

Memorias Científicas

AVANCES EN **Medicina Veterinaria**

ISBN: 978-9942-759-54-2





Centro de Investigación
y Desarrollo Ecuador



Centro de Estudios
Transdisciplinarios Bolivia
CET-BOLIVIA®

Memorias científicas

Avances en Medicina Veterinaria



COMPILADORES

Nathalie del Consuelo Campos Murillo

Esteban Mauricio Muñoz León

La presente obra fue evaluada por pares académicos experimentados en el área.

Reservados todos los derechos. Está prohibido, bajo las sanciones penales y el resarcimiento civil previstos en las leyes, reproducir, registrar o transmitir esta publicación, integra o parcialmente, por cualquier sistema de recuperación y por cualquier medio, sea mecánico, electrónico, magnético, electroóptico, por fotocopia o por cualquiera otro, sin la autorización previa por escrito al Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador (CIDE) y de la Universidad Católica de Cuenca.

ISBN: 978-9942-759-54-2

Edición con fines académicos no lucrativos.

Impreso y hecho en Ecuador.

Diseño y Tipografía: Lic. Pedro Naranjo Bajaña.

Fecha de publicación: 7 de noviembre de 2017.



Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador.

Cdla. Martina Mz. 1 V. 4 - Guayaquil, Ecuador.

Tel.: 00593 4 2037524

[http. :/www.cidecuador.com](http://www.cidecuador.com)

Comité editorial

Dr. Enrique Pozo Cabrera Mgs.

Rector.

Dr. Stalin Bernal Tapia Mgs.

Director de Educación Continua.

Ing. Rodrigo Rodríguez Lozano Mgs.

Decano de la Unidad Académica

QF. Nathalie Campos Murillo Mgs.

Sub Decana de la Unidad Académica

Dr. Edy Castillo Hidalgo Mgs.

Director de Carrera de Medicina Veterinaria

Ing. René Orellana Maita Mgs.

Director de Carrera de Ingeniería Agronómica

Ing. Juan Carlos Alvarado Mgs.

Docente

Autores

Andrés Almeida
Carla Berenice Rojas Bedón
Carlos Torres
Cayetano Navarrete-Molina
Diana Magali Macancela Encalada
Elsa J. Molina. M.
Grimanesa Dolores Flores Humanante
Jorge W. Armas C.
José Luis Ríos-Flores
José Ruiz-Torres
Luis Ayala
Manly Enrique Espinosa Benavides
Mercy del Cisne Cuenca Condoy
Nancy M. Cueva S.
Paola J. Lascano A.
Pedro Nieto
Ramiro Rodas
Víctor Raúl Tambo Caraguay

Índice

Alteraciones causadas por bacterias patógenas habituales en el tracto gastrointestinal.....	7
Dr. Manly Enrique Espinosa Benavides. Mgs.	
Ing. Carla Berenice Rojas Bedón	
La huella hídrica física del litro de leche bovina en el norte de México.....	20
Dr. José Luis Ríos-Flores	
M.C. Cayetano Navarrete-Molina	
Dr. José Ruiz-Torres	
Control de mastitis subclínica bovina con una solución de propóleo y matico (piper aduncum).....	37
Mercy del Cisne Cuenca Condoy	
Víctor Raúl Tambo Caraguay	
Diana Magali Macancela Encalada	
Grimanesa Dolores Flores Humanante	
Propóleo como terapia inmunoestimulante en caninos.....	48
Mgs. Dra. Nancy M. Cueva S	
Mgs. Dr. Jorge W. Armas C.	
Mgs. Mvz. Paola J. Lascano A.	
Mgs. Dra. Elsa J. Molina. M.	
Espículas peneanas del cobayo (<i>Cavia porcellus</i>), influencia sobre el comportamiento sexual, fertilidad y calidad espermática.....	62
Almeida Andrés, Msc.	
Ayala Luis, PhD	
Rodas Ramiro, Msc.	
Torres Carlos, Msc.	
Pedro Nieto	

Prólogo

El desarrollo agrario mundial ha venido siendo impactado por los avances tecnológicos y las nuevas tendencias que buscan equilibrar la producción de alimentos con estándares de una eficaz sostenibilidad.

La agricultura latinoamericana de los próximos 25 años, confrontará el gran desafío de garantizar la alimentación de más de 2.500 millones de personas que se agregarán al planeta, en un espacio finito apto para la vida, que requiere del desarrollo inequívoco de sistemas de producción cada vez más eficientes.

Hay que destacar que las tecnologías en el área agrícola se presentan como la aplicación de principios científicos a la resolución de problemas agrarios por excelencia.

El VIII Congreso Internacional de Medicina Veterinaria, realizado en la ciudad de Cuenca entre los días 08 y 10 de noviembre de 2017, constituye un extraordinario aporte al desarrollo agroalimentario mundial y la salud pública, al presentar avances tecnológicos en la materia con el respaldo de reconocidos investigadores y científicos de la región.

Este evento fue organizado por la Unidad Académica de Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria de la Carrera de Medicina Veterinaria y Educación de la Universidad Católica de Cuenca, en coordinación con el Centro de Investigación y Desarrollo Ecuador, y el Centro de Estudios Transdisciplinarios (CET) Bolivia.

Se contó con la participación de un grupo de prestigiosos profesionales de México, Colombia, Uruguay, Argentina y Ecuador, los cuales presentaron 17 trabajos de investigación arbitrados por expertos de las mejores universidades de América Latina, contribuyendo así, con sus conocimientos y experiencias a la consolidación de un sector del desarrollo agrario, representado por las Ciencias Veterinarias.

En este libro se compilan los trabajos presentados y luego de la revisión arbitrada de expertos internacionales, se clasificaron por niveles de interés:

Se trataron las áreas de *Optimización De La Producción Y Reproducción Animal* donde destacan investigaciones sobre: (i) Espículas peneanas del cobayo (*Cavia porcellus*).

De igual manera se presentan avances en *Terapia Asistida con Animales*: (i) Control de Mastitis Subclínica Bovina con una solución de Propóleo y Matico (*Piper aduncum*). (ii) *Propóleo como terapia inmunoestimulante en caninos*

En el área de *Fisiopatología, Farmacología Y Toxicología Veterinaria*: (i) Alteraciones causadas por bacterias patógenas habituales en el tracto gastrointestinal.

También se tratan temas de interés en materia de *Innovación de los Conocimientos Científicos a Incorporar en la Veterinaria*, tal como (i) *La buella hídrica física del litro de leche bovina en el norte de México*

Sirva este libro como un aporte más al desarrollo agroalimentario de nuestra América Latina.

Miguel Ortega
Universidad Central de Venezuela
Facultad de Agronomía

Alteraciones causadas por bacterias patógenas habituales en el tracto gastrointestinal

Dr. Manly Enrique Espinosa Benavides, Mgs.

manlyespinosa@gmail.com

Pontificia Universidad Católica sede Ibarra

Ing. Carla Berenice Rojas Bedón

carli6195@gmail.com

Pontificia Universidad Católica sede Ibarra

Resumen

Una de las principales problemáticas de las empresas avícolas, son las alteraciones causadas por bacterias patógenas habituales en el tracto gastrointestinal. El objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia y los serotipos de las enterobacterias patógenas de las granjas de producción de pollos de Ibarra, mediante aislamiento, extracción del ADN, electroforesis por PCR y RFLP, con la serotipificación posterior que permita iniciar una colección debidamente identificada. Para este trabajo se estudiaron 14 granjas con una capacidad instalada sobre un millón de pollos parrilleros, las mismas que fueron muestreadas del catastro de planteles avícolas de Agrocalidad, tomándose muestras por hisopado cloacal, con los cuales se realizaron los protocolos programados. El 100% de las muestras resultaron positivas para *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, Además, se determinó, que el grado de prevalencia varía de acuerdo al nivel de aplicación de BPAs, piso altitudinal, densidad avícola de la zona, sexo y estado sanitario de la parvada. El reporte de la secuenciación determinó los siguientes serotipos: para *Salmonella* entérica los serotipos Typhimurium y Newport, para *Escherichia coli*, YKUTI707 y YKUTI708.

Palabras claves: Prevalencia, Serotipos, ADN, Gastrointestinal, Secuenciación

Abstract

One of the main problems of poultry companies, are the alterations caused by pathogenic bacteria common in the gastrointestinal tract. The objective of the present investigation was to determine the prevalence and serotypes of the pathogenic enterobacteria of the chicken farms of Ibarra, by means of isolation, extraction of DNA, electrophoresis by PCR and RFLP, with the subsequent serotyping that allows to start a collection properly. Identified for this work, 14 farms with an installed capacity of over a million broiler chickens were studied, the same ones that were sampled from the cadastre of poultry farms of Agrocalidad, taking samples by cloacal swab, with which the programmed protocols were carried out. 100% of the samples were positive for *Salmonella spp.* and *Escherichia coli*, In addition, it was determined that the degree of prevalence varies according to the level of application of BPAs, altitudinal floor, poultry density of the area, sex and health status of the flock. The sequencing report determined the following serotypes: for enteric *Salmonella* Serotypes Typhimurium and Newport; for *Escherichia coli*, YKUTI707 and YKUTI708.

Keywords: Prevalence, Serotypes, DNA, Gastrointestinal, Sequencing.

Introducción

Introducción al problema

La actividad avícola en los últimos años presenta un crecimiento importante dentro de la producción pecuaria nacional, Pérez S. (2012). En base a la información tomada del Sistema de Información del Agro - SINAGAP,

al 2016, tenemos a nivel nacional una producción mensual aproximada de diecinueve y medio millones de pollos de engorde, específicamente en Imbabura se cuenta con una producción de 5,5% del total de pollos de engorde, Espinosa M. (2014).

Debido al aumento de la demanda de carne de pollo en Ecuador, es de gran importancia buscar estrategias para obtener una producción eficiente, para ello se debe tomar en cuenta que una de las principales problemáticas de estas empresas avícolas, son las alteraciones gastrointestinales causadas por enterobacterias patógenas, que afectan directamente los índices de eficiencia y parámetros productivos en esta especie. Se debe recordar que la salud intestinal permite que los pollos de engorde alcancen el máximo rendimiento con el mínimo costo. Evitando así pérdidas económicas para los productores (Canseco, 2012).

Arzálluz (2005), realizó una investigación similar en Venezuela, en la cual se concluye que “se identificó cinco diferentes serotipos. De los cuales, 93% correspondieron a los serotipos *S. paratyphi B* y *S. heidelberg*, considerados potencialmente patógenos para el ser humano, lo que, representa un riesgo para la de salud pública, inclusive hasta comprometer la vida de las personas expuestas”.

Carranza (2012), realizó una investigación en la cual, ejecutó un estudio de tipo descriptivo de pollos de engorde, obteniendo 108 colonias sospechosas de *E. coli*, de las cuales, 41 resultaron positivas a *Escherichia coli*. El gen de mayor presentación fue el *cvaC*, encontrándose en el 53.7% de las cepas de *E. coli* aisladas.

Importancia del problema

Para controlar esta problemática, el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP, 2005), establece que el conocimiento sobre el estado sanitario de las parvadas será determinante para poder elaborar estrategias y planes de prevención y/o tratamiento sanitario, protegiendo la salud pública de posibles consecuencias por la diseminación de bacterias zoonóticas. Según el censo del Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria (SESA) elaborado por Agrocalidad, (2006), Ibarra tiene el mayor porcentaje de producción de pollos broiler en la provincia de Imbabura. Por lo que es importante conocer el serotipo y establecer la prevalencia de las principales enterobacterias patógenas en la producción de pollos de engorde, pudiendo de esta forma elaborar planes de control para este tipo de problemas sanitarios, consiguiendo mejorar los parámetros productivos además de ofrecer un producto saludable para el consumidor.

Metodología

Muestreo

En este estudio de tipo descriptivo - transversal, la determinación de la muestra, se realizó mediante métodos de muestreo no probabilísticos, basados en principios de Hernández R. (2014), de un universo de 16 granjas avícolas de producción de pollos de engorde del Cantón Ibarra, catastradas en la base de datos de Agrocalidad (año 2016), se procedió a realizar muestreo en 14 de ellas (1'270.000 pollos producidos en granjas con registro formal). A través de hisopado cloacal, se tomaron dos hisopos (machos y hembras) de cada plantel, de la última semana productiva, estas muestras se colocaron en refrigerante y fueron trasladadas al laboratorio de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la PUCESI para el respectivo análisis.

Análisis microbiológico y aislamiento de colonias

Empleando una cámara de flujo laminar, se realizó la siembra de las muestras en placas petrifilm 3M™ Petrifilm™ específicas para *E coli* y 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express SALX, se tomó 1ml de cada una de los hisopos y se dispersó directamente en las placas para crecimiento de las bacterias en estudio, luego se

procedió a incubarlas en estufa a 35°C por 48 horas para el posterior recuento del crecimiento de microorganismos. Para la determinación de la prevalencia de *Salmonella spp.* y *E. coli*, se realizó el conteo de UFC (Unidades Formadoras de Colonias).

Para el aislamiento de las colonias, se tomó una colonia de *Salmonella spp.*, y una colonia de *E. coli* por cada granja. Se auto clavarón los tubos con 5ml de caldo de cultivo (Nutrient Broth) de formulación estandarizada FDA/BAM (Foods and Drugs Administration/Bacteriological Analytical Manual) cubiertos de algodón a 121°C y 1.5 atm por 45 minutos.

A continuación, se trabajó en un ambiente completamente estéril para colocar las colonias de *Salmonella spp.* y *E. coli* con ayuda de la flama de un mechero y asa estéril en los tubos con caldo nutritivo. Posteriormente se incubó durante 48 horas.

Extracción y amplificación de ADN

Para, aislar y purificar la cadena el ácido desoxirribonucleico, se procedió a realizar la extracción y amplificación del ADN. Tomando las colonias aisladas se extrajo su material genético, mediante el kit de extracción de ADN UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit (Mo Bio® laboratories Inc.) el cual contiene los reactivos MD1, MD2, MD3, MD4, MD5.

Posteriormente para obtener varias copias del gen 16S ARN ribosómico se realizó la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se usaron partidores universales para el dominio bacterias, 907r (926r) y P3 (341f). El volumen total del PCR fue de 25 µl, para obtener una concentración ideal de ADN de 10n molar/µL.

Electroforesis en gel de agarosa para la PCR

Para la visualización del peso molecular de los fragmentos amplificados. Se procedió a la preparación del gel de agarosa al 1%, con 50ml de TAE 1x, se sometió el preparado al plato calentador agitador a temperatura máxima y velocidad media hasta lograr la cristalinidad, con 5 µL de Diamond Nucleic Acid Dye, se identificaron las bandas en el transiluminador UV LabNet™ Inc. Para la visualización de la amplificación del gen ADNr 16s en el gel de agarosa, se tomó 4 µL de los productos de la PCR y se sometió el mismo, a la cámara de electroforesis a 90V (Voltios) por 45 minutos con un marcador de 100 pares de bases.

Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

Para la determinación de la similitud genética de las colonias se procedió a realizar RFLP, para lo cual se usó la Enzima de restricción Anza™ 11 EcoRI, colocándolo en tubos junto con 2µL de Anza™ 10X Red Buffer más 1µL del producto de la PCR, y finalmente 16µL de agua libre de nucleasas, se sometió la solución al vortex para mezclar todos los reactivos.

Electroforesis en gel de agarosa para la RFLP

Se procedió a la preparación del gel de agarosa al 1%. Para la visualización de la acción de las enzimas de restricción sobre el gen ADNr 16s en el gel de agarosa, se tomó 4 µL de los productos del RFLP con 0.4µL de Anza™ 10X Buffer y se sometió el mismo, a la cámara de electroforesis a 90V (Voltios) por 45 minutos, se realizó la observación en el transiluminador UV LabNet™ Inc., para comprobar el tamaño de los cortes realizados por las enzimas en el producto de PCR, en relación al marcador de 100 pares de bases.

Prevalencia de enterobacterias

A. Prevalencia de *Salmonella* spp.

- En cuanto a la prevalencia de *Salmonella* spp., en las granjas del cantón Ibarra, se encontró en todas las granjas esta bacteria, con un promedio general de 128 UFC y un rango que va desde 49 UFC hasta 650 UFC.

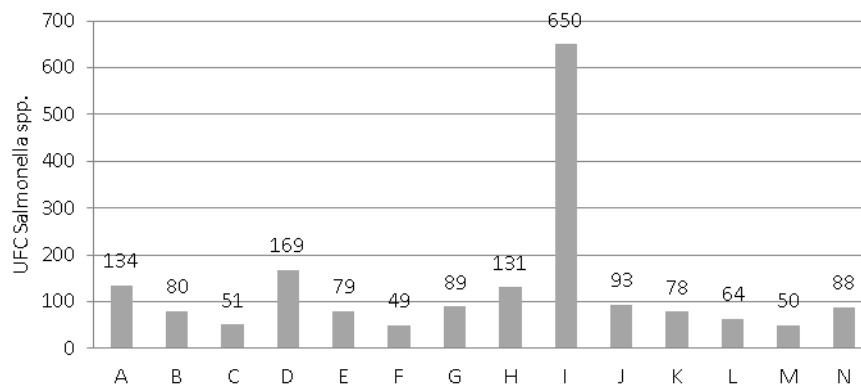


Gráfico 1.

Prevalencia de *Salmonella* spp por granjas.

Nota: Promedio de UFC de *Salmonella* spp. encontradas en las muestras tomadas de las distintas granjas.

El gráfico 1, muestra la prevalencia de *Salmonella* spp. encontradas en todas las granjas en estudio, la prevalencia encontrada se presenta en un rango que va desde 49 a 169 UFC, salvo la granja (I) con 650 UFC, al momento de la toma de la muestra, la parvada presentó un cuadro crítico de diarrea debido a coccidiosis. Lo que propicia un ambiente adecuado para la proliferación de bacterias patógenas. Yuño & Gorgoza (2008), en su investigación, mencionan que la coccidiosis causa en las aves depresión y graves lesiones en el intestino, dando lugar a un desbalance bacteriano entérico.

- De cada granja se tomaron muestras, tanto de pollos machos como hembras, y se pudo detectar que existe diferencia en cuanto a la prevalencia de *Salmonella* spp., por sexo.

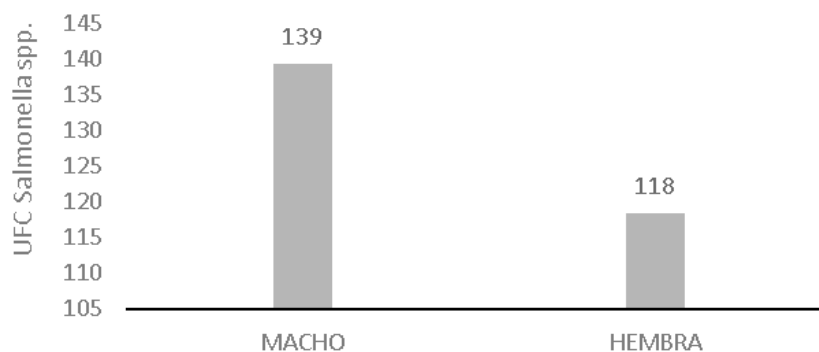


Gráfico 1.

Prevalencia de *Salmonella* sp. de acuerdo a género

Nota: Número Promedio de UFC encontrados entre machos y hembras.

Como indica el gráfico 2, según el promedio de los valores obtenidos en el conteo de UFC de *Salmonella spp.*, existe prevalencia de *Salmonella* tanto en machos como hembras. No obstante, existe mayor prevalencia en machos, sin encontrar comentarios o criterios bibliográficos con respecto a este comportamiento en particular. A través de la prueba T Student en nivel de significancia $\alpha = 0.05$ se verificó que existe diferencia estadística entre los conteos de UFC para esta variable de género

- Se analizó el promedio de UFC encontrados por piso altitudinal.

Como muestra el gráfico 3, se determinó que, a los 600 msnm, la prevalencia de *Salmonella spp.*, es mayor, este es el piso altitudinal más bajo, se caracteriza por tener la temperatura y la humedad relativa más altas que los sitios de mayor de 2000 m.s.n.m.

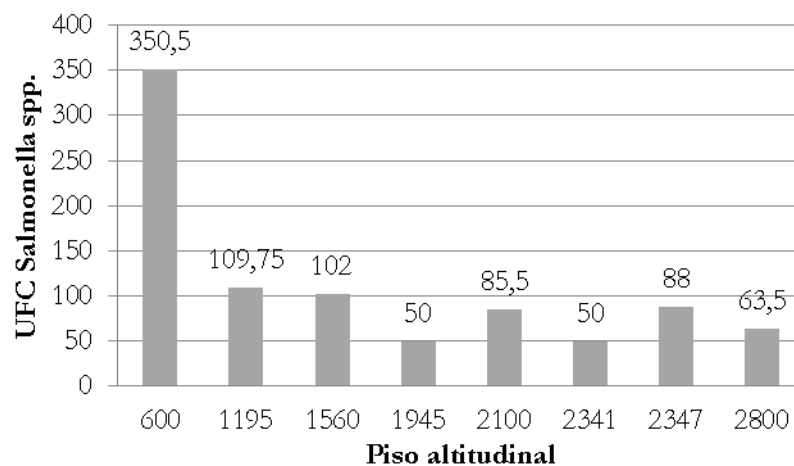


Gráfico 3.

Promedio de UFC encontrados por piso altitudinal

Según Chacón, Steffensen, S., Colina, Y., Rojas, J y otros (2010), cuando la temperatura ambiental excede las zonas de confort, las aves se vuelven susceptibles a sufrir por estrés calórico, lo cual, según Tejeda, Tellez, & Galindo (1997), hace más evidente la aparición de problemas de salud y producción.

Además, según Burkholder, Thompson, Applegate, & Patterson (2008), la constante variación en temperatura durante el día, predispone a la aparición de enfermedades metabólicas como ascitis, muerte súbita y mayor ocurrencia de problemas intestinales por proliferación de bacterias como *Salmonella spp.*

Como se observa en el gráfico 4, se encontró que los puntos relacionados, se acercan a la línea de tendencia, el valor r es mayor a 0.5 y el coeficiente de correlación es -0.80, indicando que existe una asociación lineal negativa significativa, de tal forma que, a mayor altitud se halló menor prevalencia de UFC de *Salmonella spp.*, debido a que la temperatura y humedad relativa ambiental más bajas de estas zonas, no predispone a los problemas antes mencionados.

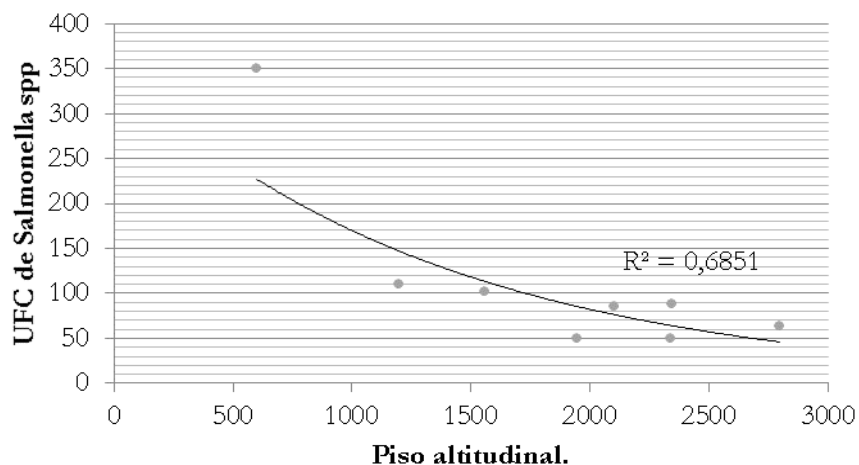


Gráfico 4.

Correlación entre promedio de UFC de *Salmonella sp.* y piso altitudinal

B. Prevalencia de *Escherichia coli*.

- De igual manera se encontró presente en todas las granjas esta bacteria, con un rango que va desde 64 a 180 UFC. a excepción de la granja (I), que presenta un valor de 800 UFC el mismo que esta fuera del comportamiento de las demás granjas- (Gráfico 5)

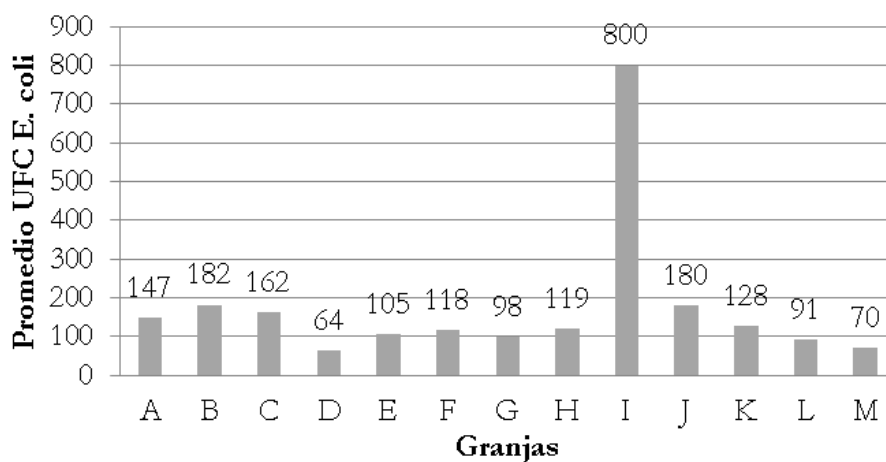


Gráfico 5.

Prevalencia de *Escherichia coli*. por granjas

Nota: Promedio de UFC de *Escherichia coli*, encontradas en las muestras tomadas de las granjas.

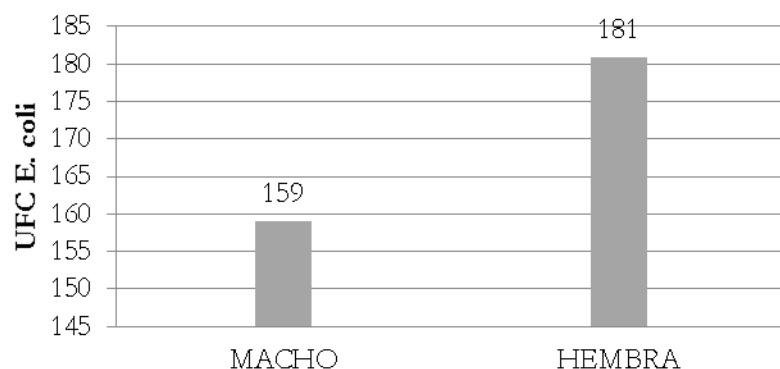


Gráfico 6.

Prevalencia de *Escherichia coli*, de acuerdo a género

Nota: Número Promedio de UFC de *Escherichia coli*, encontrados entre machos y hembras.

Como muestra el gráfico 6, tras analizar los promedios de UFC de *E. coli*, para machos y hembras, se encontró que al contrario que con *Salmonella spp.*, las hembras presentaron mayor índice de prevalencia de UFC para esta bacteria con una diferencia estadística significativa (T Student significancia $\alpha = 0.05$).

- Promedio del número de UFC encontrados, analizados por piso altitudinal

Como se observa en la Gráfico 7, se encontró que las granjas ubicadas a 600 msnm tienen mayor prevalencia de *E. coli*. Chacón, et al., (2010) afirman que, cuando “la temperatura ambiental excede las zonas de confort del pollo, las aves se vuelven susceptibles a desarrollar estrés calórico” lo cual, según Tejeda, Tellez, & Galindo (1997) hace más evidente la aparición de problemas de salud y producción.

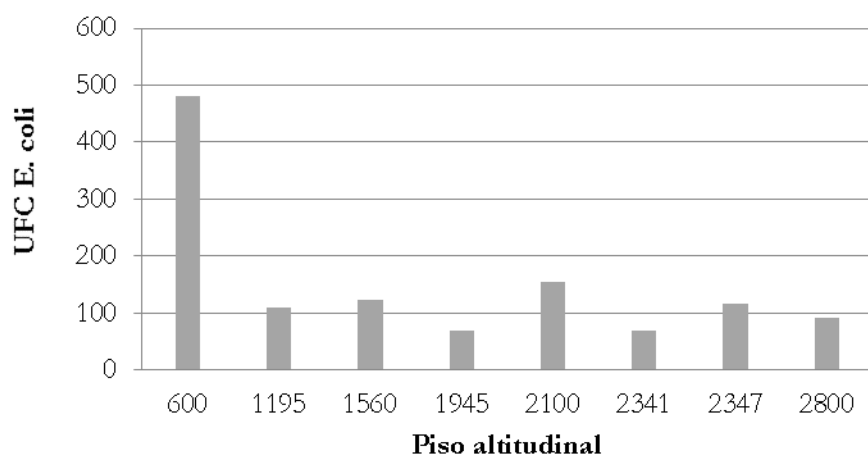


Gráfico 7.

Promedio por piso altitudinal de UFC de *Escherichia coli*

Para verificar el grado de asociación de las variables piso altitudinal y UFC de *Escherichia coli*, se realizó la gráfica de correlación exponencial, observándose en la Gráfico 8, que los puntos se acercan a la línea de tendencia, el valor r es 0.5 y el coeficiente de correlación es -0.73, lo que indica una asociación lineal negativa significativa, de tal forma que, a mayor altitud se halló menor prevalencia de UFC de *E. coli*.

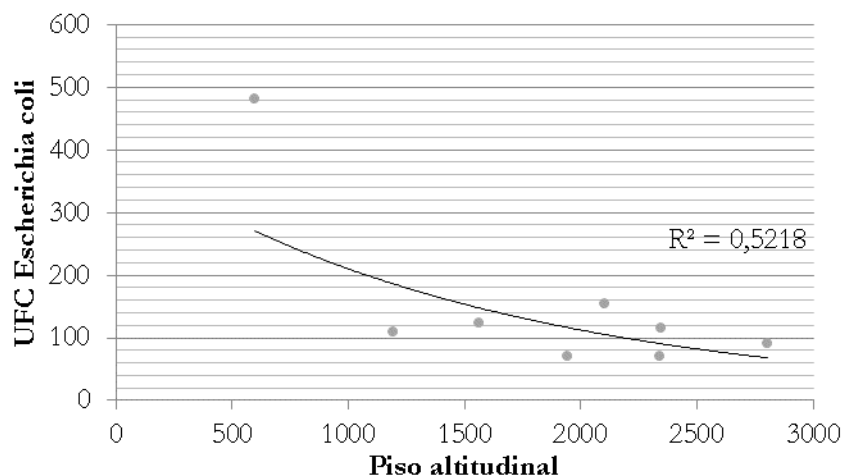


Gráfico 8.

Correlación entre promedio de UFC de *Escherichia coli.* y piso altitudinal.

- Identificación de *Salmonella spp.*, por PCR.

Tras la amplificación del gen 16S por PCR en gel de agarosa al 1% y en base al marcador de 100pb de promega, se obtuvo un fragmento de aproximadamente 340pb, como se indica en la Figura 1.

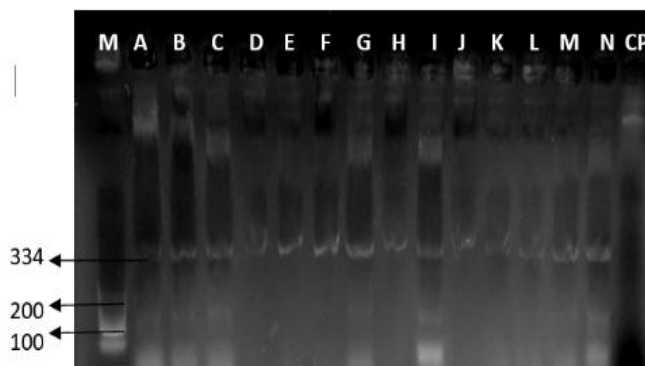


Figura 1.

Amplificación por PCR de *Salmonella spp.*

Nota: Fotografía de la amplificación entre 300 y 400 pares de bases para *Salmonella spp.*, Gen 16S; Ladder 100pb ; gel agarosa 1%.

Tomando como referencia la investigación de Lin et al. (2004), se trata de *Salmonella enteritidis*, pues tras la amplificación del mismo gen, se encontró 340pb para este serotipo.

Además, en la investigación realizada por Helberg, Haney, Shen, Cheng, Williams, & Martins (2012), se determinó que la amplificación del gen 16S para *Salmonella entérica* genera de 300 a 497 pb para la región V3. Lo cual indica que el fragmento de ADN aislado de las colonias indica que se trata de *Salmonella enteritidis*,

- Identificación de *Salmonella spp.*, por polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción, RFLP.

En este caso se determinó que existen dos serotipos de *Salmonella spp.*, pues el corte que se realiza en las muestras A, B, C, D, E, F, J y K tiene mayor peso molecular que el que se realizó en las

muestras G, H, I, L, M, N, se puede verificar un corte distinto. (Figura 2).

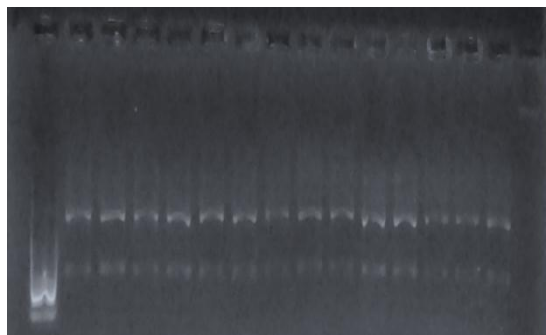


Figura 2.

Identificación por RFLP de *Salmonella spp*

Nota: RFLP *Salmonella spp.*, Enzima Anza™ 11 EcoRI; Ladder 100pb gel agarosa 1 %

- Identificación por PCR de *Escherichia coli*. Al amplificar el gen 16S región V3 del ADN de las muestras de *Escherichia coli*. En relación al marcador de 100pb de promega, se obtuvo una amplificación entre 300 y 400 pares de bases (Figura 3).

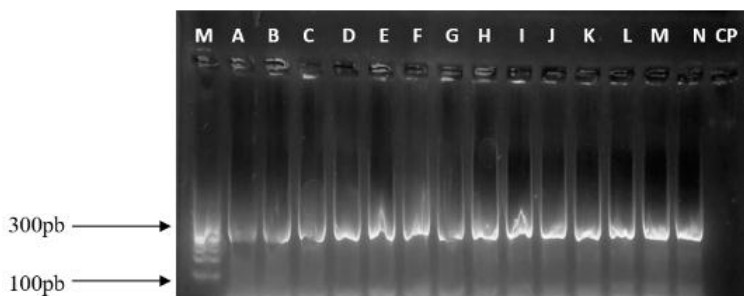


Figura 3.

Amplificación por PCR de *Escherichia coli*

Nota: PCR para *Escherichia coli*; Ladder 100pb; Control positivo ADN.

- Identificación por RFLP de *Escherichia coli*. Como se verifica en la Figura 4, en las muestras A, B, C, D, E y F la enzima Anza™ 11 EcoRI ha realizado tres cortes y en las muestras G, H, I, J, K, L y M, dos cortes, con lo cual se puede determinar que se han encontrado dos serotipos distintos de *Escherichia coli*.

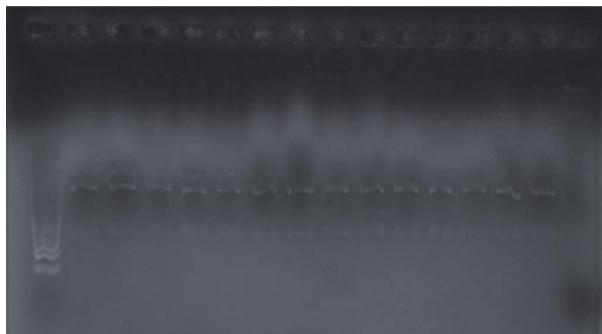


Gráfico 2.

Identificación por RFLP *Escherichia coli*

Nota: RFLP *Escherichia coli*; Enzima Anza Ecori; Ladder 100pb ; gel agarosa 1%.

- Identificación de *Escherichia coli* por secuenciación

Para la determinación específica de los serotipos de *Escherichia coli* encontrados, se enviaron las muestras a través de la compañía de secuenciación MACROGEN con la cual se determinó que en los planteles avícolas de cantón Ibarra existen dos serotipos de *Escherichia coli*, los cuales se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1.

Serotipos de *Escherichia coli* del cantón Ibarra

Serotipo	Número de pares de base región V3	Porcentaje de similitud	ID Secuencia
<i>Escherichia coli</i> YKUTI708	402	100%	MF356959.1
<i>Escherichia coli</i> YKUTI707	361	100%	MF356955.1

Fuente: Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) - Macrogen Inc.

- Identificación por secuenciación de *Salmonella spp.*

Se determinó que en los planteles avícolas de cantón Ibarra existen dos serotipos de *Salmonella spp.* los cuales se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2.

Serotipos de *Salmonella spp.*, del cantón Ibarra

Serotipo	Número de pares de base región V3	Porcentaje de similitud	ID Secuencia
<i>Salmonella typhimurium</i>	402	100%	MF356959.1
<i>Salmonella Newport</i>	361	100%	MF356955.1

Fuente: Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) - Macrogen Inc.

“En México los serotipos más frecuentemente aislados entre 1972 y 1999, son, en orden decreciente, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Derby*, *Salmonella Agona* y *Salmonella Anatum*” (Gutiérrez, 2008).

Conclusiones

- Existe prevalencia de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, pues el 100% de las muestras de los planteles avícolas del cantón Ibarra resultaron positivas.

- En la gráfica de correlación exponencial entre las variables piso altitudinal y prevalencia de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* se encontró que a mayor altitud, existe menor prevalencia de estas bacterias debido a que mayor temperatura y humedad relativa ambiental favorecen su proliferación.
- Existe prevalencia de *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, tanto en machos como hembras. No obstante, la prevalencia de *Salmonella spp.* de machos es 10% mayor que en hembras, al contrario la prevalencia de *Escherichia coli* es 7% mayor en hembras sobre la variable machos.
- En los planteles avícolas del cantón Ibarra se encontró *Salmonella entérica* serovar *Typhimurium* y *Salmonella entérica* serovar *Newport*. Y *Escherichia coli* YKUT1707 y YKUT1708.

Agradecimiento

Un agradecimiento muy significativo de parte de los autores, para los profesores encargados de los laboratorios de microbiología y biotecnología, de la Escuela de ciencias agrícolas y ambientales y al Centro de investigaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, por todo el apoyo brindado en todas las fases de la presente investigación.

Además nuestro sentimiento de gratitud a los responsables de las granjas avícolas del Cantón Ibarra que prestaron la apertura y apoyo necesarios, así como al personal técnico de Agrocalidad, por su acompañamiento y ayuda constante para el fácil ingreso a los planteles avícolas.

Referencias

- Agrocalidad (2000). *Agrocalidad*. Recuperado de: http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_de_prevenin_de_influenza_aviar.pdf
- Agrocalidad (2006). *Censo SESA*.
- Agrocalidad. (2016). *Planteles avícolas funcionales*. Catastro de Granjas Avícolas. Ibarra.
- Aguavil, J. (2012). *Evaluación del efecto de un probiótico*. Santo Domingo: ESPE.
- Andrade, J. (2016). *Efecto de los metales pesados sobre la microbiota acuática bacteriana en el río guayllabamba en el sector de la comunidad corazón del chontal-intag*. Imbabura, Ecuador: PUCESI.
- Aryal, S. (2015). *Microbiology info*. Recuperado de: <http://www.microbiologyinfo.com/polymerase-chain-reaction-pcr-principle-procedure-types-applications-and-animation/>
- Arzálluz, A. M. (2005). *ULA*. Recuperado de: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28382/2/art12.pdf>
- Barroeta, A. (2016). *UCLM*. Recuperado de: https://www.uclm.es/profesorado/produccionanimal/ProduccionAnimalIII/GUIA%20AVICULTURA_castella.pdf
- Burkholder, K., Thompson, K., Applegate, T., & Patterson, J. (2008). *NCBI*. Recuperado de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18753440>

Canseco, L. (2012). *elsitioavicola*. Recuperado de: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2261/amenazas-para-la-integridad-intestinal-de-las-aves/>

Carranza, C. (2012). *Scielo*. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172012000200011&script=sci_arttext

Chacón, T., Steffensen, S., Colina, Y., Rojas, J., Serpa, M. R., Oliveros, I., y otros. (2010). *Scielo*. Recuperado de: http://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/37887690/Zootecnia_Trop._28_1_93-100._Chacon_et_al._2010.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1496784457&Signature=tq4%2BB0qZy1SRbCz7ZoP6XIEbapo%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filenam

CONAVE. (2013). *CONAVE*. Recuperado de: <http://www.conave.org/upload/informacion/Estadisticasavicolas.pdf>

Dione, M. (2009). *Pubmed*. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19903412>
dspace2015

El Sitio Avícola. (2012). El Sitio Avícola. Recuperado de: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2213/tendencias-avacolas-mundiales-2012-produccion-de-pollo-en-america-superara-las-40-millones-de-toneladas-en-2013/>

ESPAC. (2010). ESPAC. Recuperado de: http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Presentaciones/espac_2010.pdf

Espinosa, M. (2014). *Análisis del sistema de buenas prácticas avícolas como estrategia de productividad y competitividad en dos granjas de producción de pollo parrillero del cantón Ibarra*. Ibarra: Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra

FAO. (2012). *FAO*. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/012/a1250s/a1250s17.pdf>

Gonzales, B. (2012). *Portal veterinario*. Recuperado de: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/9117/actualidad/que-factores-contribuyen-a-la-presencia-de-campylobacter-en-pollos.html>

Gutiérrez, A. (2008). *Scielo*. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0301-50922008000100007&script=sci_arttext&tlng=pt

Hellbergd, Haney J, Shen Y, Cheng Y, Williams M, Martin B, (2012). *Development of a custom 16S rRNA gene library for the identification and molecular subtyping of Salmonella enterica* Author links open overlay panelRosalee ,
Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701212003028>

Hernández, R. (2014). *Metodología de la investigación*. México D.F, México: McGraw Hill.

Herrero, F., & Cuesta, M. (S/F). *Introducción al muestreo*. Oviedo.

Karp, G. (2011). *Biología celular y molecular*. México D.F, México: McGraw Hill.

MAGAP. (2005). *MAGAP*. Madrid, España.

OMS. (2016). *WHO*. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

Pérez, S. (2012). *Repositorio*. Recuperado de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1433/1/105466.pdf>

Revolledo, L. (2012). *Actualidad avipecuaria*. Recuperado de: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/salmonelosis-en-las-aves-parte-II-pulorosis-y-tifoidea-aviar.html>

Rodicio, M. d. (2015). *Elsevier*. Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-identificacion-bacteriana-mediante-secuenciacion-del-13059055>

SINAGAP. (2016). *SINAGAP*. Recuperado de: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/resultados-censo-nacional/file/591-reporte-de-resultados-censo-nacional-completo>

Tejeda, A., Tellez, G., & Galindo, F. (1997). *FAO*. Recuperado de: http://agris.fao.org/agrissearch/search.do;jsessionid=672db744d4167457db531d4c9ccaebb4?request_locale=es&recordID=MX1998A00844&sourceQuery=&query=&sortField=&sortOrder=&agrovocString=&advQuery=¢erString=&enableField=

Yüño, M., & Gorgoza, L. (2008). *Coccidiosis aviar: respuesta inmune*. Buenos Aires, Argentina: UNCPBA.

Zambrano, H. (2013). *Scielo*. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v24n3/a10v24n3.pdf>

La huella hídrica física del litro de leche bovina en el norte de México

Dr. José Luis Ríos Flores

Universidad Autónoma Chapingo

Correo: j.rf2005@hotmail.com

M.C. Cayetano Navarrete Molina

Universidad Autónoma Chapingo

Dr. José Ruiz Torres

Universidad Autónoma Chapingo

Resumen

El aumento previsto en la producción y consumo de productos animales es probable que ponga más presión sobre los recursos de agua dulce del mundo. El sector ganadero destaca por sus aportes a los problemas ambientales, resaltando el consumo de agua y la emisión de gases de efecto invernadero, relacionado con la escasez y contaminación del agua y contaminación del aire. Este trabajo determinó la ecuación matemática explícita de la huella hídrica física del litro de leche (HH_{FL}), mediante un pensamiento matemático-lógico-analítico-sintético y se aplicó a las características concretas del sector productor lácteo bovino en la Comarca Lagunera, México (CL). Encontrándose que para la CL en 2016, se requirieron de $3,345 \text{ m}^3 \text{ L}^{-1}$ de leche. Estos resultados otorgan bases a las instituciones tomadoras de macro-decisiones económicas, para asignar el escaso recurso agua de la mejor manera y se tenga como objetivo primordial, la sostenibilidad del sector lácteo en el largo plazo.

Palabras claves: Sustentabilidad láctea, Agua, Productividad, Impacto ambiental

Abstract

The expected increase in production and consumption of animal products is likely to put more pressure on the world's freshwater resources. The livestock sector stands out for its contributions to environmental problems, highlighting the consumption of water and the emission of greenhouse gases; related to water scarcity and pollution and air pollution. This work determined the explicit mathematical equation of the physical water footprint of the liter of milk (PWF_L), using mathematical-logical-analytical-synthetic thinking and applying it to the specific characteristics of the bovine dairy sector in the Comarca Lagunera, Mexico (CL). Finding that for the CL in 2016, $3,345 \text{ m}^3 \text{ L}^{-1}$ of milk were required. These results give bases to the institutions that take macro-economic decisions, to assign the scarce resource water in the best way, and to have as its primary objective, the sustainability of the dairy sector in the long term.

Keywords: Dairy sustainability, Water, Productivity, Environmental impact

Introducción

En un futuro aumentará significativamente nuestra dependencia de los recursos hídricos, originando problemas relacionados con la seguridad alimentaria y la sostenibilidad ambiental (Alcamo *et al.* 2003). En este sentido, el concepto de Huella Hídrica (HH), fue presentado en 2003 por Hoekstra y también fue desarrollado por Chapagain y Hoekstra (2013). El tamaño y las características de la HH varían en los tipos animales y sistemas de producción (Makonnen y Hoekstra 2010). Considerando al sector ganadero como un importante

contribuyente a los problemas ambientales incluyendo degradación del suelo, cambio climático, contaminación del aire, escasez y contaminación del agua, y pérdidas de biodiversidad (Scope, 2010).

La variable que más aporta a la huella hídrica física del litro de leche (HH_{FL}) es la producción de forrajes, para alimentar el ganado y se relaciona estrechamente con el concepto de la productividad física del agua, este valor depende de muchos aspectos tales como la especie, variedad, sistema de riego, tipo de suelo, la disponibilidad de agua y el clima (Kijne *et al.* 2003, Pfister y Bayer 2014). Para poder determinar la HH física en los cultivos forrajeros, Ríos-Flores *et al.* (2015, 2016) emplearon índices de eficiencia física, expresada en $kg\ m^{-3}$.

La agricultura, en sentido amplio incluido el sector pecuario, no es más que la materia prima donde actúan los principios, procedimientos y bagaje propios de la ciencia económica, convirtiéndose así en la rama denominada Economía Agrícola, la cual se encargará de la asignación de recursos escasos que tienen usos diferentes y por tanto excluyentes entre sí, siempre en aras de la maximización de logros u objetivos, siendo la eficiencia la primera de las facetas que la Economía Agrícola debe cubrir, entendida ésa eficiencia, como el hacer la mayor cantidad posible de producto, usando la menor cantidad posible del determinado recurso utilizado .

La importancia del sector ganadero en la contaminación y sobreexplotación del agua, está relacionado con el agua destinada al consumo y a los servicios de mantenimiento de los animales, a la elaboración de alimentos, la contaminación del agua por desechos y la modificación de los flujos en la tierra debido a la sedimentación y la conversión del uso de la tierra (Steinfeld *et al.* 2009). En este contexto, la distribución principal en el uso del agua por la ganadería está dada por la consumida en forma libre (agua de bebida) y la ingerida de manera indirecta a través de los alimentos, principalmente forrajes (Sánchez *et al.* 2014), dependiendo de esta la salud, eficiencia de los parámetros de interés zootécnico, así como para la composición de la leche (Revelli *et al.* 2005).

Los cálculos de cuánta agua se requieren para producir un kilo de leche siguen siendo escasos. Y la información disponible debe mostrarse a la sociedad y a los administradores de los recursos hídricos (Palhares y Pezzopane 2015). Encontrando, como ya se mencionó, que la parte principal del agua consumida parece provenir de agua utilizada para la producción de alimento para las vacas (Grastig *et al.* 2010).

Para producir un litro de leche se necesitan 1,020 litros en promedio a nivel mundial (Hoekstra 2012). Al realizar una evaluación comparativa del consumo de agua de los sistemas de producción de leche bovina en 60 regiones lecheras de 49 países, encontraron que los litros de agua por kilogramo de leche corregida por energía ($L\ Kg\ LCE^{-1}$) osciló entre los 739 y 5,622 L con una media global de 1,833 L. Considerando que el factor clave es el forraje, el cual representa el 94 – 99 % del índice (Sultana *et al.* 2015).

Por tanto, el uso del agua en las diferentes ramas económicas, debe contar con indicadores numéricos que señalen de manera clara el grado de productividad con que se usa esa agua en cada rama así como indicadores que señalen la eficiencia con que ésta es utilizada, para así poder comparar entre sí esos indicadores propios de cada actividad económica, y, en principio, saber dónde, en que rama económica es usada el agua de una manera más productiva, más eficiente, y con base en el objetivo que en la producción se pudiera tener (el uso sostenible del recurso en el largo plazo, la maximización de la producción física, la maximización económica mediante la obtención de la mayor cantidad de ganancia, la maximización del empleo...etc.), se tendrán más alternativas de hacer una asignación más o menos adecuada de ese escaso recurso hídrico.

Importancia del problema

La escasez de agua en el mundo y particularmente en las zonas áridas, cada día se ve agravada por la necesidad de producción de alimentos de origen vegetal y animal, es por eso que es de vital importancia la generación de modelos matemáticos que nos proporcionen los elementos necesarios para que los tomadores de decisiones, cuenten con los elementos suficientes y puedan desarrollar apropiadamente su trabajo.

El problema en el que se sitúa el tema de la huella hídrica física del litro de leche, esto es, de la cantidad de agua que se usa en la producción de un litro de leche, es de dos tipos, el primero, es que si bien ya ha sido retomado su estudio por investigadores, no se cuenta a la fecha con un modelo matemático explícito que señale de manera clara la ecuación matemática en la que la variable de “Y” es decir la huella hídrica física de un litro de leche, aparezca como función de toda una serie de variables independientes como la cantidad, calidad y composición de los forrajes que el ganado bovino lechero consume día a día, la cantidad de agua que se demanda en la producción de esos alimentos, la eficiencia de la conducción en la red hidráulica que irriga el agua que es usada en la producción de los forrajes, de la lámina de riego propia de cada cultivo, el sistema de producción de leche, la cantidad de agua que bebe el ganado, la cantidad de agua que se usa en servicios diversos en la producción, etc.,

En segundo lugar, para el caso de la principal cuenca productora de leche bovina en América Latina, la CL, se desconoce la cantidad de agua que demanda la producción de un litro de leche, por ello, en primer lugar, la determinación de un modelo matemático explícito para la huella hídrica física de un litro de leche bovina, y en segundo lugar, la determinación de esa HH en la CL, es un importante y necesario primer paso para contar con indicadores que señalen con que eficiencia y con qué productividad se usa el agua en el sector lácteo bovino, para posteriormente, en otros estudios, para cada una de las restantes cuencas lecheras del país, determinar, mediante su comparación en contra de los indicadores de CL, generar conocimiento que indique en dónde es que el agua está siendo usada de la mejor manera en la producción láctea.

La meta-objetivo general es determinar la ecuación matemática explícita de la huella hídrica física del litro de leche “ HH_{FL} ”, es decir, el modelo que permita conocer cuántos metros cúbicos de agua se usan en la producción de un litro de leche en función de una serie numerosa de variables independientes que intervienen en la producción lácteo –bovino específicamente. La meta-objetivo particular es la aplicación del modelo a las características concretas del sector productor lácteo bovino específico al Sistema Especializado productor de leche bovina de la CL, en el Norte de México.

Metodología

Razonamiento matemático-lógico-analítico-sintético

Se utilizó el procedimiento metodológico del pensamiento matemático-lógico-analítico-sintético reseñado por Descartes (2010).

La fase metodológica *matemática* consistió en visualizar a la HH_{FL} , a la que se denominó “ $HH_{FL} = Y$ ” (medida como la cantidad de metros cúbicos de agua usada en la producción que fueron necesarios para producir un litro de leche). Con base en la segunda parte de la obra de Descartes (2010), metodológicamente, se refirió la HH_{FL} , en un primer momento, a proposiciones más simples y dadas por verdaderas, es decir, que la HH_{FL} , en principio, no era otra cosa que una división, un cociente, formado por el volumen de agua consumido a lo largo de la vida del bovino entre lo que de leche producía ese bovino a lo largo de su vida.

Luego, cada una de esas dos proposiciones simples que formaban el denominador, se volvieron a plantear y replantear en verdades conocidas, por ejemplo, que el numerador del cociente, no era otra cosa más que la suma del volumen de agua que el bovino consumió en su etapa juvenil cuando aún no producía leche y sus necesidades energéticas eran pocas más el que consumió cuando ya estaba produciendo leche, a su vez, cada una de estas dos etapas de la vida del bovino, se observó que en ambas el animal comía (aunque en diferentes cantidades y diferentes alimentos), bebía y se le daban servicios, por lo que en cada etapa se planteó que el agua consumida era la suma del agua consumida en forma los alimentos base de su diferente dieta, más el volumen de agua que el animal bebió a lo largo de cada etapa de su vida más el agua que se utilizó en servicios diversos en la granja, como lavado de pisos y lavado de ubres, y de nueva cuenta cada uno de esos tres componentes que arrojan el volumen de agua consumido en la vida del animal, se volvió a replantear en términos más simples y conocidos, por su parte, en el caso del denominador del cociente de la HH_{FL} , la producción de leche del bovino a lo largo de su vida para así, se propuso que no era otra cosa que la cantidad de leche producida cada día multiplicada por los días del año en su etapa productiva en que produce leche, y que en términos de zootecnia se denomina *lactancia* por el total de años que el animal permanecía produciendo leche.

La fase metodológica *lógica-analítica* consistió en reflejar de manera abstracta, a todas aquellas variables que incidían en el comportamiento de la variable *dependiente*, y así, en una primera fase *analítica*, se determinó que la HH_{FL} , depende de solamente dos variables que actúan de manera *independiente*, la primera, el volumen de agua que se usó (medida en m^3) en toda la vida útil, es decir la vida productiva, de un bovino dedicado a producir leche, a esta primera variable se la denominó X_1 , y la segunda variable fue aquella que señala *cuanta leche* (medida en litros de leche) produjo esa vaca en toda su vida útil, a esta segunda variable independiente se la denominó X_2 .

En una segunda fase del *método analítico*, se desagregó en niveles aún más específicos a cada una de las dos anteriores variables independientes, de esta forma, se determinó que la variable X_2 , la producción de leche en la vida útil del bovino, equivale a multiplicar el rendimiento físico promedio diario del bovino lechero (en litros de leche por día, se la llamó X_4) por los días del año natural en que la vaca permanece en la etapa de lactancia (se la llamó X_3) por el total de años en que la vaca produce leche a nivel comercial (la variable X_5), mientras que la variable independiente X_1 depende del volumen de agua que el bovino consumió en cada una de sus dos etapas de vida: la previa a cuando ya empezó a producir leche, es decir el agua usada en la etapa pre-productiva (se la denominó X_6) y el agua usada ya en la etapa productiva (se la denominó X_7).

Posteriormente, se desagregó a su vez cada una de las variables X_6 y X_7 , en las variables de las cuales a su vez ellas dependen: el agua consumida en forma de los alimentos que la vaca consume en forma de alimentos, en forma de agua bebida y en forma del agua usada en servicios (como lavado de pisos y lavado de ubres), a cada una de esas nuevas variables se les fue asignando un número subíndice conforme iba apareciendo cada una de ellas.

La fase metodológica *sintética* consistió en la determinación del modelo matemático *explicito* que aglutina a todas y cada una de las principales variables independientes de las que depende la HH_{FL} , arrojando así como un primer resultado o "*dato de salida*" del procedimiento metodológico matemático-lógico-analítico-sintético empleado, la determinación de la ecuación matemática *explícita* que determina la HH_{FL} . Como parte de esta fase metodológica, una vez se generó el primer producto, la ecuación matemática que permite estimar la HH_{FL} , se generó un segundo resultado, el correspondiente a la aplicación del modelo matemático, a la realidad

concreta del sector bovino lechero especializado de la Comarca Lagunera, principal cuenca lechera en Hispanoamérica en cuanto al número de vientres dedicados a producir leche, así como por el volumen que genera anualmente de leche y de su valor correspondiente.

Localización del área de estudio

La CL comprende parte de los estados de Coahuila y Durango. Esta región se localiza entre los meridianos 102°22' y 104°47' longitud oeste, y paralelos 24°22' y 26°23' latitud norte, a una altura de 1,200 m s. n. m. (Figura 1). De acuerdo con la clasificación climática de Köppen modificada por García (1973), el clima de la CL es de tipo desértico con escasa humedad atmosférica y precipitación pluvial promedio de 240 mm anuales; el período de lluvia comprende de mayo a septiembre donde ocurre 70 % de la precipitación. En la mayor parte de la región se tiene una evaporación anual de 2,600 mm y una temperatura media de 20°C (De la Cruz *et al.* 2003). (Figura 1).

Resultados

Ecuaciones matemáticas de creación propia para la obtención de la HH_{FL}

Con base en la metodología matemática planteada por Mekonnen y Hoekstra (2010a) para el cálculo de la huella hídrica (HH en lo sucesivo) de un animal:

$$WF(a, c, s) = WF_{feed}(a, c, s) + WF_{drink}(a, c, s) + WF_{serv}(a, c, s)$$

Así como el modelo matemático implícito para determinar la huella hídrica de un animal en relación al alimento “a” consumido el agua consumida en bebida “c” y al agua usada en servicios “s”, planteado por Mekonnen y Hoekstra (2010a):

$$WF_{feed}(a, c, s) = \frac{\sum_{p=1}^n (Feed(a, c, s) \times WF_{mixing}(a, c, s))}{Pop^*(a, c, s)}$$

Asimismo, con base en la metodología de Ríos *et al.* (2015), quienes plantean que la huella hídrica física en un cultivo agrícola (Y₁, expresada en m³ de agua usada en la producción por kg de producto agrícola) en un agregado de cultivos se obtiene mediante sus ecuaciones:

$$Y_1 = \frac{\sum_{i=1}^n Vi}{\sum_{i=1}^n Pi} = \frac{10,000 \sum_{i=1}^n Si \left(\frac{LRi}{ECi} \right)}{\sum_{i=1}^n Pi}$$

Donde:

En Y₁, “Vi” es el volumen de agua en m³, usado en la producción que fue necesario para producir una cantidad “Pi” de producto, en kg, para el cálculo de la HH_{FL} (en litros de agua usada en la producción por litro de leche producido, “S” es la superficie cosechada, en ha, LR es la lámina de riego en m, EC es la eficiencia de conducción hidráulica, la cual es mayor de cero y menor a la unidad).

Se desagregaron cada uno de los componentes de la ecuación en tanto se les acondiciona en base a las características propias de la producción pecuaria, específicamente a la producción de leche bovina en México, planteándose así, de manera inicial, la siguiente ecuación para la HH_{FL} señalada a continuación:

$$HHFL = Y = \frac{X_1}{X_2}$$

Donde:

$HHFL = Y = HH_{FL}$ (expresada en litros de agua por litro de leche).

X_1 = Volumen de agua usado en toda la vida útil del bovino lechero (medida en m³ de agua).

X_2 = Producción acumulada de leche a lo largo de la vida útil del bovino (medida en litros de leche). De esta forma, en tanto se tiene ya de manera explícita cada una de las dos variables, X_1 y X_2 , de las que depende la cantidad de agua usada en la producción láctea necesaria para producir un litro de leche (dada por la ecuación anterior) esto es, la HH_{FL}, es necesario retomar la ecuación planteada:

$$Y = HHFL = \frac{X_1}{X_2} = \frac{X_6 + X_7}{X_3 * X_4 * X_5}$$

$$Y = HH_{FL} = \frac{X_1}{X_2} = \frac{X_6 + X_7}{X_3 * X_4 * X_5}$$

$$Y = HH_{FL} = \frac{365 \left[10^4 X_{11} \sum_{i=1}^n \left(X_{12} \frac{\left(\frac{X_{15}}{X_{16}} \right)}{X_{14}} \right) + 10^{-3} (X_{17} + 2X_{18} + 3X_{19}) \right] + X_5 \left[10^4 \left[X_3 \sum_{i=1}^n \left(X_{23} \frac{\left(\frac{X_{15}}{X_{16}} \right)}{X_{14}} \right) + (365 - X_3) \sum_{i=1}^n \left[X_{25} \frac{\left(\frac{X_{15}}{X_{16}} \right)}{X_{14}} \right] + \frac{365}{1000} (X_{26} + X_{27}) \right] \right]}{X_3 X_4 X_5}$$

...Ecuación desarrollada

La ecuación desarrollada, que está expresada en m³ de agua usada en la producción por cada litro de leche producido, considerando como base que el principal objetivo de la ciencia económica, es el de dedicarse a lograr la eficiencia en el uso de los recursos que son escasos, el cual señala que a la economía compete el lograr lo más que se pueda lograr de producto con lo menos de un determinado recurso que es escaso, es así considerado, como un *indicador de eficiencia*, en tanto señala cuanto se usa del escaso recurso agua en la producción de leche para poder producir un litro de leche.

Debe también visualizarse a la huella hídrica del litro de leche como un *indicador de productividad marginal* del agua usada en la producción, es decir, un indicador que señale cuántos litros de leche se pueden producir usando una sola unidad (1 m³) del recurso agua que es escaso y tiene diferentes usos alternativos y excluyentes

entre sí, de esta forma, al invertir el cociente de la ecuación 1 desarrollada, $Y = HH_{FL} = \frac{X_1}{X_2}$, se convertiría

en la huella hídrica que mide ahora precisamente cuantos litros de leche se producen por cada metro cúbico de agua usada en la producción:

$$Y = \frac{\text{Litros de leche}}{1 \text{ m}^3 \text{ de agua}} = \frac{X_2}{X_1}$$

Donde, aunque se dijo ya, en aras de claridad, es necesario recordar el significado de cada variable, registrándose su significado sin ninguna observación a ella relativa como se hizo al momento de definirles la primera vez que se hizo:

$Y = HH_{FL}$ = Huella hídrica física de un litro de leche (expresada en litros de agua por litro de leche).

X_1 = Volumen de agua usado en toda la vida útil del bovino lechero (medida en m³ de agua).

X_2 = Producción acumulada de leche a lo largo de la vida útil del bovino (medida en litros de leche).

X_3 = Cantidad de días del año natural en que la vaca está en lactancia.

$(365 - X_3)$ = Cantidad de días del año natural en que la vaca está en secas.

X_4 = Rendimiento físico diario del bovino lechero en época del año en que está en lactancia (medido en litros de leche por día por vaca)

X_5 = Cantidad de años en que el bovino dura produciendo leche a escala comercial.

X_{11} = Número de años del bovino en etapa pre-productiva.

X_{12} = Cantidad de kg consumidos por día del i-ésimo alimento por parte del bovino en la etapa pre-productiva.

$X_{13} = 10000 \left(\frac{X_{15}}{X_{16}} \right) / X_{14}$ = Huella hídrica física “HHF” (en m³ de agua por kg de alimento) del i-ésimo alimento consumido por el bovino.

X_{14} = Es el rendimiento físico por hectárea del i-ésimo cultivo dado al ganado como forraje (en kg/ha) en la etapa pre-productiva.

X_{15} = Es la lámina de riego (en m) usual en la región para el i-ésimo cultivo dado como alimento al bovino o en la etapa pre-productiva o en la etapa productiva.

X_{16} = Es el índice de eficiencia hidráulica en el riego en el i-ésimo cultivo dado como alimento al ganado o en la etapa pre-productiva o en la etapa productiva, donde $0 < X_{16} < 1$.

X_{17} = Litros de agua bebidos por día en promedio en su primer año de vida en etapa pre-productiva.

X_{18} = Litros de agua bebidos por día en promedio en su segundo y tercer año de vida en etapa pre-productiva.

X_{19} = Litros de agua promedio usados por día en servicios en la etapa pre-productiva.

X_{23} = Cantidad de kg consumidos por día del i-ésimo alimento por parte del bovino en la etapa productiva de la lactancia.

X_{25} = Cantidad de kg consumidos por día del i-ésimo alimento por parte del bovino en la etapa productiva de vaca seca.

X_{26} = Litros de agua bebidos por día en promedio en la etapa productiva.

X_{27} = Litros de agua promedio usados por día en servicios en la etapa productiva.

Se calculó la producción de leche para el 2014 de los 15 principales países a nivel mundial de acuerdo a la FAO (2014) y la HH promedio ponderada por litro de leche de acuerdo a Mekonnen y Hoekstra (2010b) (Figura 2)

Discusión

Aplicación del modelo matemático en la determinación de la HH_{FL} en el ganado bovino lechero del Sistema Especializado en la Cuenca Lechera de La Comarca Lagunera, México.

a) Análisis de la variable: Volumen de agua consumido por el bovino lechero en toda su vida útil.

Tanto en la variable X_6 (volumen de agua consumido en la etapa pre-productiva) como en la X_7 (volumen de agua consumido en la etapa productiva), el volumen de agua virtual consumido en forma de alimentos, son por su peso relativo, según se determinó, las más importantes, no así los volúmenes de agua virtual provenientes de aquellas aguas que fueron usadas como bebida por el ganado y de aquella que se usó en servicios, como el lavado de pisos y lavado de ubres. Ello es la causa por la cual se inicia el análisis con el agua usada en forma de alimentos.

La fuente de consumo de agua de más peso relativo en la producción de leche, lo constituyen los forrajes, que son la dieta principal del ganado bovino lechero, para su determinación es premisa el determinar la huella hídrica de cada uno de esos forrajes y alimentos en general consumidos por el ganado, ya que, para obtener el volumen de agua virtual consumido por el bovino, debe multiplicarse la huella hídrica de cada alimento por la correspondiente dosis de alimento consumido por día por los días que permanece en la etapa *pre-productiva* o en la etapa *productiva* (correspondientemente en *lactancia* o en *secas*) por el total de años que permanece en cada una de sus etapas pre y productiva.

De esta forma, la tabla 1 señala las huellas hídricas de los alimentos (la variable X_{13}) base de la dieta del ganado bovino lechero, encontrándose que son los alimentos concentrados los de mayor huella hídrica, no obstante, aunque con una menor huella hídrica, los forrajes implican un elevado consumo de agua virtual, toda vez que en la dosis diaria que de ellos consume el ganado es notoria.

De esta forma, la suma de las variables X_8 (Volumen de agua consumido en la etapa pre-productiva bajo la forma de alimentos) más X_{20} (Volumen de agua consumido en la etapa productiva bajo la forma de alimentos) ascendió a 192,510 m³ de agua, de los cuales 28,193 m³ (14.6%) fueron en la primera parte de vida del bovino mientras que el restante 85.4% (equivalente a 164,317 m³) del agua usada en los alimentos base del ganado, fueron consumidos ya en la etapa productiva. Los períodos de lactancia de la vaca lechera a lo largo de su vida útil, es donde se concentra el consumo de agua virtual proveniente de la ingesta de alimentos por parte del ganado, ya que, de los 192,510 m³ de agua usada en alimentos en toda la vida del bovino lechero, la lactancia, con un consumo de 155,949 m³, representó el 81% del total de agua virtual consumida bajo la forma de alimentos en toda la vida del bovino, el 19% restante se dio por tanto, en las etapas pre-productiva, que representó 14.7% de ese total, y 4.3% de ese total de agua virtual se usó en las épocas de secas o vacas horas (Tablas 2 y 3).

b) Análisis de las variables: Volumen de agua consumido por el bovino lechero en toda su vida útil en forma de bebida.

El análisis horizontal, en la tabla 3, muestra que el volumen de agua virtual consumido como bebida por el bovino lechero ascendió a 219 m³, de los cuales 40 se dieron en la etapa pre-productiva, equivalente al 18.3%, mientras que los restantes 179 m³, equivalente al 81.7%, fueron consumidos en la etapa productiva del bovino, y al contrastar ese volumen de 219 m³ en contra de toda el agua virtual consumida en la vida del bovino lechero, 192,797 m³, se encuentra que su peso relativo es muy bajo, ya que equivale a solamente el 0.11% del total de agua consumida en toda la vida útil, (Tabla 3).

También en forma vertical, al desagregar el volumen de agua bebido por la vaca a lo largo de su vida útil, se determinó que los 40 m³ de agua usado para beber en la etapa pre-productiva (la variable X_8), representaron

apenas 0.14% del total de agua consumida en esa etapa juvenil, misma que se elevó a 28,245 m³, similar bajo porcentaje, 0.11% representaron los 179 m³ que el bovino bebió en la etapa productiva (la variable X₂₁) respecto de los 164,552 m³ consumidos en toda la etapa productiva (Tabla 3).

c) Análisis de las variables $X_{10} + X_{22}$: Volumen de agua consumido por el bovino lechero en toda su vida útil en forma de servicios.

El análisis horizontal del volumen de agua que se usó en los servicios diversos como lavado de pisos en la etapa juvenil, así como lavado de pisos y de ubres en la etapa productiva, según se muestra en la tabla 3, ascendió a 68 m³, descompuesto en 12 m³ (17.6%) en la etapa pre-productiva y 56 m³ (82.4%) en la etapa productiva.

El análisis vertical del volumen de agua que se usó en los servicios brindados al bovino, muestra que en referencia a la huella hídrica de la vida útil del bovino lechero (192,797 m³), los 68 m³ representaron apenas el 0.035% de toda el agua que un bovino lechero del Sistema Especializado consumió en toda su vida en el sector lechero de la CL (Tabla 3).

Desagregado el análisis vertical, visto en función de lo que sucedió en cada una de sus dos etapas de la vida útil, señala que los 12 m³ representaron el 0.04% de los 28,245 m³ consumidos en servicios en la etapa pre-productiva, mientras que en la etapa productiva, con 56 m³, el porcentaje representó el 0.03% del total de agua consumido en alimento, bebida y servicios (Tabla 3).

La tabla 3 muestra que 192,510 de los 192,797 m³ de agua consumidos en toda la vida útil del bovino lechero, equivalente al 99.85% del total de agua consumida en su vida, se ubicaron en forma de agua virtual proveniente del consumo de los alimentos, lo cual coincide con lo encontrado por Hoekstra *et al.*, (2011) y Hoekstra y Chapagain (2008) para el bovino productor de carne, quienes señalan que el 99% del agua virtual asume la forma de agua consumida en la alimentación, mientras que el 1% restante es bajo la forma de agua virtual consumida en bebida y en servicios.

d) Análisis de la variable X_2 : Producción de leche (en litros) acumulada a lo largo de la vida útil del bovino lechero en la CL.

Es necesario recordar que la variable X₂, es el producto de las variables X₃, X₄ y X₅, es decir, $X_2 = X_3 * X_4 * X_5$, donde X₃ son los días del año natural en que la vaca permanece en lactancia, X₄ es el rendimiento físico promedio diario (en litros de leche) en los días que permanece lactando, finalmente, que X₅ son los años de la etapa productiva (la vida útil menos los años que permanece en etapa pre-productiva), es decir el tiempo que el bovino dura produciendo leche a escala comercial.

El recordar lo anterior es necesario en tanto que, en principio son variables, es decir, no son constantes, en tanto que, por ejemplo, la lactancia puede oscilar de los 280 a los 310 días, asimismo, una vaca tiene un rendimiento diferente cada día que está en lactancia, finalmente, y más importante, es que el número de años que una vaca es explotada comercialmente varía de región a región, de establo a establo, de país a país, de sistema productivo a sistema productivo (familiar, doble propósito, semi-especializado, especializado), no obstante, la experiencia de los productores de leche, les indica que es perfectamente válido y usual a escala comercial, asignar 305 días a la etapa de lactancia, así como considerar en los cálculos de producción y de costos por litro de leche, un rendimiento físico promedio al hato en su conjunto, que en el caso del ganado

bovino altamente especializado de la CL se sitúa entre los 25 y los 40 litros de leche vaca⁻¹ día⁻¹ aunque ambos animales pertenecen al sistema especializado, a uno se lo tipifica como “de bajo rendimiento” y al otro como “de alto rendimiento” (a diferencia del bovino productor de leche del sistema familiar, donde el rendimiento promedio apenas si alcanza los 10 litros vaca⁻¹ día⁻¹, o hasta solamente los 3 litros vaca⁻¹ día⁻¹ en razas cebuinas características del sistema de doble propósito), y se insiste, más importante aún, es el caso del número de años que un bovino del sistema especializado dura produciendo leche antes de enviarle al rastro como animal de deshecho, el cual se recomienda sea de diez años de vida útil (tres en etapa pre-productiva y siete en etapa productiva), es común encontrar productores lácteos que destinan al deshecho a vacas de entre 5 a 7 años de vida, es decir, que solo permanecieron de dos a 4 años en producción de leche.

Lo anterior es una fortaleza más que una debilidad del modelo matemático generado para estimar la huella hídrica física de un litro de leche, toda vez que al dar de entrada datos específicos para una vaca, un establo en su conjunto, un sistema de producción de leche específico, una región productora de leche en su conjunto, o incluso para la producción de leche bovina de un país entero, el modelo facilitará obtener como dato de salida, la correspondiente huella hídrica para el nivel de agregación que se estuviera analizando.

Lo anterior es el marco que sirve para considerar que en cuanto a la variable X_3 , el estudio consideró como 305 días de lactancia, mientras que en la variable X_4 se consideró el dato de 27 litros vaca⁻¹ día⁻¹ (igual a un volumen total en lactancia del orden de 8,235 litros de leche⁻¹ vaca⁻¹) rendimiento típico standard considerado en bovinos promedio del sistema especializado de la CL, y finalmente, se consideró una vida útil de diez años, tres de los cuales son de la etapa pre-productiva y siete en etapa productiva.

Al correr el modelo matemático, con valores específicos para $X_3 = 305$ días de lactancia, $X_4 = 27$ litros de leche vaca⁻¹ día⁻¹ y $X_5 = 7$ años en producción de leche (10 de vida útil), se determinó que $X_2 = 57,645$, es decir, que una vaca promedio, al tener un rendimiento físico diario de 27 litros de leche, durante los 305 días del año que permanece en lactancia, durante siete años de producción, acumulará en toda su vida útil de años, un volumen de producción igual a 57,645 litros de leche.

La huella hídrica física de un litro de leche del bovino lechero del Sistema especializado de la CL, México 2016

La fase de análisis del modelo matemático arrojó que la variable X_1 es igual a 192,797 m³ de agua consumida en toda la vida útil del bovino, mientras que la variable X_2 fue igual a 57,645 litros de leche, por lo que:

$$HH_{FL} = Y = \frac{X_1}{X_2} = \frac{192,797 \text{ m}^3 \text{ de agua usados}}{57,645 \text{ litros de leche producidos}} = 3.344 \text{ m}^3 \text{ l}^{-1} \text{ leche}$$

Lo que señala que, para las condiciones específicas de la CL, México en 2016, se requirieron de 3.344 metros cúbicos de agua usada en la producción, para producir un litro de leche.

Visualizada ahora como un indicador de productividad marginal del agua usada en la producción, al invertir la HH_{FL} , registrando en el numerador a la producción y en el denominador al volumen de usado en esa producción, es decir:

$$Y = \frac{\text{Litros de leche}}{1 \text{ m}^3 \text{ de agua}} = \frac{X_2}{X_1} = \frac{57,645 \text{ litros de leche}}{192,797 \text{ m}^3 \text{ de agua usados}} = 0.299 \dots l \text{ de leche m}^{-3}$$

Indica que el uso de una unidad del recurso agua, un metro cúbico, produjo 0.299 litros de leche, por lo que debe aquí preguntarse, a guisa de ejemplo que remarque la importancia del indicador, acerca de sí ese mismo volumen de agua, si se usara en la producción de leche bovina en la segunda cuenca lechera más importante del país, la del estado de Jalisco ¿cuantos litros de leche produciría?, teniendo la respuesta, que no se tiene, implicaría obligadamente las siguientes preguntas: ¿Dónde es más conveniente para la economía nacional producir la leche para el mercado nacional?, ¿Cuánto representaría de ahorro de agua esa decisión?, ¿en qué rama productiva debiera de invertirse el agua que se ahorró al tomar la decisión de asignársela a una región en lo particular?, preguntas éstas a las que la Economía Agrícola estaría obligada a dar respuesta, considerando en su análisis todo lo que esas respuestas implicarían.

No obstante, tal como se indicó, el modelo matemático permite, de manera instantánea, obtener de salida, la huella hídrica de un litro de leche al darse cambios en al menos una de las variables, y de esa manera, es factible obtener la huella hídrica resultante en condiciones diferentes a las planteadas.

Conclusiones

Al determinar la ecuación matemática que permite obtener la cantidad de agua invertida en la producción de leche bovina, se logró calcular la huella hídrica física del litro de leche producida en el sistema especializado en la Comarca Lagunera, Norte de México, encontrándose que la HH_{FL} fue de 3,344 m³ L⁻¹, volumen de agua superior a los 1,00 m³ L⁻¹, cantidad de agua que suele asociarse en La Comarca Lagunera como el volumen demandado para producir un litro de leche.

El uso del modelo matemático, permite desarrollar escenarios e inferir como es que inciden en la HH_{FL} factores como la disminución en la vida útil del bovino, enviándole anticipadamente al rastro, o bien, si un alza en la productividad física del hato presupone una disminución notoria en la HH_{FL}, o inclusive, efectos combinados de varios factores como el manejo inadecuado del hato en el período de lactancia y por tanto la baja en el rendimiento por vaca a la par que se envía con premura al rastro al ganado, implicaría alzas en extremo notorias de la HH_{FL}, con posibilidades reales de duplicar, triplicar la HH_{FL} considerada como promedio. Por lo anterior, es necesario llevar a cabo estudios que permitan determinar la HH_{FL} específica a cada una de las regiones productoras de leche del país a un nivel de agregación propio para cada sistema de producción de leche, como lo es el caso de los sistemas familiar, de doble propósito, semi-especializado y especializado y comparar la HH_{FL} entre sí y así poder, en posición, en el caso de las instituciones tomadoras de macro-decisiones económicas, de asignar el escaso recurso agua de la mejor manera, teniendo como objetivo primordial, la sostenibilidad del sector lácteo en el largo plazo.

Referencias

- Alcamo, J., Döll, P., Henrichs, T., Kaspar, F., Lehner, B., Rösch, T., & Siebert, S. (2003). Development and testing of the WaterGAP 2 global model of water use and availability. *Hydrological Sciences Journal*, 48(3), pp. 317-337.
- Chapagain, A. K., & Hoekstra, A. Y. (2003). Virtual water flows between nations in relation to trade in livestock and livestock products. *Value of Water Research Report Series no. 13*. UNESCO-IHE. Delft. The Netherlands.

- Descartes, R. (2010). *Discurso del Método*. 12ª. Reimpresión, México, México: Editorial Época, ISBN: 970-627-298-9.
- De la Cruz, L. E., Gutiérrez, D. E., Palomo, G. A., & Rodríguez, H. S. (2003). Aptitud combinatoria y heterosis de líneas de maíz en la Comarca Lagunera. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26(4), pp. 279-284.
- Diario “El Economista”, (23-12-2017) Recuperado de <http://eleconomista.com.mx/columnas/agro-negocios/2014/04/02/analisis-consumo-precios-frijol-mexico-i>
- Drastig, K., Prochnow, A., Kraatz, S., Klauss, H., & Plöchl, M. (2010). Water footprint analysis for the assessment of milk production in Brandenburg (Germany). *Advances in Geosciences*, 27, pp.65-70.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2014). *FAOSTAT: Livestock Primary*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. Consultado 25-06-2017 en <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>.
- García, E. (1973). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la república mexicana*. México, México: UNAM, p. 246
- Hoekstra, A. Y. (2003). Virtual water trade: proceedings of the international expert meeting on virtual water trade. *Value of Water Research Report Series no. 12*. UNESCO-IHE. Delft. The Netherlands.
- Hoekstra, A. Y., & Chapagain, A. K. (2008). *Globalization of Water: Sharing the planet's freshwater resources*. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Hoekstra, A. Y., Chapagain, A. K., Aldaya, M. M., & Mekonnen, M. M. (2011). *The Water Footprint assessment manual: Setting the global standard*. Earthscan, London, UK.
- Hoekstra, A. Y. (2012). The hidden water resource use behind meat and dairy. *Animal Frontiers* 2(2): pp.3-8.
- Kijne, J. W., Barker, R. & Molden, D. (2003). *Water productivity in agriculture: Limits and Opportunities for Improvement*. CABI Publication, Wallingford UK. p.332
- Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2010a). The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products. 1: Main Report. Appendices. Value of Water. *Research Report Series No. 48*. Recuperado de: <http://doc.utwente.nl/76912/2/Report-48-WaterFootprint-AnimalProducts-Vol1.pdf>
- Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2010b). The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products. Volume 2: Main Report. Appendices. Value of Water. *Research Report Series 48*. Recuperado de: <http://doc.utwente.nl/76912/2/Report-48-WaterFootprint-AnimalProducts-Vol2.pdf>
- Palhares, J. C. P., & Pezzopane, J. R. M. (2015). Water footprint accounting and scarcity indicators of conventional and organic dairy production systems. *Journal of Cleaner Production* 93, pp. 299-307.

- Pfister, S., & Bayer, P. (2014). Monthly water stress: spatially and temporally explicit consumptive water footprint of global crop production. *Journal of Cleaner Production* 73, pp. 52-62.
- Revelli, G. R., Sbodio, O. A., Tercero, E. J., & Uberti, M. (2005). Impacto de la calidad de agua para bebida animal en relación a parámetros productivos, composicionales y reproductivos. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias* 1(1): pp. 55-67.
- Ríos-Flores, J. L., Torres-Moreno, M., Castro-Franco, R., Torres-Moreno, M. A., & Ruiz-Torres, J. (2015). Determinación de la huella hídrica azul en los cultivos forrajeros del DR-017, Comarca Lagunera, México. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 47(1), pp. 93-107.
- Ríos-Flores, J. L., Torres-Moreno, M., Ruiz-Torres, J., & Torres-Moreno, M. A. (2016). Eficiencia y productividad del agua de riego en trigo (*Triticum vulgare*) de Ensenada y Valle de Mexicali, Baja California, México. *Acta universitaria*, 26(1), pp. 20-29.
- Sánchez, C. I., Delgado, R., Bueno, H. P., Román, L. (2014). *Huella hídrica de los forrajes en la Comarca Lagunera*. B. A. Willaarts, A. G. & M. R. Llamas (Eds). México DF: UAM Consultado 12-15-2015 en: http://bidi.xoc.uam.mx/tabla_contenido_libro.php?id_libro=425
- Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE). (2010). *Livestock in a Changing Landscape: Drivers, Consequences, and Responses 1*. H. Steinfeld, H. A. Mooney, F. Schneider, & L. E. Neville (Eds.) Published by Island Press.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2013). SIAP Recuperado de: <http://infosiap.siap.gob.mx/anpecuario/siap>
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & De Haan, C. (2009). Livestock's long shadow. *Environmental issues and options*. FAO, Roma, Italia.
- Sultana, M. N., Uddin, M. M., Ridoutt, B., Hemme, T., & Peters, K. (2015). Benchmarking consumptive water use of bovine milk production systems for 60 geographical regions: An implication for Global Food Security. *Global Food Security* 4, pp.56-68.



Figura 1.
Localización de la Comarca Lagunera, México.

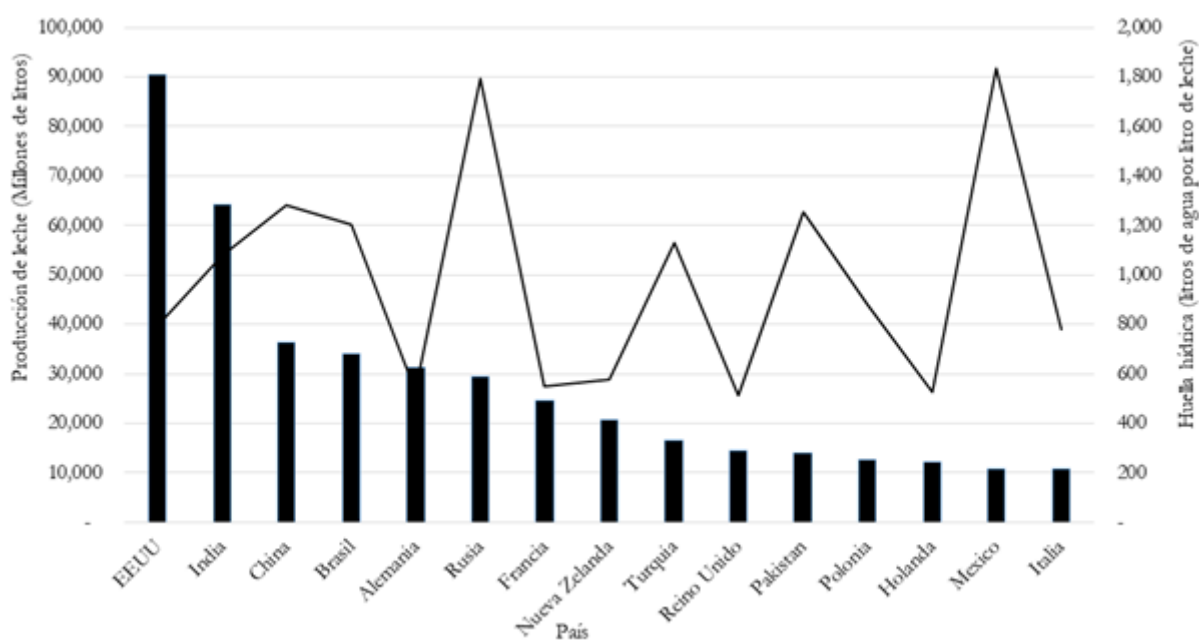


Figura 2.
Principales países productores de leche y su HH_{FL}.
Fuente: Elaboración propia con información de FAO (2014) y Mekonnen y Hoekstra (2010b)

Tabla 1.

Huella hídrica física promedio de los forrajes consumidos por el bovino lechero promedio del Sistema Especializado en la CL, México, 2016.

Producto	Superficie cosechada (ha)	Producción (ton)	X ₁₄ = Rendimiento físico del cultivo alimenticio del ganado (ton/ha)	X ₁₅ = Lámina de riego (m)	X ₁₆ = Eficiencia de conducción	HH física (m ³ /kg) del forraje en verde	X ₁₃ =HH física (m ³ /kg) del forraje en seco y/o alimento
Alfalfa heno	34,327.16	3,091,942.80	90.07	1.60	0.80	0.22	1.11
Paja de Avena	16,274.16	617,060.00	37.92	1.20	0.80	0.40	1.98
Núcleo 2010						5.50	5.50
Maíz Rolado	298.50	789.99	2.65	0.72	0.80	3.40	3.40
Semilla de Algodón (cultivado en riego por gravedad)	4,118.91	11,257.95	2.73	0.64	0.80	2.93	2.93
Bicarbonato de Sodio						15.00	15.00
Minerales						12.00	12.00
Hueso de algodón (producido en riego por gravedad)	4,118.91	22,584.58	5.48	0.64	0.80	1.46	1.46
Silo de maíz	22,763.35	1,139,646.90	50.06	0.80	0.80	0.20	
Concentrado 15% (concentrado)						5.50	

Fuente: Elaboración propia, con base en cifras de SIAP para superficie cosechada y producción física en el DR-017 Comarca Lagunera con los que se obtuvo el rendimiento físico promedio del DR-017 (en ton ha⁻¹ para cada forraje); los datos de Lámina de riego y eficiencia de conducción hidráulica de cada cultivo forrajero se obtuvieron mediante el programa de software D'RIEGO versión 1.0 del Centro nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua-Suelo-Planta-Atmósfera, dependiente del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (CENID RASPA INIFAP), Gómez Palacio, Durango, México.

Tabla 2.

Volumen de agua virtual consumido en forma de alimentos en las etapas pre-productiva y productiva (X_8 y X_{20} respectivamente) por el bovino lechero promedio del Sistema Especializado en la CL, México, 2016

Etapas pre-productiva (vaquilla):	X_{12} (kg día consumidos de alimento)	X_{13} (Huella hídrica física del alimento consumido)	$X_{12} * X_{13}$	$X_8 = 365 * X_{11} \sum (X_{12} * X_{13})$
Paja de Avena	6.00	1.98	11.87	
Núcleo 2010	1.75	5.50	9.63	
Maíz Rolado	0.50	3.40	1.70	
Minerales	0.00	12.00	0.00	
Hueso de algodón	1.75	1.46	2.55	
SUMA	0.00	0.00	25.75	
$X_8 =$ Volumen de agua consumido en alimentos en etapa <u>pre-productiva</u> =				28,193
Etapas productiva:				
Lactancia:	X_{23} (kg día consumidos de alimento)	X_{24} (Huella hídrica física del alimento consumido)	$X_{23} * X_{24}$	$X_5 * X_3 * \sum (X_{23} * X_{24})$
Alfalfa heno	5.50	1.11	6.11	
Paja de Avena	4.00	1.98	7.91	
Núcleo 2010	9.00	5.50	49.50	
Maíz Rolado	1.50	3.40	5.10	
Semilla de Algodón	0.75	2.93	2.20	
Bicarbonato de Sodio	0.10	15.00	1.50	
Minerales	0.00	12.00	0.00	
Hueso de algodón	0.50	1.46	0.73	
TOTAL	0.00	0.00	73.04	
Volumen de agua proveniente de alimentos consumido en lactancia =				155,949
Secas	X_{25} (kg día consumidos de alimento)	X_{24} (Huella hídrica física del alimento consumido)	$X_{25} * X_{24}$	$X_5 * (365 - X_3) * \sum (X_{25} * X_{24})$
Alfalfa heno	2.50	1.11	2.78	
Paja de Avena	4.50	1.98	8.90	
Maíz Rolado	1.00	3.40	3.40	
Minerales	0.10	12.00	1.20	
Hueso de algodón	2.50	1.46	3.65	
TOTAL	0.00	0.00	19.92	
Volumen de agua proveniente de alimentos consumido en secas =				8,368
$X_{20} =$ volumen de agua proveniente de alimentos consumido en etapa <u>productiva</u> (lactancia+ secas) =				164,317
$X_8 + X_{20} =$ volumen de agua proveniente de <u>alimentos</u> consumido en etapas pre-productiva y productiva =				192,510

Tabla 3.

Desglose de la variable X_1 : Consumo de agua virtual (en m^3) por etapa y por finalidad de uso en la huella hídrica del bovino lechero en toda su vida útil por el bovino lechero promedio del Sistema Especializado en la CL, México, 2016

Finalidad del uso del agua	Etapa				Vida útil	
	Etapa pre-productiva		Etapa productiva		Variables	Huella hídrica de la vida útil del bovino lechero
	Variable	etapa	Variable	etapa		
Alimentos	$X_8=$	28,193	$X_{20}=$	164,317	$X_8+X_{20}=$	192,510
Bebida	$X_9=$	40	$X_{21}=$	179	$X_9+X_{21}=$	219
Servicios	$X_{10}=$	12	$X_{22}=$	56	$X_{10}+X_{22}=$	68
Total	$X_6=X_8+X_9+X_{10}=$	28,245	$X_7=X_{20}+X_{21}+X_{22}=$	164,552	$X_1=X_6+X_7=$	192,797

Control de mastitis subclínica bovina con una solución de propóleo y matico (Piper aduncum)

Mercy del Cisne Cuenca Condoy

Universidad Católica de Cuenca
mccuencac@ucacue.edu.ec

Víctor Raúl Tambo Caraguay

Universidad Católica de Cuenca
vtamboc@ucacue.edu.ec

Diana Magali Macancela Encalada

Universidad Católica de Cuenca
dmacancelae@ucacue.edu.ec

Resumen

La mastitis reduce la calidad nutricional y sanitaria de la leche representando pérdidas económicas para el productor, para su control se utilizan antibióticos los cuales dejan residuos químicos en la leche que ocasionan problemas de salud al consumidor. La presente investigación, busca ofrecer tratamientos alternativos que controlen la enfermedad sin dejar residuos dañinos en la producción, para ello se trató la patología con una solución hidroalcohólica de propóleo al 5%, 10% y 15%, más una disolución de matico al 5%, comparando su eficacia frente a Cobactan. Para el estudio se utilizó 40 bovinos en producción que resultaron positivos a la prueba de campo CMT, la identificación del agente causal, RCS y composición química de la leche se analizaron en laboratorio. Los tratamientos se aplicaron por vía intramamaria en dosis de 10 ml por cuarto afectado cada 24 horas durante tres ocasiones. Los resultados determinaron que la solución al 5% disminuye la presencia de células somáticas por debajo de 200.000 al igual que Cobactan, mientras que los tratamientos al 10% y 15% no lograron este objetivo. Se concluye que la solución hidroalcohólica de propóleo al 5% iguala al producto comercial en conteo de células somáticas y tiempo de eficacia del tratamiento.

Palabras claves: Células somáticas, Mastitis, Matico, Propóleo.

Abstract

Mastitis reduces the nutritional and sanitary quality of the milk, representing economic losses for the producer; for its control, antibiotics are used which leave chemical residues in the milk that cause health problems to the consumer. The current investigation seeks to offer alternative treatments that control the disease without leaving harmful residues in the production, for this the pathology was treated with a hydroalcoholic solution of propolis to 5%, 10% and 15%, plus a solution of matico (Piper aduncum,) to 5%, comparing its effectiveness against Cobactan. For the study, 40 bovines in production that were positive to the CMT field test were used, the identification of the causative agent, RCS and chemical composition of the milk were analyzed in the laboratory. The treatments were applied intramammary in a dose of 10 ml per affected quarter every 24 hours for three times. The results determined that the solution to 5% decreases the presence of somatic cells below 200,000, as Cobactan does, whereas treatments to 10% and 15% did not

achieve this aim. It is concluded that the hydroalcoholic solution of propolis to 5% equals the commercial product in count of somatic cells and efficacy time of the treatment.

Keywords: Somatic cells, Mastitis, Matic, Propolis.

Introducción

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria, es de alta prevalencia y se encuentra presente en casi todos los hatos de producción lechera ocasionando grandes pérdidas económicas debido a que reduce la producción láctea, genera un conteo elevado de células somáticas, Fernández et al (2012), y causa problemas de salud pública al ser considerada una enfermedad zoonótica (Bedolla y Ponce, 2008). La enfermedad es causada por el ingreso y actividad de microorganismos patógenos, Merck (2007), Gasque (2008), por una lesión (herida) y menos frecuentemente por alergias y neoplasmas, Bedolla y Ponce (2008). En la forma subclínica no se presentan síntomas aparentes puesto que la leche y ubre presentan apariencia normal, Merck (2007), sin embargo existe alteración de la calidad higiénica y nutricional de la producción láctea, Ortega y Vanegas (2006), por lo tanto su detección se realiza mediante la prueba de campo conocida como California Mastitis Test o prueba de Schalm la cual indica la cantidad de leucocitos presentes en la leche, Mateus (1983), en otras palabras descubre la gravedad de la inflamación de la glándula mamaria con una exactitud sorprendente (Arguello y González, 2008).

Para su control se emplean antibióticos los cuales dejan residuos en la producción de leche y carne y si no se considera tiempos de retiro representan un problema para la salud humana, puesto que varios estudios determinan que pequeñas cantidades de antibióticos como 0.003 UI (unidades internacionales) de penicilina/ml de leche, pueden ocasionar: ardor en la piel, comezón, asma, shock anafiláctico, generación de resistencia por parte de los microorganismos a los antibióticos lo cual puede reducir o eliminar por completo su acción y uso en el tratamiento de diferentes enfermedades, Díaz y Pena (2016), por lo tanto, existe una nueva tendencia a nivel mundial de no usar antibióticos por sus efectos nocivos que causan daño a la salud del ser humano, por ello es necesario investigar nuevas alternativas para el control de la mastitis, que sean de bajo costo, de fácil aplicación y que otorguen un rápido retorno económico para las empresas ganaderas (Paredes, 2007).

En la actualidad existen estudios científicos que le atribuyen al propóleo actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante, citostática, antiséptica, desinfectante y antihelmíntica, Rodríguez (2012). La actividad antibacteriana ha sido probada por diversos estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro*, constatando que el mayor efecto antibacteriano lo ejerce contra bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus beta hemolítico*, Rodríguez (2012), los principales responsables de esta actividad son los flavonoides: galangina y pinocembrina y los derivados del ácido benzoico, ferúlico y cafeico, López (2011), los mismos que desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndola más vulnerable al ataque del sistema inmunológico. Así mismo el Matico (*Piper aduncum ossanum*) o también conocido como platanillo de Cuba, cordoncillo o hierba del soldado, Abreu et al (2012), ha sido utilizado desde la era pre-incaica como hemostático y anti-inflamatorio, propiedades que actualmente han sido verificadas mediante estudios de laboratorio y que confirman la acción anti- inflamatoria y antiséptica, por ejemplo (20 mg/ml inhibe las bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, a los hongos *Cryptococcus neoformans* y *Trichophyton mentagrophytes*), así como su acción cicatrizante (Geocitis, 2009), por ello el objetivo de la presente investigación

es, demostrar la actividad antibacteriana atribuida al propóleo frente a los principales microorganismos causantes de mastitis bovina y la capacidad antiinflamatoria y antiséptica atribuida al matico.

Metodología

Mediante un Diseño de Bloques Completos al Azar se seleccionaron 40 vacas de raza Holstein Friesian Mestiza, en ellas se verificó la presencia de mastitis subclínica utilizando la prueba de campo California Mastitis Test, (Ilustración 1), procediendo a codificar la reacción de CMT de acuerdo a lo expuesto por Figueroa y Col en 1984, lo cual se exhibe en la (Tabla 1). Para determinar el recuento de células somáticas (RCS) e identificar el agente causal se procedió a recolectar en un frasco estéril 5 ml de leche de cada cuarto afectado previo despunte, limpieza y desinfección del pezón, luego las muestras se identificaron (Ilustración 2), y enviaron al laboratorio de alimentos, aguas y afines “LABOLAB” siguiendo la metodología propuesta por el laboratorio para conservar la cadena de custodia (recogida, conservación y transporte hasta el momento del análisis), mientras que la determinación de sólidos totales (proteína y grasa), pH y reductasa se realizó en los laboratorios de la industria de productos lácteos PARMALAT del Ecuador.

Tabla 1.

Codificación mediante la prueba de campo California Mastitis Test.

Grado	Cuantificación de la reacción	Reacción	Probable número de células por ml de leche
Negativo	0	La muestra queda líquida sin alteración de consistencia.	0 – 200,00
± Dudoso	1	Aparición de grumos finos, que se disuelven al poco tiempo.	150,000 – 550.000
+ Débilmente positiva	2	Formación reforzada de grumos, sin que se llegue todavía a la gelificación.	400,000 – 500,000
++ Claramente Positiva	3	Clara y rápida formación de mucosidad que se acumula en el centro del receptáculo cuando se le da un movimiento rotatorio. Si cesa el movimiento, se dispersa de nuevo.	800,000 – 5,000,000
+++ Intensamente Positiva	4	Manifiesta gelificación con superficie convexa; el líquido no cae.	Más de 5 millones



Figura 1.

Aplicación de prueba de campo



Figura 2.

Identificación de muestras para laboratorio.

Para la preparación de los tratamientos se utilizó por cada 50 gramos de propóleo/ 50 ml de alcohol al 70%, al propóleo se le extrajo previamente las impurezas antes de añadirle el alcohol, luego se procedió a colocar la mezcla en un frasco de vidrio oscuro a una temperatura de 38°C agitando la solución cada 12 horas durante un lapso de 15 días, tiempo en el cual el propóleo estaba totalmente disuelto, obteniendo de esta manera una concentración al 50% de propóleo. Luego se extrajo 10 ml de la solución madre y se le agregó 90 ml de agua destilada estéril, llevando de esta manera la disolución a una concentración del 5% de propóleo. Para obtener la concentración al 10% se mezcló 20 ml de la solución base con 80 ml de agua destilada estéril, realizando el mismo procedimiento para obtener la concentración al 15% de propóleo, mezclando para ello 30 ml de solución madre con 70 ml de agua estéril.

El primer paso para la obtención de la solución de matico fue la recolección de las hojas tiernas de la planta (Piper aduncum), las cuales fueron seleccionadas tomando en cuenta las hojas que estaban sanas y libres de

parásitos e impurezas, luego se procedió a picarlas en pedazos de aproximadamente 1 ½ cm previa desinfección, con el objetivo de extraer un concentrado de mejor calidad. El procedimiento que se utilizó para obtener la solución de matico fue el de destilación por arrastre con vapor, utilizando por cada 50 gr de hoja de matico 50 ml de agua destilada, colocando en el matraz No. 1 las hojas de matico y el agua en el matraz No.2, los cuales se encuentran interconectados, el matraz que contiene el agua es colocado al fuego hasta alcanzar la temperatura de ebullición con la finalidad de generar vapor que pasará al matraz que contiene las hojas de matico, extrayéndose el concentrado, el mismo que es arrastrado por el vapor hacia un condensador para ser enfriado y posteriormente recolectado en recipientes de vidrio esterilizados; de esta manera se obtuvo la disolución del matico a una concentración del 50%. Finalmente se procedió a mezclar 10 ml de esta concentración con 90 ml de agua, para obtener la disolución al 5% de concentración de matico.

La aplicación de los tratamientos T1 (Cobactan), T2 (Solución de propóleo al 5% + solución de matico), T3 (Solución de propóleo al 10% + solución de matico), T4 (Solución de propóleo al 15% + solución de matico), se realizó luego del ordeño de la mañana tras el vaciado completo lavado y secado de la ubre, utilizando para su administración jeringuillas desechables y cánulas metálicas. Los tratamientos T2, T3 y T4 se administraron por vía intramamaria en dosis de 5 ml de solución de propóleo combinada con 5 ml de la disolución de matico por cada cuarto afectado, a intervalos de 24 horas durante tres días. El tratamiento químico T1 (COBACTAN) se aplicó de acuerdo a la posología señalada por la casa comercial la misma que indica la administración de una cánula por vía intramamaria por cuarto afectado en intervalos de 24 horas por dos días.

Resultados

El análisis estadístico de los datos se realizó a través de los programas Microsoft Excel y (SPSS®) versión 22; los resultados fueron interpretados con ANOVA a un nivel de confianza del 95% y 99%, completándose la información con las pruebas de DUNCAN al 5%.

Luego de analizados los resultados se constató la presencia de *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, por lo tanto, se afirma que estos microorganismos son el principal agente causal responsables de la presencia de mastitis subclínica bovina en las ganaderías que fueron sometidas bajo estudio dentro de los Cantones Oña y Nabón.

Para el análisis del Recuento de Células Somáticas se comparó el número encontrado en las respectivas muestras antes y después de la aplicación de los tratamientos, constatándose que al día 21 post-aplicación, los tratamientos T1 (COBACTAN LC) y T2 (Solución de propóleo al 5% + solución de matico) lograron reducir por debajo de 200.000 la cantidad de células somáticas presentes en la leche, pudiendo deducir que los dos tratamientos se comportaron por igual sin demostrar diferencia estadística significativa, mientras que los tratamientos T3 (Solución de propóleo al 10% + solución de matico) y T4 (Solución de propóleo al 15% + solución de matico) no lograron este objetivo (Gráfico 1 y 2).

Por otra parte se observó que las vacas que fueron tratadas con los tratamientos T3 y T4, presentaron una inflamación moderada de la ubre durante los tres días de aplicación de las soluciones. Se concluye que la solución de propóleo al 5% + la disolución de matico, iguala al producto comercial tanto en conteo de células somáticas como en tiempo de eficacia del tratamiento, sin dejar residuos en la leche que resulten perjudiciales para la salud del ser humano.

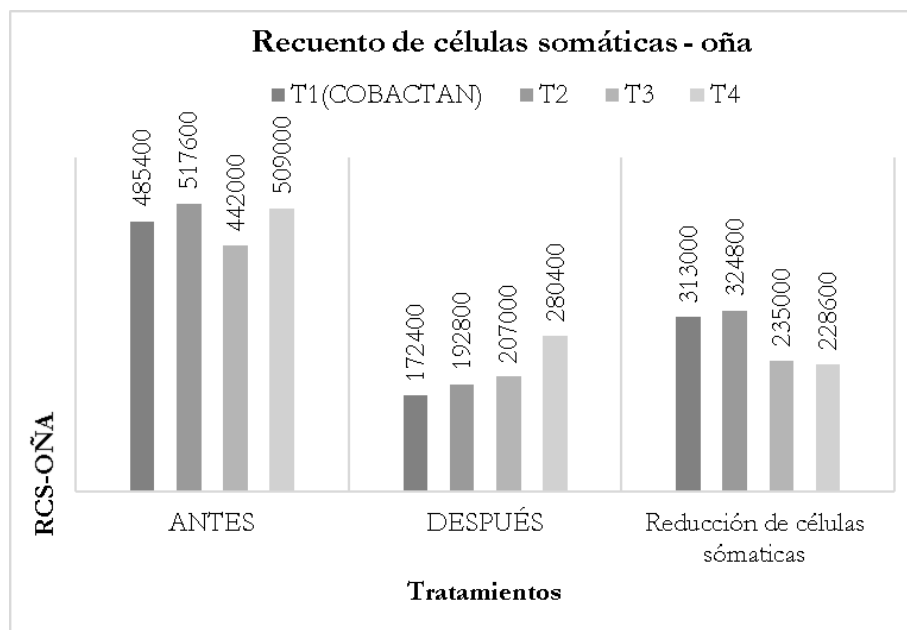


Gráfico 1.

Análisis del recuento de células somáticas, antes y después de la aplicación de los tratamientos en el Cantón Oña

En el gráfico se puede observar que el T2 (Solución de propóleo al 5% + solución de matico) logro reducir un número mayor de células somáticas (324800) que el resto de los tratamientos luego de la aplicación.

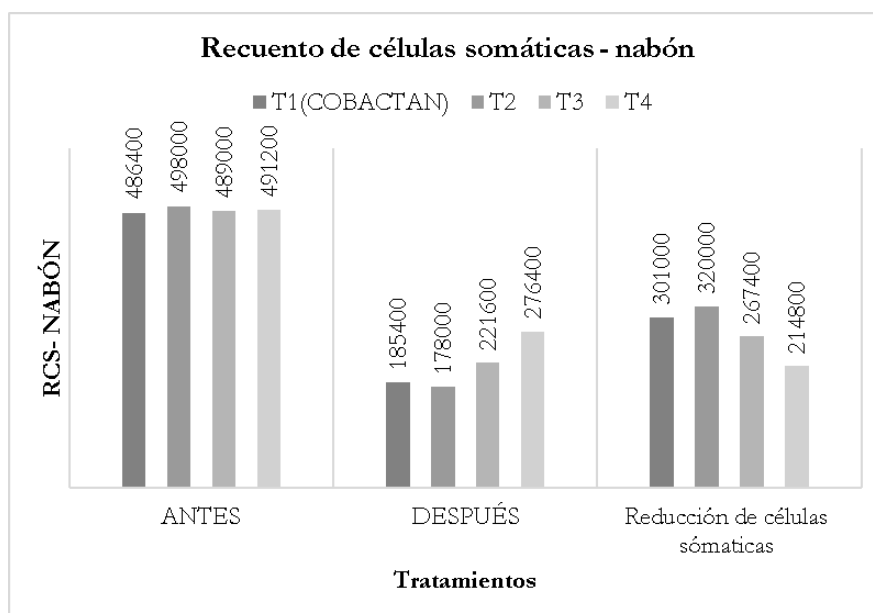


Gráfico 2.

Análisis del recuento de células somáticas, antes y después de la aplicación de los tratamientos en el cantón Nabón.

En el gráfico se puede observar que el T2 (Solución de propóleo al 5% + solución de matico) logro reducir un mayor número de células somáticas (320000) que el resto de los tratamientos luego de la aplicación.

Tabla 1.

Recuento de células somáticas antes y después de la aplicación de los tratamientos

Tratamientos	Número de células somáticas Oña		Número de células somáticas Nabón	
	Células somáticas		células somáticas	
	Antes	Después	Antes	Después
T1 Cobactán	485400 a	172400 a	486400 a	185400 b
T2 5%	517600 a	192800 bc	498000 a	178000 a
T3 10%	442000 a	207000 c	489000 a	221600 cd
T4 15%	509000 a	280400 d	491200 a	276400 d
Coeficiente de variación	15,2	5,56	3,63	6,16

En la presente tabla se evidencia que existe diferente estadística altamente significativa, ($P \leq 0.05$), siendo los tratamientos T1 y T2, quienes lograron reducir por debajo de 200.00 la cantidad de células somáticas.

En cuanto al resto de variables que también fueron analizadas como pH y sólidos totales sobre todo proteína y grasa, se determinó que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, mientras que para la variable de producción de leche se muestran diferencias estadísticas significativas sobre todo en el cantón Oña, siendo los tratamientos T2 (Solución de propóleo al 5% + solución de matico) y T3 (Solución de propóleo al 10% + solución de matico) quienes lograron incrementar en mayor proporción la producción láctea, este dato se puede corroborar en el análisis exhibido en la (Tabla 2).

Tabla 2.

Análisis de la producción de leche y sólidos totales antes y después de la aplicación de los tratamientos en el cantón Oña.

Tratamientos	Producción		Ph		Proteína cruda		Grasa	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
T1 Cobactán	12,0 c	12,8 b	6,9 a	6,9 a	3,2 a	3,3 a	3,5 a	3,6 a
T2 5%	7,0 c	9,4 a	6,8 a	6,8 a	3,2 a	3,2 a	3,5 a	3,5 a
T3 10%	15,2 a	16,8 b	6,8 a	7,0 a	3,3 a	3,3 a	3,7 a	3,7 a
T4 15%	12,2 b	13,4 b	6,9 a	7,0 a	3,2 a	3,3 a	3,5 a	3,6 a
Coeficiente de variación	27,57	25,08	3,8	2,71	3,51	3,62	4,77	3,64

En la presente tabla se evidencia que existe diferencia estadística altamente significativa, ($P \leq 0.05$), consiguiendo el T2 el mayor incremento en la producción de leche/vaca/día.

En el cantón Nabón se constató que todas las variables bajo estudio como pH, contenido de sólidos totales e incremento de la producción de leche, los tratamientos se comportaron por igual, no existiendo así diferencia estadística significativa. Los datos se exponen en la (Tabla 3).

Tabla 3.

Análisis de la producción de leche y sólidos totales antes y después de la aplicación de los tratamientos en el cantón Nabón.

Tratamientos	Producción		Ph		Proteína cruda		Grasa	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
T1 Cobactán	10,8 a	12,4 a	6,9 a	6,8 a	3,3 a	3,3 a	3,7 a	3,7 a
T2 5%	10,4 a	12,6 a	6,7 a	6,8 a	3,3 a	3,3 a	3,6 a	3,6 a
T3 10%	11,6 a	11,8 a	6,9 a	6,9 a	3,2 a	3,3 a	3,6 a	3,6 a
T4 15%	12,6 a	12,6 a	6,6 a	7,0 a	3,3 a	3,3 a	3,7 a	3,6 a
Coeficiente de variación	23,8	24,25	2,95	3,44	3,19	3,46	3,25	2,12

En la presente tabla se evidencia que todos los tratamientos se comportaron por igual, no existiendo así diferencia estadística significativa, ($P \geq 0.05$).

Discusión

En el presente estudio se determinó que la aplicación de una solución de propóleo al 5% combinada con una solución de matico en la misma concentración, consiguen reducir por debajo de 200.000 el número de células somáticas presentes en la leche al día 21 post-aplicación, mientras que a mayor concentración de propóleo 10 % y 15% la efectividad contra estos patógenos es menor, registrando efectos secundarios como inflamación moderada de la ubre, datos que concuerdan con los registrados por Argüello y Gonzáles (2008), quienes utilizaron Propolina al 0,5% y al 1% en el control de mastitis subclínica bovina encontrando una efectividad al día 21 post-tratamiento del 93% con la utilización del 0,5% de concentración de Propolina y del 68% utilizando la concentración al 1%, lo que demuestra que a mayor concentración de Propóleo se reduce el nivel de eficacia del tratamiento.

En cambio otros datos registrados por López (2011), difieren de los anteriores puesto que indican que la utilización de un Extracto Etanólico de Propóleo a una concentración del 50% muestra una efectividad del 66,66% en el control de mastitis clínica bovina luego de 10 días pos-aplicación, utilizando 10cc del tratamiento cada 12 horas por un lapso de 1 día, siendo entonces 2 administraciones por cuarto afectado.

Así mismo otro estudio realizado por Paredes, refiere que los tratamientos realizados con Propóleo al 50% en el control de mastitis clínica bovina muestran una efectividad del 100 % utilizando 10 cc por cada cuarto mamario, siendo necesarias dos dosis cada 12 horas para lograr efectividad.

(Tafur y Turpo, 2014), reportan los resultados de una investigación experimental de una pomada a base de extractos etanólicos de propóleo y guayaba en el tratamiento de mastitis bovina obteniendo inhibición del desarrollo de colonias de *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, y *Staphylococcus aureus*.

De igual manera Méndez et al (2000), obtiene excelentes resultados en el control de mastitis subclínica bovina utilizando extracto blando de propóleo en concentración del 20 por ciento con dosis de 10 ml, aplicados por vía intramamaria logrando controlar efectivamente bacterias gram positivas y gram negativas.

Por otro lado Rodríguez (2012), evaluó la actividad antibacteriana de propóleo y miel sobre cepas negativas de *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) aislada de mastitis bovina y determinó mediante los resultados obtenidos en su investigación que el propóleo es efectivo sobre la totalidad de las cepas SCN por lo que se acepta la actividad antibacteriana de este, en cambio la mezcla de propóleo y miel no presenta actividad contra todas las cepas de SCN lo cual indica que al mezclar las soluciones se presentan un cierto grado de antagonismo, por su parte la miel también demostró efectividad sobre la mayoría de las cepas de SCN productoras de mastitis en bovinos, inhibiendo su crecimiento.

Conclusiones

La utilización de concentraciones bajas de propóleo inferiores al 5% muestran mayor efectividad en el control de Mastitis Subclínica Bovina, al utilizar la solución a razón de 10 ml por cada cuarto afectado y por vía intramamaria cada 24 horas durante tres días. Existen estudios que reportan excelentes resultados al utilizar concentraciones superiores de propóleo al 50%, siempre y cuando la implementación del tratamiento difiera en cuanto al tiempo de aplicación, es decir estas concentraciones se administren por dos ocasiones con un lapso de 12 horas, concluyendo que el propóleo actúa de forma positiva en el control de mastitis bovina.

En cuanto a la producción láctea se determinó que con la utilización de propóleo, no se alteran de forma significativa el pH ni el contenido de sólidos totales (grasa y proteína); mientras que si se evidencia incremento en la producción láctea en las vacas que son tratadas con una solución de propóleo al 5% + solución de matico.

Por último, se concluye que la aplicación de medidas terapéuticas alternativas (Propóleo combinado con matico) para el control de mastitis subclínica bovina a un bajo costo y sin dejar residuos en la producción láctea que puedan afectar la salud humana es posible, ya que confieren excelentes resultados demostrando la actividad antibacteriana (Propóleo) y anti inflamatoria (matico) que se les ha atribuido.

Agradecimiento

Los autores extienden sus agradecimientos a la Universidad Católica de Cuenca e Industria Láctea PARMALAT S.A. del Ecuador, por su apoyo brindado a lo largo del desarrollo de la investigación.

A si mismo reconocemos el esfuerzo otorgado por cada una de las personas que a continuación se mencionan: Efrén León Bernal, Sandro Seminario Parra, Luisa Olivo Pila, Jhannet Salvador Pinos, Clever Loja Muevecela, Arturo Pesantez Ortega, Armando Sojos Sojos, Christian Pillaga Gaona y Grimanesa Dolores Flores; agradeciendo su colaboración entregada durante el transcurso del proyecto.

Referencias

- Abreu, O.A., Rodríguez, A.A., & Morgado, M. (2012). Farmacognosia, farmacobotánica, farmacogeografía y farmacotimología del platanillo de Cuba (*Piper aduncum* subespecie *ossanum*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 17(2), pp. 181-193. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n2/pla07212.pdf>
- Argüello, E.M. y González, A.F. (2008). *Evaluación de la dosis efectiva de la Propolina en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca La Luna, en el municipio de Boaco, Departamento de Boaco* (Tesis de Pre-grado). Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/1385/1/tnl73a694.pdf>
- Bedolla, C.C., Ponce, De. L. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. 9(4), pp.1-26. Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf>
- Díaz, D.E., Pena, G. (15 de enero de 2016). *Uso de antibióticos en la ganadería lechera. Programa de Extensión Cooperativa Universidad de Langston*. Universidad Estatal de Utah. Recuperado de <http://articles.extension.org/pages/9858/uso-de-antibioticos-en-la-ganadera-lechera>
- Fernández, O.F., Trujillo, J.E., & Peña, J.J., Cerquera, J. Granja, Y.T. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* 13 (11), pp. 1-20. Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111112/111202.pdf>
- Gasque, R. (2008). *Enciclopedia Bovina*. Municipio Cuautitlán, México: Comité Editorial de la FMVZ de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- Geocities (2009). *El matico o cordoncillo*. Recuperado de http://www.oocities.org/fitoterapia_peru/matico.htm
- López, J.M.(2011). *Evaluación del tratamiento local de mastitis clínica en ganado bovino a base de un extracto etanólico de propóleos al 50%* (Tesis de Pre-grado). Recuperado de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2879/1/Tesis%20Med%20Vet%20Juan%20M%20Lopez.pdf>
- Guillermo, M.V. (1983). *Mastitis en bovinos*. Recuperado de https://books.google.com.ec/books?id=yG0OAQAAIAAJ&pg=PA10&dq=Mastitis+Subcl%C3%ADnica+Bovina&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Mastitis%20Subcl%C3%ADnica%20Bovina&f=false
- Méndez, J.C. y Díaz, B. (2000). *Utilización de propóleos de abeja como antimicrobiano para el tratamiento de mastitis subclínica en vacas lecheras*. (Tesis de Pre-grado). Recuperado de <http://bibliotecas.esPOCH.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=38767#>
- Merck & C.O.M, C., Kahn, B.A., M, A. (2007). *Manual Merck de Veterinaria*. Barcelona, España: Océano.
- Ortega, J.I. y Vanegas, N.A. (s.f.). *Utilización de propolina en el control de la mastitis bovina en fincas del municipio de Muy Muy, Departamento de Matagalpa*. (Tesis de Pre-Grado). Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/1359/1/tnl73o77p.pdf>

- Paredes, D.A. (2017). *Tratamientos alternativos en el control de la mastitis clínica bovina; plasma marino, propóleos y chichipince (hamelia patens)* (Tesis de Pre-grado). Recuperado de [https://www.usam.edu.sv/resultado-busqueda?searchword=tratamientos%20alternativos%20en%20el%20control%20de%20la%20mastitis%20cl%C3%8dnica%20bovina;%20plasma%20marino,%20prop%C3%93leos%20y%20chichipince%20\(hamelia%20patens\).&ordering=newest&searchphrase=all&limit=20](https://www.usam.edu.sv/resultado-busqueda?searchword=tratamientos%20alternativos%20en%20el%20control%20de%20la%20mastitis%20cl%C3%8dnica%20bovina;%20plasma%20marino,%20prop%C3%93leos%20y%20chichipince%20(hamelia%20patens).&ordering=newest&searchphrase=all&limit=20)
- Rodríguez, I. E. (2012). *Evaluación de actividad antibacteriana de propóleos y miel sobre cepas nativas de Staphylococcus Coagulasa negativo aisladas de mastitis bovina.* (Tesis de Pre-grado). Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fcr696e/doc/fcr696e.pdf>
- Tafur, L., Turpo, J., & Pérez, M. (2011). *Efecto in vitro de una pomada a base de propóleo y extracto etanólico de guayaba para el tratamiento de la mastitis en ganado lechero en Tingo María.* (Tesis de Pre-grado). Recuperado de <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/773>

Propóleo como terapia inmunoestimulante en caninos

Mgs. Dra. Nancy M. Cueva S

Universidad Técnica de Cotopaxi

nancy.cueva@utc.edu.ec

Mgs. Dr. Jorge W. Armas C.

Universidad Técnica de Cotopaxi

jorge.armas@utc.edu.ec

Mgs. Mvz. Paola J. Lascano A.

Universidad Técnica de Cotopaxi

paola.lascano@utc.edu.ec

Mgs. Dra. Elsa J. Molina. M.

Universidad Técnica de Cotopaxi

elsa.molina@utc.edu.ec

Resumen

El propóleo es una sustancia apícola resinosa con propiedades medicinales donde gran parte de su actividad biológica y terapéutica se debe a la presencia de flavonoides en su composición, la cual varía en función del origen geográfico. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los efectos de la tintura de propóleo sobre la inmunidad en caninos domésticos, la investigación se realiza en la ciudad de Latacunga - Cotopaxi. La información se recogió de 30 caninos, de entre 4 a 5 años con características homogéneas, a los cuales se les realizó hemogramas para la determinación de la serie Leucocitaria (serie blanca o glóbulos blancos) con la administración del propóleo vía oral. Para su estudio se establece 2 dosis; 0.6mg/kg y 0.12 mg/kg de PV y un testigo que no recibe propóleo, precisando que el tratamiento de 0.12 mg/kg de PV como dosis eficiente, en el conteo de linfocitos con 2319.8; 2746.1; 3293.1, y monocitos con 447; 469.5; 565.2 en los días 0, 15, 30 respectivamente evidenciando una relación positiva para la inmunidad, en cuanto a que los neutrófilos refleja el balance entre la producción medular y la utilización tisular con 9259.5; 7651.8; 7257.6 en los días 0, 15, 30, concluyendo que la dosis de 0.12 mg estabiliza los parámetros normales de referencia hematológica en caninos domésticos.

Palabras clave: Propóleo- Inmunoestimulante - Caninos

Abstract

Propolis is a resinous apicultural substance with medicinal properties where much of its biological and therapeutic activity is due to the presence of flavonoids in its composition, which varies depending on the geographical origin. The objective of this work is to evaluate the effects of propolis tincture on immunity in domestic dogs, the research is carried out in the city of Latacunga - Cotopaxi. The information was collected from 30 canines, from 4 to 5 years old with homogeneous characteristics, to which blood counts were taken for the determination of the Leukocyte series (white series or white blood cells) with oral administration of propolis. For its study, 2 doses are established; 0.6mg / kg and 0.12 mg / kg of PV and a control that did not receive propolis, specifying that the treatment of 0.12 mg / kg of PV as an efficient dose, in the lymphocyte count with 2319.8; 2746.1; 3293.1, and monocytes with 447; 469.5; 565.2 on days 0, 15, 30 respectively evidencing a positive relationship for immunity, in that neutrophils reflected the balance between spinal production and tissue utilization with 9259.5; 7651.8; 7257.6 on days 0, 15, 30, concluding that the 0.12 mg dose stabilizes normal hematological reference parameters in domestic canines.

Keywords: Propóleo- Inmunoestimulante - Canines

Introducción al problema

Al nacer el individuo se expone a un sin número de microorganismos con los cuales no había tenido contacto, éstos pueden llegar a ser parte de su flora normal o bien pueden provocar una enfermedad que traerá como consecuencia un tipo de respuesta inmune que puede ser inespecífica, donde intervienen los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (LPMN) o específica donde interactúan tanto los linfocitos T como B. Anaya JM (2009).

En este momento el propóleo como subproducto genera una nueva mirada por parte de los clínicos y por parte de la investigación, debido a las diferentes propiedades que se le atribuyen como la potente actividad biológica, desde el punto de vista terapéutico y nutricional. Dentro de la composición de los mismos se destaca la presencia de flavonoides, derivados de esteres y ácidos fenólicos, lo cual es un reflejo de la diversidad de recursos a partir de los que las abejas los elaboran (Talero, Hernández, & Figueroa, 2012). Con propiedades donde la literatura lo reporta como bactericida, analgésico, fungicida, antiinflamatorio, cicatrizante, y anticariogénico. Yong K, (2001). Por lo anterior se propone al propóleo como inmuoestabilizador por sus componentes siendo éstos, los flavonoides los principales y algunos ácidos fenólicos, esteres, aldehídos, alcoholes y cetonas.

Importancia del problema

En la actualidad se ha observado que la interacción entre el animal y los microorganismos se deterioran cada día más debido a la elevada morbilidad por enfermedades infecciosas. Hoy en día no existen vacunas para todas las enfermedades, ninguna es completamente inocua. Los esquemas básicos de inmunización se

elaboran de acuerdo al tipo de: inmunógenos, población, epidemiología de las principales enfermedades infecciosas. (González María, 1999.) Esta investigación se realizará con la finalidad de utilizar la tintura de propóleo como un estimulante natural en la inmunidad en caninos domésticos (**Canis familiaris**). El uso del propóleo representar un tratamiento preventivo para las mascotas con inmunidad deprimida que busca mejorar su calidad de vida al protegerlos de enfermedades aumentando la resistencia del organismo a infecciones.

Desarrollo

Los animales son capaces de organizar una respuesta defensiva contra sustancias ajenas a su propio organismo a esto se le conoce como respuesta inmunitaria, es un estado de resistencia que puede ser natural o adquirido. Los mamíferos cuentan con tres sistemas principales de defensa: las barreras físico- químicas, la inmunidad innata y la inmunidad adquirida.

a) Barreras físico-químicas: las defensas más eficaces del cuerpo implican la prohibición de entrada. Sin estas barreras defensivas, el éxito en la resistencia contra los agentes patógenos es casi imposible. El cuerpo emplea múltiples niveles de defensa, como resultado, un organismo que ha tenido éxito en superar la primera capa de protección se enfrenta a continuación, con la necesidad de superar una segunda barrera más alta, y así sucesivamente (Alberts et al., 2002). La primera y más obvia de estas capas es la piel, ya que ésta proporciona una barrera eficaz a la invasión microbiana, debido a que posee una gruesa capa de queratina, sufre continuas descamaciones y está constituida superficialmente por células muertas, así como a través de la secreción de glándulas sudoríparas y sebáceas que contienen ácidos grasos que inhiben el crecimiento bacteriano, además la flora bacteriana cutánea compite con otros microorganismos. Si está dañada, pueden producirse infecciones, sin embargo, la cicatrización de heridas asegura que la barrera se restablezca rápidamente (Tizard, 2009).

Existen algunos otros mecanismos de defensa como lo son la diarrea y el vómito, así como la secreción de ácido clorhídrico (HCl) del estómago que modifica el pH dificultando la supervivencia de los gérmenes. En el sistema respiratorio además de la presencia de mucus, existen otros mecanismos de defensa como los pelos en la nariz, la tos, los estornudos y los cilios presentes en el epitelio respiratorio. Otras formas de barreras físico-químicas son el flujo de la orina en el sistema urinario, el sudor, producción de proteínas como la β -lisina en las plaquetas, la espermina en el semen, la lactoperoxidasa en leche y saliva y la lactoferrina y la transferrina en la leche. La presencia de una flora normal bien establecida sobre la piel y en el intestino, así como la temperatura corporal, inhiben el crecimiento de microorganismos (Alberts et al., 2002).

b) Inmunidad innata: si bien es cierto las barreras físico-químicas, son las primeras líneas de defensa del organismo, no son totalmente eficaces. Teniendo en cuenta el tiempo y la persistencia, un microorganismo invasor eventualmente puede superar simples obstáculos físicos. Sin embargo, los animales no están

constantemente enfermos, porque los intentos de invasión son bloqueados antes de que puedan resultar en la enfermedad y esta es la principal tarea del sistema inmune innato. Esta segunda capa de defensa por lo tanto, consiste en responder rápidamente con mecanismos de defensa celulares y químicos (Tizard, 2009). La inmunidad innata se basa en el hecho de que los microorganismos invasores difieren químicamente de los componentes normales del cuerpo. Se ha evidenciado que las células del sistema inmune innato poseen unos receptores denominados “receptores de reconocimiento de patrones” (PRRs). Éstos reconocen estructuras concretas en los agentes patógenos, los denominados “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs), que realmente son activadores microbianos de la respuesta inmune innata (Janeway, 1989). Este paso es esencial para la activación de mecanismos innatos internos.

c) Inmunidad adquirida: la inflamación y los otros componentes del sistema inmune innato son críticos para la defensa del cuerpo. Aquellos animales que no tienen una respuesta innata efectiva morirán a causa de infecciones. Sin embargo, estos mecanismos innatos no pueden ofrecer la solución definitiva para la defensa del cuerpo. Lo que realmente se necesita es un sistema de defensa que reconozca y destruya los invasores y aprender del proceso, así en caso de que estos vuelvan a invadir serán destruidos con mayor eficacia. Este tipo de respuesta adaptativa es la función del sistema inmune adquirido, al cual le toma varios días para convertirse en efectivo, tiempo requerido para que los linfocitos T y B reconozcan a dichos antígenos se diferencien y se conviertan en células efectoras (Castellanos et al., 2000).

El propóleo, según han demostrado varios estudios científicos, posee muchas otras propiedades medicinales, entre las que se le reconocen: antibióticas (fungicida y bacteriana), cicatrizantes, antiinflamatorias, analgésicas, antialérgicas, epitelizantes y anestésicas, entre otras.

Esta sustancia resinosa, de color verde o casi negro, que obtienen las abejas de las yemas y cortezas de algunos árboles como el abedul, sauce, castaño, roble, pino, cerezo y algunas plantas herbáceas, también contiene provitamina A, vitaminas del grupo B (especialmente B3), aminoácidos, minerales y bioflavonoides (vitamina P).

Un grupo de investigadores del Albert Einstein College of Medicine de Nueva York publicaron, en 1997, un trabajo donde mostraron la capacidad del propóleo de suprimir la replicación del VIH tipo 1 (VIH-1) y su efecto inmunoestimulante, según publica el doctor Walter Fierro Morales, médico internista y apiterapeuta, en su trabajo “Evidencias científicas del propóleo desde el punto de vista médico”¹. Diversos trabajos demuestran que el propóleo estimula la inmunidad inespecífica y la específica, tanto inmunidad celular (linfocitos T) como la humoral (linfocitos B). En ratones infectados con el virus influenza tipo A y tratados con propóleos, se constató un aumento de los linfocitos T, un mayor nivel de fagocitosis y una menor mortalidad, en comparación con animales testigo no tratados.

Los autores determinaron que se estimula la liberación del factor inhibidor de la migración de los leucocitos (Neychev H, and col. 1988) Durante el 1º Simposio Internacional sobre Apiterapéuticos, realizado en La Habana en 1991, se mostraron resultados positivos con el empleo de propóleos en pacientes con inmunodeficiencia. Uno de los grupos de investigadores cubanos evaluó su respuesta en niños con síndrome respiratorio alto o bajo recidivante y con inmunodepresión celular o mixta, lográndose primero una mejoría clínica y luego la normalización paraclínica. Se ha comprobado que el propóleo estimula la actividad de los macrófagos a casi el doble y aumenta el número de linfocitos incrementándose la respuesta inmune (De Los Reyes Rodríguez, 1991). Estudio del efecto inmunorregulador de un medicamento elaborado a base de propóleos en niños con trastornos de la inmunidad. In: 1er Taller Internacional de Apiterapéuticos La Habana, Cuba. 1991.).

Múltiples estudios realizados en el mundo han demostrado la buena tolerancia y la inocuidad de este producto natural administrado por vía oral, no lográndose establecer la dosis letal 50 por su alta tolerancia. (Lorenzo J y col. 1984).

Metodología

La presente investigación se realizó con 30 perros de diferentes razas de entre 4 a 5 años, en condiciones y características homogéneas. Se utilizó un análisis de varianza aleatorio (diseño completamente al azar) para identificar si existe diferencia entre los tratamientos. Para iniciar la investigación primero se procedió a obtener la tintura de propóleo, que fue obtenido de los panales de abejas del Centro de Experimentación Salache (CEYPSA) de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Una vez obtenido el objeto de estudio se dio inicio al trabajo investigativo. Se ubicaron 30 pacientes sanos (10 en cada grupo) en tres tratamientos; T1 0.6mg /kg PV de tintura de propóleo vía oral cada 24 horas por treinta días, T2 0.12 mg/kg de PV de tintura de propóleo vía oral cada 24 horas por treinta días y un testigo que no recibió propóleo. Se realizó una ficha clínica por cada paciente, a la vez se realizaron 3 hemogramas; el primero al día 0, antes de la administración de los tratamientos, el segundo a los 15 días y el tercero a los 30 días de iniciado la investigación de cada paciente.

Tabla 1.

Recuento leucocitario

Observaciones	Conteo Leucocitos								
	Dia 0			Dia 15			Dia 30		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	11600	10500	11000	9700	7550	11400	9200	11650	10900
2	8750	6600	7350	12200	17250	12500	6200	10400	14850
3	18200	9600	9700	13100	13800	9400	11150	12950	17000
4	7500	11000	9100	5800	7200	9150	4950	9600	8650
5	14900	9500	15300	11250	8000	15000	11150	11000	9600
6	11700	17200	10900	17800	12200	10000	17250	13400	12250
7	10000	17000	15900	7500	12150	9050	8900	10900	13900
8	11600	12050	12900	9550	10050	7850	11500	8450	10550
9	8900	14650	14650	12600	9300	9300	11450	10325	1032
10	9650	12600	8100	9050	12600	13900	8100	12000	14850
Media	11280	12070	11490	10855	11010	10755	9985	11067	11358

Fuente: Autores

De los resultados obtenidos, sobre el conteo leucocitario, con un rango normal de 6000 a 17000, se puede observar diferencias numéricas entre tratamientos, en el día 0 en T1 presenta una media de 11280 Leucocitos (WBC), en T2 se encontró un conteo con una media de 12070 WBC, mientras que en T3 se evidencia 11490 WBC. En el día 15, se obtuvo un recuento con una media de 10855 WBC en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 11010 WBC, mientras que en el que en T3 se evidencia 10755 WBC. En el día 30, se obtuvo un recuento con una media de 9985 WBC en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 11067 WBC, mientras que en el que en T3 se evidencia 11358 WBC.

Tabla 2.

Análisis de la varianza leucocitario

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	19422895,5	4	4855723,88	0,49	0,7403
TRATAMIENTOS	7341001,09	2	3670500,54	0,37	0,6896
DÍAS	12081894,4	2	6040947,21	0,61	0,5434
Error	835843900	85	9833457,64		
Total	855266795	89			

Fuente: Directa

En el ADEVA para conteo leucocitario en los días 0, 15 y 30 días no se evidencia diferencia significativa con

un valor $p=0,5434$, en cuanto a los tratamientos no se evidencia diferencias estadísticas, pero sí diferencia numérica, donde se evidencia un incremento de leucocitos en el tratamiento 3, manteniéndose la referencia biométrica para leucocitos, es decir no se evidencio leucocitosis o leucopenia.

Tabla 3.

Recuento de neutrófilos

Observaciones	Conteo Neutrofilos								
	Dia 0			Dia 15			DIA 30		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	7528	7455	6930	6589	4832	9006	8625	6757	5370
2	5968	4488	5145	1935	14318	10250	4588	6344	8576
3	11900	4704	6111	9039	9246	7050	7805	8288	7519
4	4762	8800	5460	4816	3744	5096	4843	6624	6254
5	9900	7030	10865	8438	5520	10500	7136	8140	7872
6	7700	14448	6758	13119	9028	7400	11385	9380	9922
7	6920	14790	12402	5775	8626	6335	6052	7303	9869
8	7528	9399	8514	6693	7035	5573	6256	5915	7068
9	7830	13039	13039	8442	6231	6231	7786	6505	6505
10	6272	8442	5557	5792	7938	10842	5589	7320	10914
Media	7630.8	9259.5	8078.1	7063.8	7651.8	7828.3	7006.5	7257.6	7986.9

Fuente: Autores

Según los resultados obtenidos, sobre el conteo de neutrófilos (PMNs) en día 0, con un rango de neutrófilos de 3000 a 11500, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 7630.8 PMNs en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 9259.5 PMNs, mientras que en el que en T3 se evidencia 8078 PMNs. En el conteo neutrófilos en día 15, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 7063.8 PMNs en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 7651.8 PMNs, mientras que en T3 se evidencia 7828 PMNs. En el día 30, se obtuvo un recuento con una media de 7006.5 PMNs en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 7257.6 PMNs, mientras que en T3 se evidencia 7986.9 PMNs.

Tabla 4.

Análisis de la varianza para neutrófilos

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	27022207,18	4	6755551,79	1,09	0,3691
TRATAMIENTOS	12190814,49	2	6095407,24	0,98	0,3799
DIAS	14831392,69	2	7415696,34	1,19	0,3089
Error	529210559,3	85	6226006,58		
Total	556232766,5	89			

Fuente: Autores

En el ADEVA para conteo de neutrófilos en los días 0, 15 y 30 días no se evidencia diferencia significativa con un valor $p=0,3089$, en cuanto a los tratamientos no se evidencia diferencias estadísticas valor $p=0,3799$, pero sí diferencia numérica.

Tabla 5.

Recuento de linfocitos

CONTEO LINFOCITOS									
OBSERVACIONES	DIA 0			DIA 15			DIA 30		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	3283	2625	3520	2292	2340	2052	2300	4077	3476
2	2170	1848	1838	1565	2242	2000	1302	3744	3218
3	6300	3936	2716	3930	2760	1880	3010	4014	2250
4	2363	1980	3276	1905	3456	3185	1000	2880	2854
5	5000	2280	3519	2475	2480	4050	3456	2750	1344
6	4000	1892	3379	3435	2440	2000	5175	3216	2082
7	2730	1700	3180	1575	2795	2444	2492	2616	3336
8	323	1566	3328	2716	2312	127	2760	2113	2849
9	760	1465	1465	3465	2604	2604	3092	3201	3201
10	2123	3906	2268	1991	4032	2085	2268	4320	3342
MEDIA	2905.2	2319.8	2848.9	2534.9	2746.1	2242.7	2685.5	3293.1	2795.2

Fuente: Autores

De los resultados obtenidos para linfocitos (LYN) en el día 0, con un rango de linfocitario de 1000 a 4800, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 2905 linfocitos en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 2319.8 linfocitos, mientras que en T3 se evidencia 2848.9 linfocitos. En el conteo linfocitario en el día 15, se obtuvo un recuento con una media de 2534.9 LYN en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 2746 LYN, mientras que en T3 se evidencia 2242.7 LYN. En el conteo linfocitario en día 30, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 2685.5 linfocitos en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 3293.1 linfocitos, mientras que en T3 se evidencia 2795.2 linfocitos.

Tabla 6.

Análisis de la varianza linfocitos

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	2988671	4	747167,75	0,73	0,5743
TRATAMIENTOS	371637,6	2	185818,8	0,18	0,8344
DIAS	2617033,4	2	1308516,7	1,28	0,2841
Error	87069990,6	85	1024352,83		
Total	90058661,6	89			

Fuente: Autores

En el ADEVA para conteo de linfocitos en los días 0, 15 y 30 días no se evidencia diferencia significativa con un valor $p=2841$, en cuanto a los tratamientos no se evidencia diferencias estadísticas valor $p=0,8344$, **pero sí diferencia numérica**, manteniéndose la referencia biométrica para linfocitos, es decir no se evidenció linfocitosis o linfopenia.

Tabla 7.

Recuento Monocitos

OBSERVACIONES	CONTEO MONOCITOS								
	DIA 0			DIA 15			DIA 30		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
1	499	420	550	573	226	228	460	582	415
2	437	198	221	100	517	125	186	208	361
3	454	384	582	131	414	376	223	518	325
4	375	1100	182	150	780	546	151	960	384
5	785	950	612	225	800	150	334	1100	288
6	738	258	545	356	488	400	517	536	246
7	350	340	318	150	243	90	356	654	556
8	499	422	258	291	603	236	184	338	316
9	310	146	146	693	372	372	458	516	103
10	193	252	275	181	252	556	81	240	297
MEDIA	464	447	368.9	285	469.5	307.9	295	565.2	329.1

Fuente: Autores

De los resultados obtenidos en el conteo de monocitos en el día 0, con un rango de monocitos de 150 a 1350, se obtuvo un recuento con una media de 464 monocitos en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 447 monocitos, mientras que en T3 se evidencia 368.9 monocitos. Los resultados obtenidos en el conteo de monocitos en el día 15, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 285 monocitos en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 469.5 monocitos, mientras que en T3 se evidencia 307.9 monocitos. Los resultados obtenidos para monocitos en el día 30, se puede observar diferencias numéricas, se obtuvo un recuento con una media de 295 monocitos en T1, en T2 se encontró un conteo con una media de 565.2 monocitos, mientras que en T3 se evidencia 329.1 monocitos.

Tabla 8.

Análisis de la varianza monocitos

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	545596,4	4	136399,1	3,03	0,0217
TRATAMIENTOS	466020,6	2	233010,3	5,18	0,0075
DIAS	79575,8	2	39787,9	0,88	0,4166
Error	3822569,2	85	44971,4		
Total	4368165,6	89			

Fuente: Autores

En el ADEVA para conteo de linfocitos en los días 0, 15 y 30 días no se evidencia diferencia significativa con un valor $p=0,4166$, en cuanto a los tratamientos se evidencia diferencias estadísticas valor $p=0,0075$.

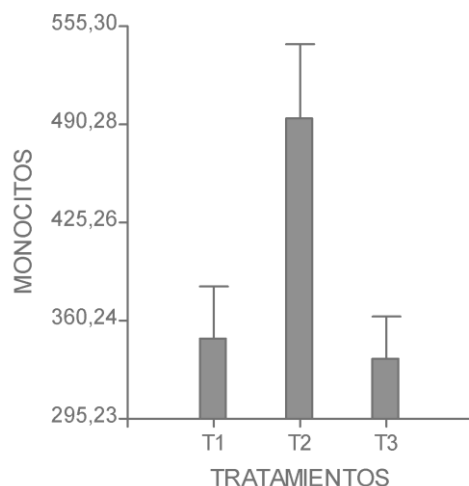


Gráfico 1.

Prueba de Duncan monocitos

Fuente: Autores

En el cuadro se pueden observar dos rangos de significación en donde el tratamiento T2 (0.12 mg/kg de PV de propóleo), encabeza el primer rango con un promedio de 565.2 monocitos en relación al tratamiento T1 (0.6mg/kg de PV de propóleo), el cual se ubicó al último con un valor de 295 monocitos.

Discusión

Son varios también los estudios realizados con extractos de propóleo, en el que se comprueba un extracto etanólico de propóleo (EEP) como agente protector frente a radiación gamma (SCHELLER, S. et al, 1989). Los ratones eran expuestos mediante una fuente ^{60}Co a 6 Gy de radiación gamma, y fueron tratados intraperitonealmente con EEP, administrado antes y después de ser irradiados. Así, mientras los ratones no tratados morían en el plazo de 12 semanas, los que habían recibido series de EEP sobrevivían a la radiación, además de que el recuento de leucocitos y la actividad de formación de plaquetas retornaban a los valores normales. Esto sugería que un antioxidante y “scavenger” de radicales libres en el EEP era el responsable de los efectos radioprotectivos, Volpert et al. (1996) investigan los efectos de diferentes extractos (etanólicos y acuosos) de propóleo sobre las más importantes enzimas de leucocitos: mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y lipooxigenasa (Volpert, R. et al, 1996), encontrando que solo altas concentraciones de extractos de propóleo inhiben la actividad de las citadas enzimas, pero especialmente los derivados acuosos muestran efectos estimulantes en la actividad mieloperoxidasa comercial. Las actividades mieloperoxidasa y NADPH oxidasa de

leucocitos fueron claramente inhibidas por extractos de propóleo probablemente indirectamente debido a su excelente propiedad “scavenger”. Probablemente la capacidad antioxidativa de EEP sea parcialmente debida al alto contenido en flavonoides del propóleo (Krol, W. et al, 1990).

Scheller et al. (1990) demuestran la facultad de “scavenging” de un EEP por electron spin resonance spectroscopy, con 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), tratado con concentraciones crecientes de EEP (Scheller, S. et al, 1990). Se demostró que la intensidad de señal de DPPH era inversamente relacionada con la concentración de EEP y al tiempo de reacción, lo que demuestra la facultad de componentes del EEP en donar átomos de hidrógeno siendo el responsable de la reducción de la señal DPPH-EEP, y reflejando la naturaleza antioxidativa del EEP. La acción de “scavenging” de EEP (5-9 $\mu\text{g/ml}$) procedentes de dos tipos de propóleo, en concreto frente al radical alcoxy fue similar al producido por 0.11 $\mu\text{g/ml}$ de alfa-tocoferol, siendo menor la actividad de “scavenging” frente a radical superóxido (Pascual, C. et al, 1994).

Volpert et al. (1993) compara extractos acuosos con extractos etanólicos de propóleo (Volpert, R. et al, 1993) resultando que el los extractos acuosos presentan mayores actividades antioxidantes e inhibitorias que los extractos etanólicos (Volpert, R. et al, 1993).

Matsuno (1995) aísla un principio activo de propólis procedente de Brasil (MATSUNO, T, 1995) y es caracterizado como un nuevo diterpenoide clerodane (PMS-1). Este compuesto a concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ inhibe el crecimiento de carcinoma hepatocelular humano (células HuH 13), revelando por citometría de flujo que arrastra a las células tumorales a la fase S. Este componente también ejercía citotoxicidad sobre carcinoma de pulmón humano y HeLa, mostrando sin embargo menos efectividad sobre células renales.

Scheller et al. (1989) estudian el efecto antitumoral de un extracto etanólico de propóleo (EEP) en carcinoma de Ehrlich en ratones (Scheller, S. et al, 1989). Se compara la supervivencia con bleomicina, resultando que la supervivencia es mayor en ratones tratados con EEP que los tratados con bleomicina, mientras que los tratados con ambos compuestos (EEP + bleomicina) se acortaba la supervivencia con respecto al grupo control, concluyendo que mientras la actividad “in vivo” de bleomicina es reducida en presencia de inhibidores de la citocromo C-reductasa (como algunos de los componentes de EEP), la propiedad antitumoral de EEP en un modelo animal estudiado es significativa y duradera.

Con el fin de investigar los posibles mecanismos de la acción terapéutica del propóleo, se estudia los efectos de los componentes de este: CAPE, ácido cafeico (CA), quercitina y naringenina, así como otros compuestos sintéticos tales como: indometacina (IM) y el ácido nordihidroguairético (NDGA), siendo el CAPE de todos estos compuestos examinados el mayor potente modulador de la cascada del ácido araquidónico (Mirzoeva, O.K. et al, 1996).

Kimoto et al. (1998) observan efectos citotóxicos y una clara inhibición en el crecimiento de células tumorales humanas al aplicar artepillin C (Kimoto, T. et al, 1998), ocasionando un daño significativo tanto en tumores sólidos como en células leucémicas, siendo los efectos citotóxicos más sensibles frente a carcinomas y melanomas. Histológicamente se observa apoptosis, mitosis abortadas y necrosis masivas después de la inyección intratumoral de 500 microgramos de artepillin C. También se observa adicionalmente a la supresión del crecimiento tumoral, un incremento en la relación CD4/CD8, así como en el número total de células T helper. La combinación de todas estas observaciones indica que artepillin C:

- Activa el sistema inmunológico.
- Posee una actividad antitumoral directa.

Banskota et al. (1998) aíslan varios principios a partir de un extracto metanólico de propóleo (Banskota, AH. et al, 1998), observando que cuatro de los veintitrés compuestos estudiados mostraban una potente citotoxicidad frente a fibrosarcoma humano (HT-1080) y carcinoma de colón en ratas (26-L5).

Choi et al. (1999) estudian dos clases de propóleo: uno procedente de Corea y otro comercial, los cuales inducen apoptosis en la línea celular de hepatoma humano (SNU 449), observando que no existen diferencias entre ambos propóleos, en la inducción de la apoptosis (Choi, YH. et al, 1999).

Conclusiones

De acuerdo al recuento leucocitario con el uso del propóleo como inductor de la inmunidad, se establece que en los tres tratamientos no existió diferencia significativa para linfocitos y neutrófilos sin embargo, durante el conteo de monocitos, se pudo apreciar un incremento a partir del día 15 de inicio de la investigación.

Tras la investigación se puede concluir que los pacientes que recibieron propóleo con una dosis diaria de 0.12 mg/kg de peso vivo, presentaron un incremento de los monocitos en el día 30, evidenciándose con ello que el propóleo es un inductor de la inmunidad para monocitos que son células fagocíticas con gran capacidad bactericida.

Todos los estudios realizados hasta la actualidad indican que además del amplio espectro de actividades biológicas del propóleo, habría que añadir la propiedad antitumoral. No obstante, sería el momento de corroborar dada la escasez de estudios, los resultados obtenidos con pruebas clínicas que confirmen el uso del propóleo como parte de la terapia antineoplásica

Referencias

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell*. [Biología molecular de la célula] 4th Ed. Garland Science. New York, USA. p.712
- Anaya, J.M. y cols. *Inmunología (de memoria)*. Cap. 4, 15ª México, D.F, México: Ed. Corporación para investigaciones biológicas 2009. p. 39
- Banskota, Ah. et al (1998.): Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. *J. Nat. Prod.*, 61(7): pp.896-900.
- Castellanos, R., Guevara, M., Robinson, R., Vázquez, L. 2000. *Respuestas inmunes innatas y adaptativa*. [Componentes químicos del propóleo brasileño y sus actividades citotóxicas] *Rev. Medisan.* 4(2): pp.64-74
- Choi, Yh. et al (1999). Apoptosis induced by propolis in human hepatocellular carcinoma cell line. [Apoptosis inducida por propóleos en la línea celular de carcinoma hepatocelular humano] *Int. J. Mol. Med.*, 4(1): pp. 29-32.
- González, A. 2009. *Propóleos: un camino hacia la salud*. La Habana, Cuba: Pablo de la Torriente.
- Janeway, Ch. 1989. Evolution and revolution in immunology [Evolución y revolución en inmunología]. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 54: pp.1-13.
- Kimoto, T. Et al (1998): Apoptosis and suppression of tumor growth by artemisin C extracted from Brazilian propolis. [Apoptosis y supresión del crecimiento tumoral por la artemisina C extraída del propóleo brasileño] *Cancer Detect Prev.* 22(6): pp.506
- Krol, W. et al (1990): Anti-oxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. [La propiedad antioxidante del extracto etanólico de propóleos (EEP) se evaluó inhibiendo la oxidación por quimioluminiscencia del luminol] *Biochemistry International*, 21(4): pp.593-598.
- Lorenzo J y col. (1978). *Propóleos: evaluación de efectos cardiovasculares y toxicológicos*. Dpto. de Farmacología y terapéutica. Facultad de Medicina-Uruguay 1984., 36 Lebeda D. La Propolis produit non toxique. In: III Simposio Internacional de Apiterapia Yugoslavia. Bucarest, APIMONDIA Pres; pp.78-80.
- Manrique, A. (2000). *Producción de propóleo*. Sao Paulo, Brasil: FONAI Divulga

- Mirzoeva, Ok. et al (1996): The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids. [El efecto del propóleo y sus componentes en la producción de eicosanoides durante la respuesta inflamatoria. Prostaglandinas Leucotrienos y Ácidos Grasos Esenciales] *55*(6): pp. 441-449.
- Pascual, C. et al (1994): Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. [Acción de barrido del extracto de propóleos contra los radicales de oxígeno] *Journal of Ethnopharmacology*, *41*(1-2):pp. 9-13.
- Scheller, S. et al (1989). The ability of EEP to protect mice against gamma irradiation. [La capacidad de EEP para proteger a los ratones contra la radiación gamma] *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, *44*(11-12): pp.1049-1052.
- Scheller, S. et al (1990). Free radical scavenging by EEP. [Eliminación de radicales libres por EEP] *International Journal of Radiation Biology*, *57*(3): pp. 461-466.
- Scheller, S. et al. (1989). Antitumoral property of EEP in mice-bearing Ehrlich carcinoma, as compared to bleomycin. . [Propiedad antitumoral de EEP en ratones con carcinoma de Ehrlich, en comparación con bleomicina] *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, *44*(11-12): pp.1063-1065.
- Tizard, I. 2009. *Veterinary Immunology: [Inmunología veterinaria] An Introduction*. 8th Ed. Saunders Elsevier. Missouri, United States. p.529
- Volpert, R. et al (1993): Biochemical activities of propolis extracts: [Actividades bioquímicas de extractos de propóleo] I-II. Standardization and antioxidative properties of ethanolic and aqueous derivatives. *Zeitschrift fuer Naturforschung Section C Biosciences*, *48*(11-12): pp. 851-857.
- Volpert, R. et al (1996): Interactions of different extracts of propolis with leukocytes and leukocytes enzymes. [Interacciones de diferentes extractos de propóleo con leucocitos y enzimas leucocitarias] *Arzneimittel-Forschung*, *46*(1): pp. 47-51.
- Young K, Matías S, Lima C. (2001). Comparação das características físico químicas das própolis produzidas na região sub-tropical da América do Sul; evidencia firoquímica de sua origem botânica. [Comparación de las características físico químicas de las propóleos producidas en la región subtropical de América del Sur; evidencia firoquímica de su origen botánico] *Mensagem Doce*. 61.

Espículas peneanas del cobayo (*Cavia porcellus*), influencia sobre el comportamiento sexual, fertilidad y calidad espermática

Almeida Andrés, Msc.

Ministerio de Agricultura, Ganadería,
Acuacultura y Pesca de Azuay
aalmeidah@mag.gob.ec

Ayala Luis, PhD

Universidad de Cuenca

Rodas Ramiro, Msc.

Universidad de Cuenca
luis.ayala@ucuenca.edu.ec

Torres Carlos, Msc.

Universidad de Cuenca

Pedro Nieto

Universidad de Cuenca

Resumen

La investigación se realizó en el cantón Cuenca, provincia del Azuay-Ecuador, altura 2.714 msnm, temperatura promedio de 14°C. El estudio determinó la influencia de las espículas peneanas sobre el comportamiento sexual, la fertilidad y parámetros de calidad espermática en cobayos (*Cavia porcellus*) criados en el altiplano ecuatoriano. Se utilizaron 5 machos enteros (con espículas peneanas), 5 machos extirpados las espículas y 40 hembras nulíparas, conformación Tipo A y pelaje tipo 1. Se determinó que el porcentaje de preñez de las hembras copuladas con machos extirpados las espículas peneanas disminuía en un 65% en relación al grupo control ($P < 0,05$). Sin embargo, el patrón de comportamiento sexual y la calidad espermática de los dos grupos en estudio fue similar ($P > 0,05$). Por lo tanto, se concluye que la extirpación de las espículas peneanas influye en la fertilidad, pero no en el comportamiento sexual y calidad espermática.

Palabras claves: Cobayos, Espículas, Fertilidad

Abstract

The research was conducted in the canton Cuenca, Azuay Province, Ecuador. UTM coordinates 717386 x 9675751, height 2714 meters above sea level, average temperature of 14°C. The study determined the influence of penile spicules on sexual behavior, fertility and sperm quality parameters in guinea pigs (*Cavia porcellus*) raised in the Ecuadorian highlands. There were used 5 boars (with penile spicules), 5 males removed spicules, 40 nulliparous females, conformation type A and coat type 1. It was determined that the pregnancy rate of females mated with males removed penile spicules decreased by 65 % compared to the control group ($P < 0.05$). Nevertheless the pattern of sexual behavior and sperm quality of the two study groups was similar ($P > 0.05$). Therefore it is concluded that the removal of the penile spicules influences fertility, but not in the sexual behavior and sperm quality.

Keywords: Guinea pigs, Spicules, Fertility

Introducción

El cobayo (*Cavia porcellus*) cuando alcanza la pubertad presenta agresividad (Adrián & Sachser 2011), esto provoca peleas que pueden generar heridas e infecciones en la carcasa, lo cual disminuye la calidad de la canal afectando la producción y productividad (Apráez, *et al.*, 2010). Una alternativa para disminuir la agresividad es la castración, sea esta quirúrgica o química (Bravo, 1970); Mahan y Lepine, 1991; Pineda, 1991; Oteiza y Carmona, 1993; Hernández, 2001; Rosado, 2001; Shiroma, 2004; Vega *et al.*, 2012). Cada técnica de castración tiene ventajas y desventajas, los resultados dependen de factores como especie, individuo, estado fisiológico, etc., (Hafez, 2002).

En la zona rural del Ecuador como técnica ancestral se realiza la extirpación de las espículas peneanas con la finalidad de esterilizar al cobayo y disminuir su agresividad; sin embargo, no existen trabajos publicados sobre la función que cumplen estas estructuras y la influencia sobre el comportamiento reproductivo del cobayo.

Girling, (2003), determinó que el pene del cobayo posee ventral a la uretra dos estructuras invaginadas o espículas peneanas, cuando el pene se encuentra erecto estas se proyectan desde el extremo del glande, como dos espinas delgadas de aproximadamente 4-5 mm de longitud, no obstante su función no se conoce totalmente, pero se especula que pueden adaptarse a surcos de similar forma en el aparato genital femenino.

Al no existir información específica de la función de las espículas peneanas en los cobayos, se ha buscado información en otros roedores, es así que, en 1979 Stoddart estableció, que las espículas peneanas en los roedores pueden actuar como órganos sensitivos accesorios, que contribuyen a la sensibilidad genital en el macho, o podrían proporcionar un estímulo adicional al tracto genital femenino.

Los machos de la mayoría de roedores, en el momento de la eyaculación depositan un tapón en el tracto vaginal de la hembra para evitar apareamientos posteriores. Dewsbury (1981), determinó que las espigas peneanas de los roedores muroides contribuyen a la eliminación del tapón vaginal fruto de la primera monta, permitiendo nuevas fecundaciones. Checa (2006), estableció que la estimulación generada por las espículas en roedores durante la cópula, puede desencadenar el proceso neuroendocrino, cuyo resultado es la ovulación, debido a la estimulación de receptores en cérvix y vagina.

La presente investigación busca determinar a través de una metodología experimental, la influencia de las espículas peneanas sobre el comportamiento sexual a través la fertilidad y parámetros de calidad espermática en cobayos (*Cavia porcellus*) criados en el altiplano ecuatoriano.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en una granja de un beneficiario del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), ubicada en la panamericana sur Km 1, parroquia Baños, cantón Cuenca, provincia del Azuay-Ecuador. Coordenadas UTM 717386 x 9675751, altura 2.714 msnm, temperatura promedio de 14°C, humedad relativa 80% y pluviosidad anual entre 800 mm y 2.000 mm. Para la realización de este trabajo se tuvo presente la normativa del código sanitario para animales terrestres, capítulo 7.8 “Utilización de animales en la investigación y educación”, de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2012).

Animales en estudio

Se incluyeron 10 cobayos machos de cinco meses de edad, peso promedio $988,3 \pm 11,40$ g, fertilidad comprobada previamente. 40 hembras de cuatro meses de edad, peso promedio $815,3 \pm 11,80$ g, nulíparas. Conformación tipo A y pelaje tipo 1 de acuerdo a la clasificación determinada por Chauca, (1997). Los cobayos permanecieron en un mismo plantel desde junio a septiembre 2015, recibieron las mismas condiciones de manejo y sanidad, alimentados con pastura en asociación de *Pennisetum clandestinum*, *Lolium multiflorum*, *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, suplementadas con sales minerales.

Protocolo de extirpación de las espículas peneanas

Las determinaciones se realizaron tras la extirpación quirúrgica de las espículas peneanas. A los reproductores seleccionados (5 cobayos) se les anestesió con una mezcla de zolazepam y tiletamina (Zoletil 50[®]), dosis de 50 mg/kg vía subcutánea, de acuerdo al protocolo establecido por Álvarez (2010). A continuación se procedió a extirpar las espículas peneanas siguiendo los criterios de cirugía genital experimental propuesta por Gay, (1986). Una vez anestesiado se realizó el depilado y embrocado de la zona genital del cobayo, luego se expuso el órgano por medio de la protrusión del pene a través de la bolsa uretral, esto se logró por presión digital. Visualizadas las formaciones córneas (espículas), se procedió a fijarlas con una pinza para luego seccionar con una tijera, finalmente se retornó el órgano a su posición normal. Se mantuvo por 15 días a los

cobayos en fosas individuales para su monitoreo y recuperación.

Experimentos

Primer experimento (valoración de comportamiento sexual)

T1= 4 cobayos (machos) con espículas peneanas (enteros); estos fueron colocados cada uno con 5 hembras en jaulas separadas

T2= 4 cobayos (machos) extirpados las espículas peneanas (extirpados); estos fueron colocados cada uno con 5 hembras en jaulas separadas

Segundo experimento (porcentaje de preñez)

Se valoró a las 20 hembras de T1 y (20 hembras) T2 del primer experimento

Tercer experimento (determinación de la calidad espermática)

T1= 5 cobayos (machos) con espículas peneanas (enteros)

T2= 5 cobayos (machos) extirpados las espículas peneanas (extirpados)

Comportamiento sexual

El presente trabajo evaluó el comportamiento sexual de cobayos enteros y los extirpados. En una jaula se colocó un macho con cinco hembras (cuatro repeticiones). Se valoró el número de acicalamientos de los genitales, olfateos, mordiscos y montas que realizó el macho a las hembras compañeras de jaula. Para la determinación se realizó observaciones diarias, 4 horas en la mañana y 4 horas en la tarde, en los primeros 8 días post-ingreso del macho en la jaula de las hembras. Se dispuso estratégicamente las jaulas con la finalidad de observar todas a la vez, se filmó la actividad de los cobayos durante estos 8 días.

Fertilidad (porcentaje de preñez y prolificidad)

La fertilidad del macho se determinó por el número de hembras compañeras de jaula que quedaron gestantes. Los machos permanecieron 30 días junto a las hembras, luego fueron retirados y colocados en jaulas individuales. La determinación de la gestación se realizó siguiendo la técnica de palpación descrita por Kaufmann & Davidoff, (2012); sin embargo, como dato confirmatorio se cuantificó el número de hembras que parieron hasta 60 días post-retiro de los machos. La prolificidad fue establecida en base al número de crías paridas por jaula, este valor fue dividido solo para el número de hembras que parieron para obtener el valor final.

Parámetros de valoración espermática

Para esta valoración se utilizaron espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo, los cuales fueron obtenidos mediante la técnica de difusión propuesta por Suckow, *et al.*, (2005). Para lo cual, se realizó la extirpación quirúrgica de los testículos de cada sujeto experimental. Se separó por disección el epidídimo. Posteriormente se colocó la cola del epidídimo en un tubo falcón estéril de 15 ml con 2 ml de medio Holding

Plus (Bioniche, Pullman, WA, USA®), el tubo se colocó a 37°C en baño maría por 10 minutos para permitir que los espermatozoides se diseminen en el medio. Se retiró un 1ml de sobrenadante y se puso en otro tubo falcón estéril el cual contenía solución Cushion fluid® 1ml, luego se centrifugo a una velocidad de 100 g por 20 minutos, finalmente se obtuvo la fracción con los espermatozoides para su análisis.

Para la valoración microscópica de la calidad espermática: Concentración; Motilidad Masal; Motilidad Individual; Vitalidad y Morfología, se utilizó la técnica propuesta por Gómez y Migliorisi, (2001). Para la valoración de concentración espermática se utilizó un fotómetro (SDM 1, Minitube; DE; USA®). La motilidad masal se estableció mediante la observación directa en el microscopio de la formación de ondas (escala 1 a 5); 1 cuando no existe movimiento y 5 ondas que forman remolinos. En la motilidad individual se evaluó el movimiento rectilíneo progresivo de los espermatozoides. Para determinar la vitalidad espermática se utilizó la tinción eosina-nigrosina. Para valorar la morfología se utilizó solución salina con glutaraldehído (2%).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows versión 22®. Se realizó la prueba de T de Studen para muestras independientes, se evaluó la normalidad a través de la prueba de Shapiro Wilk, para el análisis de homogeneidad de varianza se utilizó Levene, todo con un nivel de significancia del 0,05. Además; se efectuó el análisis de medias repetidas con el factor días en los diferentes tratamientos y para cada una de las variables.

Resultados

Valoración del comportamiento sexual

El comportamiento sexual de los machos en los dos tratamientos en estudio, determinó que los parámetros olfateos, mordiscos y montas fueron similares ($P>0,05$), (Tabla 1); sin embargo, el número promedio de acicalamientos fue mayor en el grupo de machos enteros en relación al grupo de extirpados, principalmente en los tres primeros días de monitoreo, ($P<0,01$). Figura 1.

Valoración de fertilidad (porcentaje de preñez)

El grupo de hembras (cobayas) que fueron copuladas por cobayos enteros quedaron preñadas un 65% más, en comparación con las hembras que fueron cubiertas por los machos extirpados las espículas ($P<0,01$). Figura 2.

Del análisis de la prolificidad de los dos tratamientos se estableció un valor de $1,28\pm0,26$ crías/camada para hembras que copularon con machos enteros y $1,18\pm0,64$ crías/camada (extirpados), con un valor ($P>0,05$); es decir, no presentan diferencia estadística.

Valoración de calidad espermática

El patrón de comportamiento de la calidad espermática en los dos tratamientos no difiere ($P>0,05$); sin

embargo, estos se encuentran dentro de los rangos considerados como aceptables. Tabla 2.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran una influencia altamente significativa ($P<0,01$), de las espículas del cobayo sobre la fertilidad de las hembras copuladas por estos; es así que, el grupo enteros (hembras copuladas por machos enteros) tuvieron una fertilidad mayor (95%), frente al 30% del grupo extirpados (hembras copuladas por machos que fueron extirpados las espículas). Existen trabajos como el de Ordoñez, (2012) y Fernández, (2010) que analizaron el porcentaje de preñez de las cobayas y establecieron valores promedios del 90% y 84,27% respectivamente, lo que nos permite aseverar que los machos enteros (T1) de la investigación fueron fértiles.

En lo que respecta a la prolificidad el promedio de crías por madre en nuestra investigación fue de $1,28\pm0,26$ (enteros) y $1,18\pm0,64$ (extirpados), lo cual es comparable a los parámetros establecidos por Chauca (1997), quien determina 1.88 crías/madre, cuando hay una densidad de empadre 1 macho con 5 hembras.

La investigación permitió establecer que las espículas peneanas no influyen en el comportamiento sexual de los cobayos, a excepción del número de acicalamientos que si mostró diferencia entre grupos ($P<0,05$), esto podría ser explicado por la teoría de Manteca, (2009), quien manifestó que la conducta sexual en los roedores machos, se origina en el proceso de diferenciación sexual del sistema nervioso central, influenciado por la acción de las hormonas sexuales, este proceso ocurre en dos fases: en la primera los andrógenos actúan en la fase temprana de desarrollo, organizando rutas neuronales que serán las responsables de la conducta sexual.

La segunda fase (activación) ocurre en la pubertad, allí los andrógenos actúan sobre las rutas neuronales previamente diferenciadas, permitiendo manifestar las características sexuales masculinas. Por lo tanto, una vez alcanzado la madurez sexual los patrones comportamentales de la conducta sexual están establecidos. Cabe indicar que en el presente trabajo se utilizó machos maduros sexualmente (5 meses). Además, el trabajo de Hull y Domínguez (2007) determinó, que la entrada quimio sensorial y el sistema vomeronasal son probablemente las dos vías que regulan el comportamiento sexual de los roedores machos durante el proceso de cópula y estos en la presente investigación no fueron alterados.

Al analizar la calidad de los espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo de los cobayos en estudio se determinó que no existen diferencias estadística entre los dos tratamientos comparados ($P>0,05$). Sin embargo; es importante mencionar que los valores obtenidos del parámetro motilidad individual en los dos grupos (enteros 58%; extirpados 55%) son similares a los publicados por Freund, (1969), en cuya investigación obtuvo un porcentaje de motilidad espermática del 51%, además, en este trabajo se estableció un 95% de espermatozoides con morfología normal, valor alto comparado con lo obtenido en el presente trabajo (63%), igual resultado obtuvieron Turner y Reich, (1985); Aprioku y Obianime, (2011).

Los resultados obtenidos en la presente investigación no permiten determinar la función específica que desempeñan las espículas peneanas en la reproducción de los cobayos, sin embargo existen trabajos como el de Stoddart (1979) que estableció, que estas espículas actúan como órganos sensitivos accesorios, provocando sensibilidad genital en el macho o pueden proporcionar un estímulo adicional para el tracto femenino provocando la ovulación. Spotorno, (1979), menciona que en especies de roedores de ovulación espontánea, no se ha considerado adecuadamente los mecanismos fisiológicos para la descarga preovulatoria de LH, por lo cual, sugiere que podría existir, un estímulo mecánico actuando a nivel de vagina y cérvix uterino. Silva, *et. al.*, (2013), en su investigación sugiere que las espículas peneanas poseen dos funciones, la primera estimular la vagina durante la copulación y promover los procesos neuroendocrinos que generan la ovulación y la segunda permite retirar los tapones vaginales mucosos, para poder realizar una fecundación con una eyaculación subsiguiente, menciona además, que siguen un patrón de desarrollo peri puberal y que son dependientes de andrógenos, lo que se demuestra por medio de la castración que genera la regresión de estas estructuras, no obstante al ser aplicada testosterona de forma exógena, nuevamente se produce la recuperación de las mismas.

Además, esta investigación estableció que cuando se produce la atrofia de las espinas peneanas, disminuye la sensibilidad táctil del glándulo, lo cual contribuye a una reducción en el comportamiento sexual masculino. Estas investigaciones, si bien nos permiten transpolar nuestros resultados a un escenario experimental, también dejan abierta una serie de posibilidades para nuevas investigaciones.

Conclusiones

El porcentaje de preñez disminuye en cobayas copuladas por machos extirpados las espículas peneanas, sin embargo, el comportamiento sexual del macho y su calidad espermática no difiere entre los grupos en estudio, si bien esto nos permite inferir nuestros resultados a un escenario experimental, también dejan abierta una serie de posibilidades para nuevas investigaciones, relacionadas a los procesos reproductivos de esta especie, en especial al estudio neuroendocrino de liberación de hormonas sexuales que desencadenan la ovulación de las hembras de la especie, así como estudios más exhaustivos de la función de las mencionadas espículas peneanas en procesos de endocrinos de la actividad sexual.

Referencias

- Adrián, O., & Sachser, N. (2011). Diversity of social and mating systems in caviids: a review. *Journal of Mammalogy*, 92(1), pp. 39–53
- Álvarez, I. (2010). *Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. Manual de prácticas*. Madrid, España: COEDI.
- Apráez, J., Fernández, L., & Hernández, A. (2010). Efecto del sexo y de la castración en el comportamiento productivo y la calidad de la canal de cuyes (*Cavia porcellus*). *Vet Zootec*, pp. 20-25.

- Aprioku, J., & Obianime, A. (2011). Structure Activity Relationship (SAR) of artemisinins on some biological systems in male guinea pigs. *Insight Pharmaceutical Sciences*, pp.1-10.
- Bravo, H. (1970). *La implantación de dietilestilbestrol en cuyes y sus efectos*. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Lima. Universidad Nacional Agraria La Molina, p. 60
- Chauca, L. (1997). *Producción de cuyes (Cavia porcellus)*. Lima, Perú. Editado por la FAO.
- Checa, A. (20 de Abril de 2006). *Efecto de la ingesta crónica de alcohol sobre la motivación y la ejecución de la conducta sexual de la rata macho alrededor de la pubertad*. Guadalajara, Jalisco, México.
- Dewsbury, D. (1981). On the function of the multiple intromission, multiple ejaculation copulatory patterns of rodents. *Bulletin of the psychonomic society*, pp. 221-223.
- Fernández, J. (2010). *Tamaño y peso de camada en cuyas criollas servidas por machos de razas mejoradas en el distrito de Huarango, San Ignacio, Cajamarca*. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Freund, M. (1969). Interrelationships among the characteristics of guinea-pig semen collected by electro-ejaculation. *Journal of reproduction*, pp. 393-403.
- Gay, W. (1986). *Methods of animal experimentation*. Orlando. Academic Press.
- Girling, S. (2003). *Veterinary nursing of exotic pets*. United Kingdom: Blackwell.
- Gómez, M., & Migliorisi, L. (2001). *Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes*. Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Hafez, E.S.E. (2002). Anatomía del aparato reproductor del macho. En: Hafez ESE, Hafez B (eds). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7a ed. México. McGraw-Hill, pp. 3-12.
- Hernández, M.E. (2001). *Comparación entre castración química y quirúrgica de cuyes en la etapa de engorde*. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Arequipa. Universidad Católica de Santa María, p. 46
- Hull, E., & Dominguez, J. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Science Direct*, pp. 45-55.
- Kaufmann, P., & Davidoff, M. (2012). *Advances in anatomy, embryology and cell biology the guinea-pig placenta*.

Wurzburg. Springer Science & Business Media.

- Mahan, D., & Lepine A. (1991). Effect of pig weaning weight and associated nursery feeding programs on subsequent performance to 105 kilograms body weight. *J Anim Sci* 69, pp. 1370-1378
- Manteca, X. (2009). *Etología veterinaria*. México, México: Multimédica Ediciones Veterinarias.
- Ordoñez, S. (2012). *Utilización de diferentes niveles de harina de maralfalfa en reemplazo de la alfarina en la alimentación de cuyes manejados en jaulas en las etapas de gestación –lactancia, crecimiento-engorde*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica del Chimborazo.
- Oteiza J, & Carmona JR. (1993). *Diccionario de zootecnia*. 3a ed. México, México. Trillas, p. 316
- Pineda, MH. (1991). Reproducción del macho. En: McDonald LE, Pineda MH (eds). *Endocrinología veterinaria y reproducción*. 4a ed. México, México. McGraw-Hill, pp. 253-293
- Rosado, R.E. (2001). *Estudio comparativo de peso entre cobayos castrados mediante punción y castración quirúrgicamente en el distrito de Cerro Colorado*. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Arequipa. Universidad Católica de Santa María, p. 62
- Silva, M., Rosa, M., Villaseñor, V., Márquez, S., Hernández, M., Bonilla, H., Guzmán, X., Contreras, JL. (2013). Testosterone Levels and Development of the penile spines and testicular tissue during the postnatal growth in wistar rats. *Advances in Sexual Medicine*. 3, pp. 1-9
- Shiroma, P. (2004). *Efecto de la castración química con alcohol yodado sobre el crecimiento y rendimiento de la canal en cuyes (Cavia porcellus)*. Tesis de Médico Veterinario. Lima, Perú. Universidad Alas Peruanas, p. 41
- Spotorno, A. (1979). Contrastación de la macrosistemática de roedores caviomorfos por análisis comparativo de la morfología reproductiva masculina. *Archivos de Biología médica*, pp. 97-106.
- Stoddart, D. (1979). *The copulatory pattern of the Bank vole (Clethrionomys glareolus) and speculation on the role of penile spines*. Notes from Mammal Society, pp. 279-300.
- Suckow, M., Weisbroth, S., & Franklin, C. (2005). *The laboratory rat*. San Diego. Academic Press.
- Turner, T., & Reich, G. (1985). Cauda epididymidal sperm motility: a comparison among five species. *Biology of reproduction*, pp. 120-128.

Vega, J., Pujada, H., & Astocuri K. (2012). Efecto de la castración química en el comportamiento productivo y conductual del cuy. *Rev Inv Vet Perú*. 23 (1), pp. 52-57

Anexos

Tabla 1.

Media y error estándar de las variables acicalamiento, olfateos, mordiscos y montas realizados por los cobayos de los dos tratamientos durante el total del período de monitoreo (8 días)

	Tratamientos		
	Enteros	Extirpados	<i>P</i>
Acicalamiento de genitales	4,67±1,05	1,59±0,36	0,01
Olfateos	11,53±1,29	9,87±1,30	0,37
Mordiscos	17,97±1,24	20,28±1,53	0,25
Montas	1,09±0,16	0,63±0,24	0,11

P= significancia 0,01

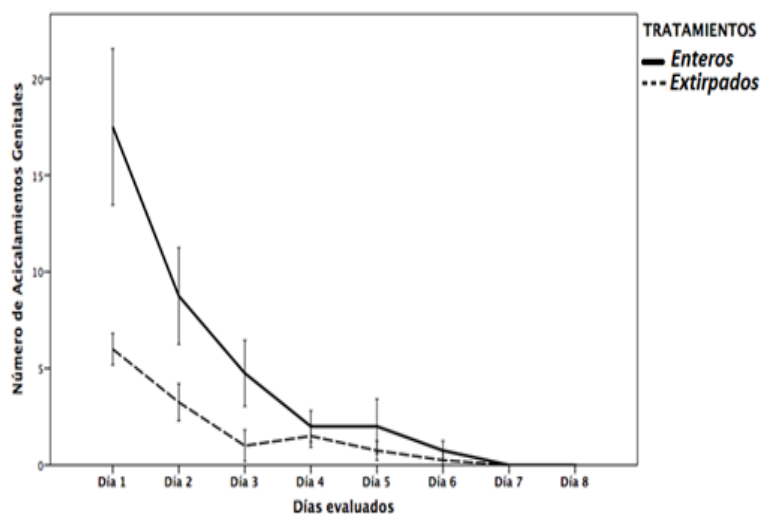


Figura 1.

Media del número de acicalamientos realizadas por los machos a sus compañeras de jaula en los dos tratamientos valorados en diferentes días.

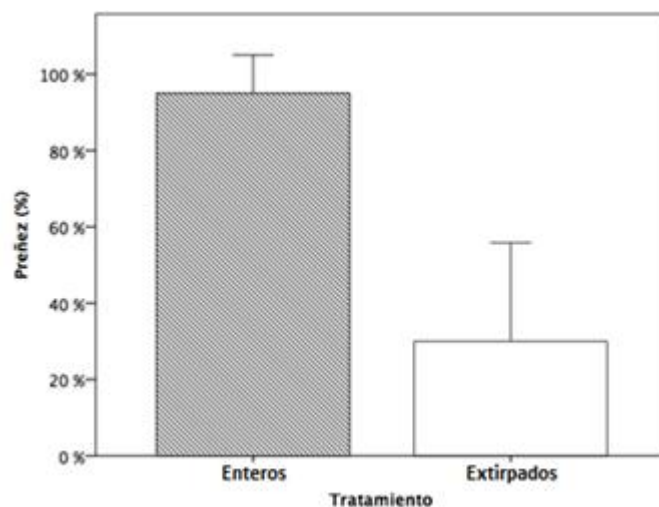


Figura 2.

Porcentaje de preñez de las hembras que fueron copuladas por los machos de los dos tratamientos

Tabla 2.

Media y error estándar de los parámetros de calidad espermática.

	Enteros			Extirpados		<i>P</i>
	N	Media	EE	Media	EE	
Concentración	5	418 x 10 ⁶	57 x 10 ⁶	342 x 10 ⁶	32 x 10 ⁶	0,29
Motilidad Masal (1-5)	5	3,4	0,24	2,8	0,20	0,09
Motilidad Individual (%)	5	58	5,39	55	2,24	0,62
Vitalidad (%)	5	60,2	4,02	54,2	8,09	0,53
Morfología (%)	5	62,8	2,89	63,4	2,66	0,88

N=número de animales estudiados; *EE*= error estándar; *P*=significancia 0,01

CIDE 
EDITORIAL
Cod. 9942-8632



ISBN: 978-9942-759-54-2



9789942759542