control, no presentaron cambios significativos entre los valores del primer, segundo y tercer cuadro hemático. Mediante un diseño factorial A x B se reveló la interacción entre los dos grupos, para las globulinas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Resultados de Inmunoglobulina G

Se observaron variaciones en los resultados de la inmunoglobulina G en el grupo tratamiento, con aumentos en la concentración de esta en el equino 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 10 (Tabla 2).

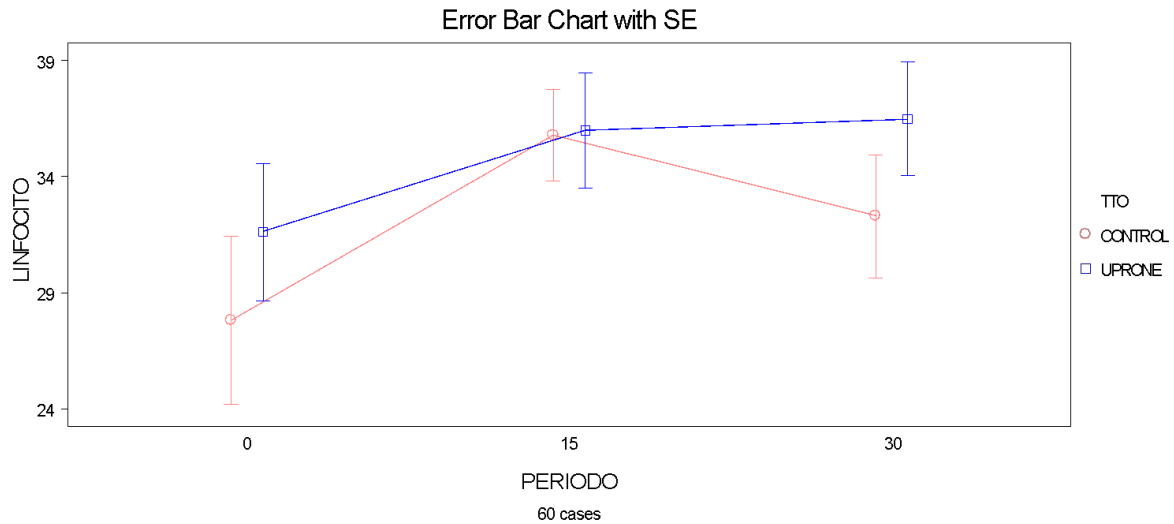
Tabla 2. Comparación entre el primer, segundo y tercer cuadro hemático de linfocitos, globulinas e inmunoglobulina G.

Línea blanca grupo tratamiento	Rango Linfocitos: 25-60 10^3 / μ l			Rango Globulina: 2,4-4,6 gr/dl			Rango Inmunoglobulina G: 1065-2463 mg/dl		
	Cuadro hemático día 0	Cuadro hemático día 15	Cuadro hemático día 30	Cuadro hemático día 0	Cuadro hemático día 15	Cuadro hemático día 30	Día 0	Día 15	Día 30
Equino 1	38	32	50	2,52	3,51	5,1	2093	2187	2495
Equino 2	11	30	28	1,47	3,14	4,6	2082	2166	2047
Equino 3	32	35	26	2,35	2	4	1820	2724	2258
Equino 4	40	30	36	1,47	2,04	3	1987	2381	2070
Equino 5	39	39	35	1,6	1,98	3,5	1806	2172	2452
Equino 6	31	38	38	1,85	2,23	3	1684,3	2427	2281
Equino 7	22	55	48	1,89	1,7	1,9	1684,2	2434	2362
Equino 8	28	40	33	2,39	3,73	3,95	1463,4	1841	1505
Equino 9	40	28	32	2,32	2,97	2,8	1490,1	2113	1256
Equino 10	35	33	39	2,03	2,47	2,8	1682,2	2296	2598

Mediante un diseño factorial A x B se reveló la interacción entre los dos grupos, para los linfocitos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en cuanto al tratamiento, pero sí se encontraron diferencias

en el tiempo de muestreo puesto que el grupo control aumentó del día 0 al día 15 y después disminuyó del día 15 al día 30; mientras que el grupo tratamiento siempre aumentó según la Prueba de Tukey (Figura 1).

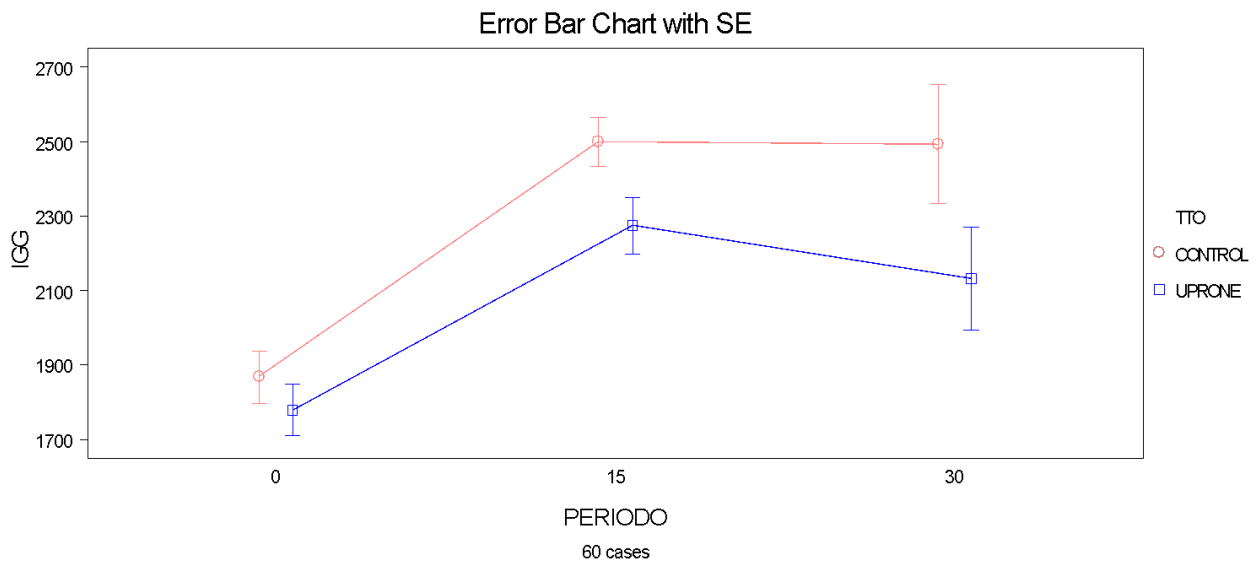
Figura 1. Análisis estadístico de linfocitos.



Mediante un diseño factorial A x B se reveló la interacción entre los dos grupos, para la inmunoglobulina G no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en

cuanto al tratamiento, pero sí se encontraron diferencias en el tiempo de muestreo según la Prueba de Tukey (Figura 2).

Figura 2. Análisis estadístico de inmunoglobulina G



Resultados adicionales

Una vez que se inició y desarrolló el método experimental del proyecto, no se presentó ningún tipo de interrupción u problema durante la administración del suplemento, ni tampoco en la toma de muestras necesarias para el análisis de resultados. Sin embargo, al cabo del día 7 se observó un brote de aparente infección respiratoria en el criadero; fue diagnosticada por el Médico Veterinario tratante por la presencia de signos como estornudo y secreción nasal, afectando el 12% de la población equina total (potros y animales adultos). Para el grupo control, 4 de los 10 animales previamente seleccionados

manifestaron signos como los mencionados anteriormente. Algo destacable de la situación es que los animales pertenecientes al grupo tratamiento no mostraron ningún síntoma ni se vieron afectados durante y después de los 30 días del uso de Uprone®.

Discusión

Datos farmacológicos como clínicos han demostrado la interacción y las propiedades benéficas de los polipéptidos linforeticulares con el sistema inmunológico incrementando la inmunoreactividad humoral o celular del paciente, estimulando la transferencia de señales

para la regulación o estabilización biológica y activación de las células NK (3, 5, 6, 14), con resultados similares a lo obtenido en este estudio, incremento en la inmunidad celular (linfocitos) y humoral (globulinas e inmunoglobulina G) en la mayoría de los animales, en este caso en los equinos, aunque los polipéptidos han demostrado diversos efectos en otras especies animales (6, 15, 16).

Sin embargo, pueden existir variaciones en algunos grupos celulares, por ejemplo los glóbulos rojos, por estrés al manipular los animales o durante la toma de las muestras, Según Núñez y Bouda (17) como también Stämpfli (18), lo anterior puede ser explicado por la excitación que provoca la liberación de epinefrina y la contracción esplénica, el bazo actúa como reservorio de los eritrocitos en el perro, gato, caballo y oveja, causando un incremento en la cantidad de eritrocitos circulantes hasta en un 15%; conocido como eritrocitosis relativa, lo cual posiblemente pudo haber pasado en algunos de los equinos del grupo control y tratamiento, aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas.

En cuanto a las plaquetas, tampoco hubo cambios significativos lo cual se puede deber principalmente a que los trombocitos permanecen en la circulación aproximadamente de 8 a 12 días y son eliminadas principalmente por macrófagos del sistema fagocítico nuclear (19, 20).

En la línea blanca, aunque hubo variaciones, estas células son sensibles al estrés y a cambios en el manejo de los animales, por ejemplo en el equino número 2 en la toma de día 0 se observó un aumento en los neutrófilos (89, rango 30-75 $10^3/\mu\text{l}$) y una disminución de los linfocitos (11, rango de 25-60 $10^3/\mu\text{l}$), y en el equino número 7 se evidenció en la toma del día 0 una disminución de linfocitos (22, rango de 25-60 $10^3/\mu\text{l}$); presuntamente por estrés que de acuerdo a la literatura el estado presentado por los animales mencionados llega a ser influenciado por la interacción entre el sistema nervioso central, sistema endocrino y sistema inmune, respondiendo a estímulos estresantes de una manera coordinada e influenciando el comportamiento de un animal. La respuesta de estrés comienza con el envío de una señal al cerebro la cual es integrada en el hipotálamo, se producen una serie de hormonas que regulan la función de la hipófisis anterior, la cual secreta ACTH (las hormonas relacionadas a su secreción en los equinos son la hormona liberadora de corticotropina CRH y vasopresina de arginina AVP). Una vez que CRH y AVP estimulan la secreción de ACTH al torrente sanguíneo, se estimula la glándula

adrenal liberando cortisol. El aumento de estas hormonas genera un circuito de retroalimentación negativo inhibiendo la posterior secreción de estas y por ello, para mantener la homeostasia durante condiciones estresantes, se modifica la actividad del sistema nervioso autónomo y secreción hormonal regulada por mecanismos de feedback (21).

Dentro de lo reportado por Rincón y Torres (22) una posible respuesta fisiológica para el estrés presentado por los equinos en el presente estudio ocurre por la liberación de cortisol pudiendo desencadenar una neutrofilia y linfopenia, aumentando el coeficiente N:L. El mecanismo responsable de la linfopenia involucra la marginación y redistribución de los linfocitos dentro del sistema linfático, además de una marcada y acelerada apoptosis. La neutrofilia durante una inflamación sistémica es causada por la marginación de neutrófilos, disminución en la apoptosis de neutrófilos y estimulación de células madre a través de factores de crecimiento (23). Según Stull y Rodiek (24) el coeficiente N:L sería un indicador más confiable de estrés que la concentración de cortisol.

Por otro lado en los equinos número 1, 6, 7, 8 y 10 se observó aumento de los linfocitos de día 0 al día 30. Dallard (25) menciona que la acción de los inmunomoduladores está relacionada con el mecanismo y equilibrio del adenosina-monofosfato-cíclico (AMPc) y la guanina-monofosfato-cíclico (GMPc), y determina que el aumento de los niveles de AMPc inhibe la función efectora de los linfocitos lo que conlleva a una inmunosupresión, mientras que altos niveles de GMPc promueve un incremento en la actividad de los linfocitos maduros lo que se traduce en una inmunoestimulación, más aún, cuando en el suplemento existen factores que favorecen ese tipo de reacciones metabólicas.

Si revisamos los resultados de las globulinas, en el grupo tratamiento se observó un aumento progresivo de la toma 0 a la toma del día 30 posiblemente por la administración de los polipéptidos linforeticulares. Estos resultados pueden ser atribuidos a la evidencia científica del perfil electroforético del producto Uprone® con un altísimo contenido de globulinas (70 % aprox. de gamma globulinas, 30% de betha y alpha globulinas), así como unas franjas consistentes de oligopéptidos de bajo peso molecular, situadas entre los 40.000 y los 6.000 Dalton. En las prácticas realizadas a los polipéptidos linforeticulares de origen porcino en el Instituto de Referencia Andino, Bogotá-Colombia (2001-2002), los estudios electroforéticos seriados de proteí-

nas muestran perfiles similares a los contenidos de proteínas plasmáticas, siendo altamente superiores a las observadas en patrones de referencia para sujetos inmunocompetentes. Por ende se desencadena el aumento de los perfiles tipo gammaglobulinas (70-80 %) y de otras fracciones (4, 5, 26).

Con respecto a la inmunoglobulina G, se observaron variaciones en los resultados en el grupo tratamiento con el aumento de esta molécula en 8 de los animales. Según Bautista (27) ciertos adyuvantes pueden usarse para incrementar la formación de una clase de inmunoglobulina determinada, o estimular selectivamente la inmunidad células más que la formación de anticuerpo y viceversa ambos tipos de respuestas, en este caso, los polipéptidos linforeticulares posiblemente actuaron como formadores de esta inmunoglobulina. Otros estudios demuestran que productos derivados del bazo del cerdo tiene efectos inmunomoduladores, incluyendo la estimulación de múltiples células inmunitarias para estas proliferen, la producción de citocinas (IFN- γ , IL-2, IL-4 y TNF- α) y el aumento de los niveles de anticuerpos IgG, IgM e IgA., inducir apoptosis de células tumorales y actividad antioxidante (28), incluso la administración de polipéptidos derivados del bazo demuestran en estudios en roedores, el aumento en la tasa de supervivencia tras la infección por el virus de la influenza A al mejorar los mecanismos de defensa dependientes de los linfocitos T contra el virus (29).

Durante la realización de este estudio, la administración de las cápsulas se llevó a cabo vía oral. Mejía (4) reporta que el consumo exógeno de polipéptidos linforeticulares favorece a la respuesta de estos como precursores, modificadores de la respuesta biológica y del restablecimiento metabólico celular; ya que proporcionan aminoácidos, oligoelementos y fracciones peptídicas afines de bajo peso molecular (L.M.W) presentes en los tejidos hepáticos y esplénicos de origen porcino. Gracias a dichas propiedades, los polipéptidos son utilizados en la clínica como suplemento metabólico específico del sistema inmune (30).

Conclusiones

Los resultados hematológicos obtenidos durante el desarrollo del estudio, el grupo control y el grupo tratamiento no evidenciaron cambios estadísticamente significativos que favorezcan el uso, empleo, vía de administración y dosis de los polipéptidos linforeticulares.

Respecto a la inmunoglobulina G tanto del grupo control como del grupo tratamiento, se evidenciaron cambios que pueden sugerir una diferencia causada por el tratamiento con los polipéptidos linforeticulares.

A nivel de las proteínas plasmáticas (globulinas), existió una variación de los resultados el cual se puede atribuir al uso de los polipéptidos, pero dentro de los parámetros normales o rango.

El uso de Uprone® no mostró efectos adversos en los equinos a los cuales les fue suministrado.

Agradecimientos

Al Dr. José Alejandro Espinosa por la orientación y los aportes realizados a este estudio. Al Dr. Cesar Díaz, por el apoyo en el procesamiento de datos y análisis estadístico. Al Laboratorio UPROLAB® por el apoyo con el producto para la realización del estudio.

Referencias

1. García-Hernández M, Guerrero-Ramírez G, Castro-Corona M, Medina de la Garza C. Inmunomoduladores como terapia adyuvante en la enfermedad infecciosa. *Medicina Universitaria*. 2009;11(45),247-259.
2. Miranda Hernández E, Ríos Mena AM, Cruz Sánchez T, Salas Muñoz A, Romero Rojas A. Utilización del inmunomodulador RS-100 en el tratamiento de dermatitis micótica crónica en un equino. *Veterinaria México*. 2005;36(3):361-366. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42336310>
3. Van'tVeen A, de Ruyter H, Mouton JW, Hartleb M, Lachmann B. Pretreatment with spleen peptides can enhance survival in influenza A infected mice. *Forsch Komplementarmed*. 1996; 3, 218-221.
4. Mejía G. El tratamiento de apoyo metabólico para el cáncer y otras patologías, Urbimed Laboratorios S.A.S Colombia. 2010. *Boletín #3*
5. Acero Plazas VM, Higuera Piedrahita RI, Mejía Mejía G. Valoración multicéntrica sobre el efecto terapéutico suplementario de los polipéptidos linforeticulares derivados del porcino en el curso clínico de diversas patologías. *Spei domus*. 2020;16(1),1-22. <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/3775>

6. Salavarieta Rey A, Espinosa Avila C, Acero Plazas, VM, Mejía Mejía G. Efecto de los polipéptidos linforeticulares en caninos con parvovirus en Funza, Cundinamarca. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*. 2014;3(2),8-22.
7. Liu C, An H, Liu A. Functional development of porcine spleen as a by-product of pig slaughterhouse: Preparation, identification and bioactive activities of a novel peptide. *Food Bioscience*. 2023; 56,103448. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103448>
8. Du A, Jia W. Virtual screening, identification, and potential antioxidant mechanism of novel bioactive peptides during aging by a short-chain peptidomics, quantitative structure-activity relationship analysis, and molecular docking. *Food Res Int*. 2023;172:113129. [10.1016/j.foodres.2023.113129](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113129)
9. Chalamaiah M, Yu W, Wu J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. *Food Chem*. 2018;245:205-222. [10.1016/j.foodchem.2017.10.087](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.087)
10. Liu Q, Kong B, Xiong YL, Xia X. Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. *Food Chem*. 2010;118(2):403-410. [10.1016/j.foodchem.2009.05.013](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.013)
11. Pearman NA, Ronander E, Smith AM, Morris GA. The identification and characterisation of novel bioactive peptides derived from porcine liver. *Curr Res Food Sci*. 2020;3:314-321. [10.1016/j.crfs.2020.11.002](https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.11.002)
12. Monclin SJ, Farnir F, Grauwels M. Determination of tear break-up time reference values and ocular tolerance of tetracaine hydrochloride eyedrops in healthy horses. *Equine Vet J*. 2011;43(1):74-7. [10.1111/j.2042-3306.2010.00119.x](https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00119.x)
13. Acero V, Cristancho C, García N, Góngora J, Gómez V, Estupiñán V, Ballen L, Duran, L, Godoy N, Bautista R, Mejía, G. Efecto de polipéptidos linforeticulares (Uprone®) en varias especies animales: estudio preliminar. Comunicación presentada en el XLVI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. 11 al 15 de octubre de 2011. Medellín, Colombia.
14. Ojeda G, Diez-Orejas R, Portolés P, Ronda M, Del Pozo ML, Feito MJ, Hartleb M, Rojo JM. Polyerga, a biological response modifier enhancing T-lymphocyte-dependent responses. *Res Exp Med (Berl)*. 1994;194(4):261-7. [10.1007/BF02576387](https://doi.org/10.1007/BF02576387)
15. Ardila, S., Chaki, J., Martínez, L., Méndez, N., Mejía, G., Soler, D., Mayor, G., Jiménez, D. L., Acero, V. (2010). Efecto de los polipéptidos linforeticulares en los valores hemáticos en un grupo de caninos sanos en Bogotá, Colombia. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 22: 1-235.
16. Pérez T, Contreras R, Garavito A, Fonseca C, Acero V. Evaluación del efecto de polipéptidos linforeticulares en un grupo de bovinos en Nobsa, Boyacá, Colombia. Memorias "XXIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET)". 24 al 27 de octubre de 2012. Cartagena de Indias, Colombia.
17. Marlin D, Nankervis K. *Equine exercise physiology*. United States. Blackwell Publishing. 2003.
18. Núñez L, Bouda J. *Patología Clínica Veterinaria*. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México, Comité editorial FMVZ- UNAM. 2006
19. Hall JE, Hall ME. *Hemostasis and blood coagulation*. En: *Medical Physiology*. 11th edition. Filadelfia. Elsevier Saunders. 2006.
20. Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas FI, Glader B. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 2004.
21. Flores, D. Indicadores de estrés en equinos sometidos a orquiectomía tratados con analgesia preventiva en base a tramadol o fenilbutazona. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 2010. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/fvf634i/doc/fvf634i.pdf>
22. Rincón AR, Torres MM. Determinación de intervalos de referencia de los parámetros hematológicos en caballos paso fino colombiano en pre y pos-ejercicio en la sabana de Bogotá. Tesis de pregrado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia. 2010.
23. Zahorec R. Ratio of neutrophil to lymphocyte counts rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critica-

Ily ill. Bratisl Lek Listy. 2001;102(1),5-14.

24. Stull CL, Rodiek AV. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J Anim Sci.* 2000;78(6),1458-66. 10.2527/2000.7861458x
25. Dallard, B. Estudio histofisiológico del efecto de un agente inmunomodulador intramamario en la involución de la glándula mamaria bovina. Tesos doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. 2006. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/32/TESIS%20DOCTORAL%20DB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Mejía G. Polipéptidos Linforeticulares (L.M.W.). El tratamiento de apoyo metabólico para el cáncer y otras patologías. Reporte Dirección Científica. Prometeus S.A. Bogotá, Colombia. 2007
27. Bautista C. Inmunoestimulantes inespecíficos como profilaxis en infecciones parasitarias. *Ciencia Veterinaria.* 1994; 6, 235- 273. <https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol6/CVv6c9.pdf>
28. Liu C, Ding W, Huo Y, Liu A. Comprehensive assessment of peptide derived from pig spleen: Preparation, bioactivity and structure-activity relationships. *Food Bioscience.* 2023; 56,103361. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103361>
29. Wixler V, Zaytsev IZ, Boergeling Y, Ludwig S. The anti-inflammatory and tolerogenic potential of small spleen peptides. *Front Immunol.* 2024;15:1449657. 10.3389/fimmu.2024.1449657
30. Furr M.. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2014;34(10),1156- 1163. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2014.06.020>



2.

ARTÍCULOS
DE CASO CLÍNICO

Criopreservación espermática mediante recuperación de espermatozoides de conductos deferentes y epidídimo en un equino: Reporte de caso

Sperm cryopreservation through the recovery of spermatozoa from the deferent ducts and epididymis in a horse: Case report

Recibido: 23 de agosto de 2024 • **Aprobado:** 17 de octubre de 2024

Sebastián Villamil, MVZ

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad De Ciencias y Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Bogotá, Colombia

E-mail: pvillamil@udca.edu.co

Jorge Pinzón, MV

Facultad De Medicina Veterinaria y Zootecnia. Fundación Universitaria San Martín Bogotá, Grupo de investigación Prosavez. Bogotá, Colombia.

Ricardo Buitrago, MV MSc

Facultad De Medicina Veterinaria y Zootecnia. Fundación Universitaria San Martín Bogotá, Grupo de investigación Prosavez. Bogotá, Colombia.

E-mail: edwin.buitrago@sanmartin.edu.co

Resumen

La criopreservación seminal es una herramienta biotecnológica mediante la cual los espermatozoides son sometidos a temperaturas de congelación (-196°C) con el fin de mantener su viabilidad por tiempo indefinido. Esta técnica es comúnmente utilizada en sementales cuando se requiere disponibilidad un suplemento constante de dosis seminales, o en algunos casos cuando se desea preservar la genética de un animal que ha sufrido lesiones severas o ha muerto recientemente. Este reporte describe la técnica de recuperación espermática mediante el lavado por flujo retrógrado del conducto deferente y cola del epidídimo en un semental Criollo Colombiano, el cual fue remitido a consulta posterior a una fractura con minuta en el miembro posterior izquierdo, razón por la cual fue realizada la eutanasia del paciente. Luego de haberse retirado los testículos se realizó recuperación espermática mediante lavado por flujo retrógrado del conducto deferente y la cola del epidídimo para ser sometidos a un protocolo de criopreservación convencional utilizando un diluyente con base en yema de huevo – metilformamida y glicerol. Se lograron obtener un total de 10 dosis seminales, con motilidad total de 60% postdescongelación. Esta técnica es una alternativa viable dado que permite conservar el mérito genético de animales de alto valor cuando estos han sufrido lesiones severas o han muerto recientemente, generando alternativas para la posterior aplicación de biotecnologías reproductivas.

Palabras clave: Equino, criopreservación, crioprotector, espermatozoide, epidídimo.

Introducción

La criopreservación seminal consiste en la congelación y almacenamiento de células espermáticas en nitrógeno líquido a temperaturas de

-196 °C generando una suspensión de su metabolismo por periodos de tiempo indefinidos, esto con el fin de preservar el material genético y tener a disposición dosis inseminantes para ser usadas posteriormente por medio de biotecnología

logías reproductivas (1). La extracción espermática ha sido reportada a través de técnicas como el uso de vagina artificial, preservativo, colector cervical, eyaculación química y extracción de espermatozoides de los conductos deferentes o de los epidídimos (2,3,4,5,6). La electroeyaculación no es una forma exitosa dada la ocurrencia de contaminación seminal con orina y el riesgo para el operario y el animal (4).

Actualmente se han utilizado diferentes métodos para la obtención de espermatozoides de la cola del epidídimo tales como: aspiración directa (7), colocación del epidídimo en medio gelificado durante periodos de tiempo específicos (8), y la realización de lavado por flujo retrogrado que involucra los conductos deferentes (9). El desarrollo de la técnica para extracción de espermatozoides del epidídimo tuvo su origen en 1930 por Walton, quien logró extraer espermatozoides vivos de los conductos deferentes y epidídimos en conejos. Posteriormente se realizaron estudios para la recuperación de espermatozoides en diferentes especies como ratones, ciervos, equinos, ovinos, caninos, felinos, bovinos, entre otros (8,9). En 1957, se reportó la primera obtención y criopreservación de espermatozoides colectados directamente de la cola del epidídimo con posterior inseminación de una yegua y nacimiento con éxito de un potro (10); En el 2014 se reporta la primera preñez en Colombia en un yegua producto de la inseminación con espermatozoides congelados que fueron recuperados de la cola del epidídimo (11).

Cada espermatozoide anatómicamente está compuesto por una cabeza que posee núcleo con ADN y un acrosoma que contiene enzimas hidrolíticas necesarias para la penetración de la zona pelúcida del óvulo durante la fertilización, la pieza intermedia y la pieza final poseen microtúbulos que lo ayudan en su movimiento. También cuenta con membrana plasmática, la cual encierra tanto la cabeza como la cola y se encarga de dar protección actuando como una barrera selectiva que regula el intercambio de sustancias entre el medio interno y el externo (12,13). Durante la espermatogénesis, los espermatozoides no están maduros cuando se liberan de los túbulos seminíferos, cada uno contiene una gota citoplasmática proximal en su pieza intermedia, la cual a medida que el espermatozoide avanza hasta la cola del epidídimo se va desplazando a la parte proximal del mismo y este debe madurar en la cola del epidídimo para ganar motilidad progresiva, estabilidad estructural y capacidad fecundante (12,14). Los principales cambios que ocurren durante el tránsito espermático a través del epidídimo

incluyen modificaciones en la cromatina (14) y alteraciones en el tamaño del acrosoma (15).

Los crioprotectores han sido clasificados en dos grupos según la permeabilidad de la membrana a la sustancia, los no penetrantes y los penetrantes de la membrana celular que poseen bajos pesos moleculares tales como glicerol, metanol, etilenglicol, 1,2-propanodiol, butanediol, acetamida, el dimetil sulfóxido (DMSO) y metilformamida (16,17). En equinos, entre los más reportados han sido los crioprotectores penetrantes, entre ellos el glicerol que junto a la adición de dimetilformamida han demostrado mejorar la motilidad postdescongelación y disminuido el daño en la membrana plasmática de los espermatozoides. (18,19)

Durante el proceso de criopreservación el espermatozoide se ve sometido a 2 alteraciones principalmente; cambios de temperatura y osmolaridad que afectan su anatomía, metabolismo y potencial fecundante. Particularmente durante los cambios de shock térmico de fase del medio acuoso a medio de gel se ocasionan daños en la estructura de la membrana fosfolípida alterando su permeabilidad y metabolismo (20,21,22). Durante la congelación se forma un medio extracelular hiperosmótico haciendo que el espermatozoide pierda agua con el objetivo de equilibrar el medio intra y extracelular. Al descongelamiento el espermatozoide se expone a una solución hipotónica en el medio extracelular, con lo cual se permite la entrada de agua por difusión pasiva, dichas alteraciones en la osmolaridad pueden alterar la membrana celular y la viabilidad espermática (23,24). La aparición del primer núcleo de hielo ocurre cuando la solución llega a temperaturas entre -5°C y -15°C , lo anterior promueve la formación de núcleos de mayor tamaño. La adición de crioprotectores evita la formación de cristales de hielo en el medio intra y extracelular (25) lo que favorece la reducción de agua intracelular, sin deteriorar las concentraciones intra y extracelular de iones (26). Asegurar un correcto protocolo de criopreservación es fundamental para no afectar el potencial fecundante del espermatozoide. Utilizando espermatozoides congelados provenientes de la cola del epidídimo las tasas de preñez reportadas han sido 17% (10); 24%, 46% (27) y pueden ir hasta el 66% (28).

El presente reporte de caso tiene como objetivo describir el proceso de criopreservación de espermatozoides equinos recuperados de las colas del epidídimo y conductos deferentes mediante el uso de la técnica de flujo retrógrado.

Descripción de caso

Anamnesis: Fue remitido a consulta un garañón de 6 años, raza Criollo Colombiano con una lesión en el miembro posterior izquierdo. Luego del examen clínico, se realizó una evaluación radiológica del miembro afectado mediante la cual se determinó una fractura conminuta en la tibia. Dada la gravedad del cuadro clínico y el pronóstico desfavorable se decidió efectuar eutanasia del paciente utilizando relajantes musculares y sedantes con xilacina y guayacolato de glicerilo, inducción de plano anestésico con ketamina y punción intratecal con lidocaína. Posterior a la muerte del equino, se realizó la extracción de los testículos y la criopreservación de espermatozoides obtenidos a partir de la técnica del ordeño epididimal por flujo retrógrado.

Recuperación Espermática: Posterior a la eutanasia, se realizó desinfección e incisión ventral de la piel escrotal, exteriorizando los testículos en su totalidad, permitiendo la realización del corte del escroto, túnica dartos, fascia escrotal, fascia espermática externa e interna y túnica vaginal parietal. Se realizó hemostasia por ligadura del plexo pampiniforme y de la arteria testicular en la porción más proximal alcanzada del cordón espermático previo al corte con el fin de tener una mayor longitud del conducto deferente disponible para el lavado retrógrado. Los testículos, epidídimos y conductos deferentes fueron introducidos en bolsas plásticas estériles, almacenados a 20°C y transportados inmediatamente a un laboratorio cercano para su procesamiento.

Los epidídimos y conductos deferentes fueron escindidos de cada testículo, colocados en cajas plásticas de 47 mm de diámetro (Caja de Petri, Kartell, Milán, Italia), y mantenidos a temperatura ambiente (20°C aproximadamente) durante el procedimiento (30 minutos). Cada conducto deferente fue cortado en fracciones de 4 – 6 cm de longitud, las cuales fueron canuladas con agujas de 25xG, unidas a jeringas plásticas (Medispo, Protex s.a) cargadas con 1 ml de medio de criopreservación con yema de huevo, metilformamida y glicerol (BotuCrio, Botupharma, Brasil). Cada una de las porciones de los conductos deferentes fue lavada mediante flujo retrógrado, y sus contenidos depositados en tubos cónicos de 50 ml (Tubo Falcon, Analytica, Bogotá, Colombia), los cuales fueron previamente cargados con 5 ml de medio de criopreservación a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizaron cortes longitudinales sobre la cola del epidídimo de cada testículo, para coleccionar

los espermatozoides usando una jeringa. Como resultado final del procedimiento, se obtuvieron un total de 15 ml de espermatozoides y diluyente.

Después de recuperar el material espermático, fue refrigerado durante 120 minutos bajando gradualmente la temperatura hasta alcanzar los 5 °C. Una vez completado este proceso, se procedió a empacar el semen en pajillas de 0.5 ml, estas fueron selladas con alcohol polivinílico para ser sometidas a vapores de nitrógeno líquido 4 cm por encima del nivel y finalmente sumergidas directamente en nitrógeno a -196 °C siendo almacenadas en un termo de nitrógeno (29,30,31).

Evaluación seminal pre y post criopreservación: Se determinó el porcentaje de motilidad total y progresiva en las muestras mediante observación directa, usando microscopía de luz convencional a 100 y 400X. Para esto, 10 µL de muestra fueron colocados sobre una lámina portaobjetos. La cuantificación de la motilidad fue realizada por el mismo observador, expresándose el resultado en un rango de 0 – 100%.

Morfología Espermática: Fue evaluada mediante microscopía óptica (1000x) utilizando 20 microlitros de eosina nigrosina mezclada con 20 microlitros del material recuperado y extendida a manera de frotis en una lámina portaobjetos. Se evaluaron las características externas de los espermatozoides (cabeza, pieza intermedia y cola) y se estimó en un total de 100 células contadas correspondiente a la cantidad de espermatozoides con morfología normal, así como las alteraciones en cabeza, acrosoma, gotas citoplasmáticas, defectos en pieza media y cola. Se asumió el resultado de normalidad como un estimado en porcentaje de los espermatozoides totales recuperados (13).

Concentración Espermática: A través de la cámara de Neubauer realizando una dilución de 1:800 entre agua destilada y el material obtenido. La cámara fue evaluada por microscopía óptica (400x), estimando la cantidad de espermatozoides presentes en 5 cuadros, luego su multiplicó por el factor de dilución y finalmente por una constante de 50.000 para expresar el resultado en millones de Spz/ml

Resultados

Las características espermáticas fueron observadas posterior a la recuperación con el diluyente (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de calidad seminal del material recuperado proveniente de las colas del epidídimo y conductos deferentes previo a la criopreservación.

ESPERMIOGRAMA GENERAL	
Parámetro	Valor
Volumen	15 ml
Motilidad Total	85%
Morfología	
Normales	86%
Cola enrollada	6%
Cabezas sueltas	3%
Gota Citoplasmática Distal	5%
Concentración	1,200*10 ⁶ Spz/ml

La evaluación del proceso de criopreservación se estimó tomando una pajilla al azar, descongelándola en baño de maría a 37°C durante 45 segundos (17) y depositando su contenido en un

tubo eppendorf de 1.5 ml (Tubo eppendorf, Kartell, Analytica). De allí, se obtuvo una muestra para evaluar la motilidad total a través de microscopía óptica (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados Evaluación Seminal Post-Descongelación

ESPERMIOGRAMA SEMINAL POST DESCONGELACIÓN	
Parámetro	Valor
Volumen	0,5 ml
Concentración	200 * 10 ⁶ Spz
% de espermatozoides móviles	50%
Motilidad Total	75%

La cantidad de dosis seminales se estimó a partir de los resultados postdescongelación. Teniendo en cuenta que la dosis seminal adecuada para inseminación contiene entre 250 a 500 *10⁶ Spz viables (32) y estimando una mortalidad de 50%

de Spz por el proceso de descongelamiento, se necesitan 5 pajillas con 100 *10⁶ Spz viables cada una para alcanzar una dosis seminal efectiva (500 *10⁶ Spz viables) (Tabla 3) (33,34,35).

Tabla 3. Cálculo de dosis seminales a partir de resultados de descongelación seminal.

FÓRMULA	CÁLCULO
Concentración * Volumen = Concentración total de Spz	1,200*10 ⁶ Spz/ml X 15 ml = 18,000*10⁶ Spz
Concentración total de Spz*%normales*% motilidad= Spz viables	18,000 10 ⁶ Spz*0,86*0,75= 11,610 Spz viables
Spz viables/concentración pajillas = Cantidad de pajillas a congelar	11,610*10 ⁶ Spz / 200*10 ⁶ Spz = 58 pajillas
3 pajillas = 1 dosis seminal	58 pajillas= 11 dosis seminales

Discusión

La criopreservación de espermatozoides permite preservar material seminal de alto valor gené-

tico, optimizar los eyaculados de los sementales además de reducir la transmisión de enfermedades venéreas (36). Para este caso es una opción viable para conservar material genético y

reproducir el semental cuando este no puede ser colectado por alguna condición física o ante una muerte repentina (28). El manejo de los testículos y el transporte hasta el laboratorio es determinante en el éxito de la criopreservación espermática a través del ordeño de las colas del epidídimo y lavado por flujo retrógrado de los conductos deferentes, algunos reportes han evaluado la viabilidad espermática después de la orquiectomía hasta 24 horas conservándolos a 5°C (28, 37), así como la posibilidad de mantener la viabilidad espermática hasta por 96 horas en refrigeración (3). En el presente reporte los testículos fueron transportados al laboratorio posterior a la eutanasia del paciente y la técnica fue realizada en un tiempo no mayor a 30 minutos disminuyendo el posible impacto negativo del tiempo sobre la viabilidad espermática.

Durante el proceso de espermatogénesis en la cola del epidídimo se almacenan espermatozoides maduros sin presencia de plasma seminal y con capacidad fecundante a diferencia de la cabeza y cuerpo donde reportan estadios inmaduros de los mismos (38). Para este caso, el material recuperado de la cola del epidídimo y conductos deferentes fueron principalmente células espermáticas y plasma epididimal debido a la ausencia de los componentes del plasma provenientes de las glándulas sexuales accesorias. Un estudio reportó que en camellos los espermatozoides provenientes de la cabeza y cuerpo del epidídimo son capaces de fecundar, aunque la mejor calidad es de los obtenidos de la cola del epidídimo (39). Se utilizaron espermatozoides que después de ser evaluados en su morfología y movilidad se asume que tienen propiedades para ser fértiles, aunque se hace necesaria la utilización de este semen en procesos de inseminación artificial como prueba biológica para asegurar el potencial fecundante del mismo.

Diferentes técnicas para la obtención de espermatozoides provenientes del epidídimo han sido reportadas, destacándose la aspiración directa, inmersión epididimal en gel durante un periodo de tiempo y flujo retrógrado de las colas del epidídimo que involucran también los conductos deferentes (3,4,40). Esta última, fue la seleccionada siendo una técnica efectiva que requiere poca manipulación, además, se realizaron cortes de la cola del epidídimo para aumentar la cantidad de material espermático recuperado obteniendo mayor cantidad de dosis seminales.

Los crioprotectores se clasifican en dos grupos y diversos autores reportan que los mejores re-

sultados de criopreservación espermática son obtenidos utilizando aquellos que penetran la membrana celular y poseen bajo peso molecular (41,18,42). Así mismo, se ha demostrado que la dimetilformamida (DMF) como crioprotector ofrece mejores resultados en cuanto a movilidad espermática post descongelamiento (18), siendo utilizado en este caso con una combinación de DMF + glicerol en un preparado comercial. En la actualidad no existe un protocolo estandarizado para la criopreservación de semen equino, encontrándose diversos métodos y materiales dependiendo del laboratorio, así como variabilidad en la respuesta a la congelación dependiendo del semental (43,22) Utilizando espermatozoides congelados provenientes de la cola del epidídimo las tasas de preñez reportadas han sido hasta del 70 %, lo que conlleva a considerar como opción adecuada el uso de esta herramienta biotecnológica (28).

Los protocolos de congelación espermática estas reportados de manera manual utilizando cajas de icopor y depositando las pajillas sobre vapores de nitrógeno líquido a 4 cm por encima del nivel (44), también existen congeladoras automáticas que disminuyen la temperatura de los espermatozoides de forma controlada a 10 °C por minuto hasta llegar a -15 °C y a 25 °C por minuto hasta -150 °C (Kryo 10-3.3; Messer Griesheim, Germany), en nuestro caso se utilizó la manera manual dejando en vapores durante 10 minutos y después sumergiendo de manera directa las pajillas en el nitrógeno líquido para posteriormente empacarlas y almacenarlas en nitrógeno líquido a -196 °C (45).

El efecto de la criopreservación sobre los espermatozoides define el daño celular como resultado de una alta concentración de solutos en el fluido extracelular causado por el shock térmico y la formación de cristales de hielo fuera de la solución (26) provocando así la ruptura de la membrana basada en la transición de fase termo trópica de los lípidos (46). De acuerdo con esta teoría, la supervivencia espermática depende del tiempo permitido para que ocurra el evento de separación de fases durante la congelación. Si este no ocurre, se pueden crear orificios en la membrana por fallas en el agrupamiento de los lípidos durante la descongelación (47). El otro efecto descrito se basa en la alta sensibilidad de la membrana plasmática postulando al estrés osmótico como el factor clave en la optimización de la velocidad de enfriamiento por la tasa de desplazamiento requerida por la membrana plasmática para acomodarse al cambio de volumen pudiendo estar relacionado con la tensión de la adhesión del citoesqueleto

(43). En el caso, los resultados post descongelación evidenció un 40% de espermatozoides sin movimiento, aunque no se puede determinar la causa de esta, las teorías expuestas anteriormente pueden sugerir posibles etiologías.

La dosis seminal fue ajustada en el análisis post descongelación de una pajilla al azar, calculando la cantidad de espermatozoides viables y asegurando una dosis de 500×10^6 Spz millones por inseminación teniendo en cuenta que los reportes sugieren de 250 a 500 millones de Spz (Householder et al., 1981), asimismo, se estimó la concentración por pajilla en 200×10^6 Spz (33,34,35). Cabe recalcar que un análisis computarizado de las pajillas nos podía ofrecer un diagnóstico más objetivo frente los parámetros de motilidad espermática, en este caso no fue realizado por no contar con el equipo apropiado y el interés del propietario de conservar todo el material genético. Como recomendaciones de uso seminal al momento de la inseminación se deben descongelar 5 pajillas (1 dosis) y esta debe ser realizada de manera profunda cerca de la unión útero-tubal utilizando un catéter flexible durante el periodo peri ovulatorio teniendo en cuenta las 6 horas antes o después de la ocurrencia de la misma.

Conclusiones

La recuperación espermática de las colas del epidídimo y conductos deferentes utilizando la técnica de ordeño epididimal por flujo retrógrado es una estrategia viable cuando el animal presenta un accidente que impide la colecta seminal o muere. Combinado este procedimiento con la criopreservación se puede almacenar el material seminal por un periodo de tiempo prolongado y ser utilizado en biotecnologías de reproducción.

Referencias

- Holt, W., Pickard, A., 1999. Role of reproductive technologies and genetic resource banks in animal conservation. *Rev Reprod* 4. 143–50. https://scholar.google.com/citations?user=scholar?q=Role+of+reproductive+technologies+and+genetic+resource+banks+in+animal+conservation&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar
- Tiplady, C.A., Morris, L.H.A., Allen, W.R., 2002. Stallion epididymal spermatozoa: pre-freeze and post-thaw motility and viability after three treatments. *Theriogenology* 58, 225–228. https://www.researchgate.net/publication/279893610_Stallion_epididymal_spermatozoa_Pre-freeze_and_post-thaw_motility_and_viability_after_three_treatments
- James, A.N., Green, H., Hoffman, S., Landry, A.M., Paccamonti, D., Godke, R.A., 2002. Preservation of equine sperm stored in the epididymis at 4 °C for 24, 48, 72 and 96 h. *Theriogenology* 58, 401–404. <https://www.semanticscholar.org/paper/Preservation-of-equine-sperm-stored-in-the-at-4-%C2%BC-James-Green/77433a28af91fcd92bc4fb68d055fe11f818f5dc5>
- Cary, J.A., Madill, S., Farnsworth, K., Hayna, J.T., Duoos, L., Fahning, M.L., 2004. A comparison of electroejaculation and epididymal sperm collection techniques in stallions. *Can. Vet. J.* 45, 35–41. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC539225/>
- James, A.N., 2004. Preservation of sperm harvested from the rat, caprine, equine and bovine epididymis. PhD Thesis. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Baton Rouge, 229 pp. https://digitalcommons.lsu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=2040&context=gradschool_dissertations
- Muradías, P.R., Weiss, R.R., Kozicki, L.E., Granemann, L.C., Santos, I.W., Pimpão, C.T., 2006. Alguns parâmetros de viabilidade de espermatozoides equinos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epidídimo (Some viability parameters from equine spermatozoa harvested by artificial vagina and by epididymal tail washing). *Arch. Vet. Sci.* 11, 69–74. <https://revistas.ufpr.br/veterinary/article/view/7420>
- Sharma, R.K., Padron, O.F., Thomas, A.J., Agarwal, A., 1997. Factors associated with the quality before freezing and after thawing of sperm obtained by microsurgical epididymal aspiration. *Fertil. Steril.* 68, 626–631. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9341600/>
- Hewitt, D.A., Leahy, R., Sheldon, I.M., England, G.C.W., 2001. Cryopreservation of epididymal dog sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 67, 101–111. https://www.researchgate.net/publication/11932043_Cryopreservation_of_epididymal_dog_sperm
- Garde, J., Aguado, M., Perez, S., Garrido, D., Perez-Guzman, M., Montoro, V., 1994. Physiological characteristics of epididymal spermato-

- zoa from postmortem rams. *Theriogenology*. 41, 203. <https://www.semanticscholar.org/paper/Physiological-characteristics-of-epididymal-from-Garde-Aguado/fd180c-4d2883a02eae2987a12092cd5ed75ee1b5>
10. Barker, C. A., Gandier, S.C., 1957 Pregnancy in a mare resulting from frozen epididymal spermatozoa. *Can J Comp Med*. 21, 47-51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1614368/>
 11. Jiménez, C., Castillo, J, 2014. Primera preñez en una yegua obtenida en Colombia, como resultado de inseminación con semen congelado obtenido por lavado epididimal. *Referencias para Consultorio MV*. https://www.researchgate.net/publication/281272399_Primer_preñez_en_una_yegua_obtenida_en_colombiacomo_resultado_de_inseminación_con_semen_congelado_obtenido_por_lavado_epididimal
 12. Johnson, L., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Scrutchfield, W. L., 1997. Factors affecting spermatogenesis in the stallion. *Theriogenology*. 48 (7), 1199-1216. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16728209/>
 13. Brito, L., Evaluation of stallion sperm morphology. *Clinical Techniques in Equine Practice* 2007. 6 249 – 64. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1534751607000418>
 14. Hingst, O., Blottner, S., Franz, C., 1995. Chromatin condensation in cat spermatozoa during epididymal transit as studied by aniline blue and acridine orange staining. *Andrologia* 27, 275-279. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8659706/>
 15. Hafez, E.S.E., Hafez, B., 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7 Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 509. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119265306>
 16. Arifiantini, R., Purwantara, B., Yusuf, T., Sajuhi, D., 2010. Effect of different cryoprotective agents on skim milk and dimitropoulos extender for stallion semen cryopreservation. *Journal Indonesian Trop Anim Agric*. 35, 68-74. https://www.researchgate.net/publication/228681403_Effect_Of_Different_Cryoprotective_Agents_On_Skim_Milk_And_Dimitropoulos_Extender_For_Stallion_Semen_Cryopreservation
 17. Heise, A., Kähn, W., Volkmann, D. H., Thompson, P. N., Gerber, D., 2010. Influence of seminal plasma on fertility of fresh and frozen-thawed stallion epididymal spermatozoa. *Animal reproduction science*. 118, (1) 48-53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19592182/>
 18. Mesa, A. M., Henao, G., 2012. Efecto del colesterol y la dimetilformamida sobre parámetros posdescongelación en espermatozoides de caballos criollos colombianos. *Revista MVZ Córdoba*. 17 (1), 2908-2915. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682012000100014&script=sci_abstract&tlng=es
 19. Morillo, A., Pessanha, T., López, M., Rocha A., Peña, F., 2012. Comparison of two freezing extenders for stallion spermatozoa: Caceres and Botucurio®. *Journal of Equine Veterinary Science*. 32 (8), 499-500 https://www.researchgate.net/publication/277509151_Comparison_of_two_freezing_extenders_for_stallion_spermatozoa_Caceres_and_Botucurio
 20. Amann, R., Pickett, B., 1987. Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Journal of equine veterinary science* .7 (3), 145-173. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080687800254>
 21. Hammerstedt, R., Graham, J., Nolan, J., 1990. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *Journal of andrology*. 11, (1): 73-88. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2179184/>
 22. Loomis, P., Graham, J., 2008. Commercial semen freezing: individual male variation in cryosurvival and the response of stallion sperm to customized freezing protocols. *Animal Reproduction Science*. 105 (1), 119-128. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18178040/>
 23. Scherzer, J., Fayer-Hosken, R., Aceves, M., Hurley, D., Ray, L., Jones, L., Heusner, G. L., 2009. Freezing equine semen: the effect of combinations of semen extenders and glycerol on post-thaw motility. *Austrian Veterinary Journal*. 87 (7), 275-279. https://www.researchgate.net/publication/26336669_Freezing_equine_semen_The_effect_of_combinations_of_semen_extenders_and_glycerol_on_post-thaw_motility
 24. Pommer, A., Rutland, J., Meyers, S. A., 2002. The role of osmotic resistance on equine

- spermatozoal function. *Theriogenology*. 58 (7), 1373-1384. https://www.researchgate.net/publication/11074888_The_role_of_osmotic_resistance_on_equine_spermatozoal_function
25. Luyet, B., Hodapp, E., 1938. Revival of frog's spermatozoa vitrified in liquid air. *Experimental Biology Medicine*. 39 3, 433-434. <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3181/00379727-39-10229P>
 26. Lovelock, J., 1953. Het mechanism of the protective action of glycerol against haemolysis by freezing and thawing. *Biochimica et Biophysica Acta*. 11, 28-36. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0006300253900055>
 27. Morris, L., Tiplady, C., Allen, W.R., 2002. The in vivo fertility of cauda epididymal spermatozoa in the horse. *Theriogenology*. 58, 643-646. https://www.researchgate.net/publication/279551970_The_in_vivo_fertility_of_cauda_epididymal_spermatozoa_in_the_horse
 28. Papa, F. O., Melo, C. M., Fioratti, E. G., Dell'Aqua Jr, J. A., Zahn, F. S., & Alvarenga, M. A. (2008). Freezing of stallion epididymal sperm. *Animal reproduction science*, 107(3-4), 293-301. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432008001644>
 29. Martin, J., Klug, E., Gunzell, A., 1978. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*. 27, 47-51. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/289825/>
 30. Pillet, E., Batellier, F., Duchamp, G., Furstoss, V., Vern, Y., Kerboeuf, D., Vidament, M., Magistrini, M., 2008. Freezing stallion semen in INRA96®-based extender improves fertility rates in comparison with INRA82. *Dairy Science & Technology*. 88 (2), 257-265 <https://link.springer.com/article/10.1051/dst:2008002>
 31. De Geoffroy, F. 2015. Freezing of stallion semen. *La jumeterie du Pin*. Conferencia. IFCE. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?sessionid=DA12E94698F1A166089E70A5D63C7363?request_locale=es&recordID=BE2014110111&sourceQuery=&query=&sortField=&sortOrder=&agrovocString=&advQuery=¢erString=&enableField=&agregatorField=&typesresultsField=
 32. Householder, D., Pickett, B., Voss, J., Olar, T., 1981. Effect of extender, number of spermatozoa and hCG on equine fertility. *Journal of Equine veterinary science* 1 (1), 9-13. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080681800111>
 33. Cochran, J., Amann, R., Squires, E., Pickett, B., 1983. Fertility of frozen thawed stallion semen extended in Lactose EDTA egg yolk extender and packaged in 1.0 ml straws. *Theriogenology*. 20 (6): 735-741. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X83901942>
 34. Wockener, A., Schuberth, H., 1993. Freezing of maiden stallion semen-motility and morphology findings in sperm cells assessed by various staining methods including a monoclonal antibody with reactivity against an antigen in the acrosomal ground substance. *Reproduction in domestic animals*. 28 (4), 265-272. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0531.1993.tb00995.x>
 35. Heitland, A., Jasko, D., Squires, E., Graham, J., Pickett, B., HAMILTON, C., 1996. Factors affecting motion characteristics of frozen-thawed stallion spermatozoa. *Equine veterinary journal*. 28, (1) 47-53. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8565953/>
 36. Davies, M., Mina, C., 2003. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. Cambridge, MA, USA: CABI Publishing. Web. 24 June 2015. https://www.researchgate.net/publication/37147290_Equine_reproductive_physiology_breeding_and_stud_management
 37. Kaabi, M., Paz, P., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J. C., Rouissi, H., Anel, L., 2003. Effect of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered post-mortem. *Theriogenology*. 60 (7), 1249-1259. https://www.researchgate.net/publication/5804142_Effect_of_epididymis_handling_conditions_on_the_quality_of_ram_spermatozoa_recovered_post-mortem
 38. Monteiro, G. A., Papa, F. O., Zahn, F. S., Dellaqua Jr, J. A., Melo, C. M., Maziero, R. R. D., Guasti, P. N., 2011. Cryopreservation and fertility of ejaculated and epididymal stallion sperm. *Animal reproduction science*. 127(3-4), 197-201. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21890290/>

39. Badry, D. A., Scholkamy, T. H., Anwer, A. M., Mahmoud, K. G. M., 2015. Assessment of Freezability and Functional Integrity of Dromedary Camel Spermatozoa Harvested from Caput, Corpus and Cauda Epididymides. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*. 44 (1). https://www.researchgate.net/publication/273507277_Assessment_of_Freezability_and_Functional_Integrity_of_Dromedary_Camel_Spermatozoa_Harvested_from_Caput_Corpus_and_Cauda_Epididymides
40. Murad ´as, P.R., Weiss, R.R., Kozicki, L.E., Granemann, L.C., Santos, I.W., Pimpˆao, C.T., 2006. Alguns parˆametros de viabilidade de espermatoz´oides equ´inos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epid´idimo (Some viability parameters from equine spermatozoa harvested by artificial vagina and by epididymal tail washing). *rch. Vet. Sci.* 11, 69–74 <https://www.semanticscholar.org/paper/ALGUNS-PAR%C3%82METROS-DE-VIABILIDADE-DE-ESPERMATOZ%C3%93IDES-Marad%C3%A1s-Weiss/ff4010b5a19d52f665e9b5483fbc90519c8ad-3fb>
41. Holt, W. V., 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal reproduction science*, 62 (1-3), 3-22. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10924818/>
42. Olaciregui, M., Gil, L., Mont´on, A., Luno, V., Jerez, R. A., Marti, J. I., 2014. Cryopreservation of epididymal stallion sperm. *Cryobiology*, 68(1), 91-95. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0011224014000029>
43. Watson, P. F., 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal reproduction science*. 60, 481-492. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432000000993>
44. Castro, J. A., Chac´on, L., 2016. Aspectos generales del proceso de conservaci´on de semen equino: una revisi´on desde la congelaci´on espermática ciencias veterinarias Conexi´on Agropecuaria. 6, 45-64 <https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/conexagro/article/view/54>
45. Blottner, S., Warnke, C., Tuchscherer, A., Heinen, V., TormerORNER, H. 2001. Morphological and functional changes of stallion spermatozoa after cryopreservation during breeding and non-breeding season. *Animal Reproduction Science*. 65(1), 75-88. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11182510/>
46. Muldrew, K., McGann, L. E., 1990. Mechanisms of intracellular ice formation. *Biophysical journal*. 57 (3), 525-532. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006349590825686>
47. Quinn, P. J. (1985). A lipid-phase separation model of low-temperature damage to biological membranes. *Cryobiology*, 22 (2), 128-146. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3920005/>